

**UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

Marijana Z. Janković

**PROTEINSKI PROFILI PŠENICE I
NJIHOV UTICAJ NA TEHNOLOŠKA
SVOJSTVA BRAŠNA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2016

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE**

Marijana Z. Janković

**PROTEIN PROFILES OF WHEAT AND
THEIR IMPACT ON TECHNOLOGICAL
PROPERTIES OF FLOUR**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2016

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

MENTOR: dr Miroljub Barać, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu
(uža naučna oblast biohemija)

ČLANOVI KOMISIJE: dr Slađana Žilić, naučni savetnik
Institut za kukuruz Zemun Polje,
(uža naučna oblast prehrambeno inženjerstvo)

dr Mirjana Demin, vanredni profesor
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu,
(uža naučna oblast nauka o preradi ratarskih sirovina)

dr Dejan Dodig, naučni savetnik
Institut za kukuruz Zemun Polje,
(uža naučna oblast genetika i oplemenjivanje biljaka)

Dr Mirjana Pešić, docent
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu,
(uža naučna oblast biohemija)

ZAHVALNICA

Hvala Institutu za kukuruz „Zemun Polje“ što mi je omogućio izradu ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Mirosljebu Baraću na savetima i uputstvima pri izradi ovog rada.

Veliku zahvalnost dugujem dr Slađani Žilić na usmeravanju tokom studija, nesebičnoj pomoći i velikom zalaganju, savetima pri izvođenju analiza i sugestijama pri interpretaciji dobijenih rezultata.

Zahvaljujem se dr Dejanu Dodigu za korisne sugestije i pomoć oko statističke obrade podataka, kao i na njegovoj genijalnoj sposobnosti da brojevima da dušu i značenje.

Zahvaljujem se kolegama dr Oliveri Šimurini, dr Bojani Filipčev i dipl.inž. Dubravki Jambrec sa Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu koje su mi otkrile tajne pekarstva i senzorne analize i koje su svojom ljubaznošću i gostoprimstvom doprineli da mi ovaj deo izrade teze ostane u prelepom sećanju.

Na dugogodišnjoj saradnji tokom doktorskih studija zahvaljujem se prof. dr Mirjani Demin i dr Mirjani Pešić.

Iskreno se zahvaljujem svim kolegama u Institutu za kukuruz koji su na bilo koji način pomogli pri izradi disertacije, a posebno se zahvaljujem mojim saradnicima u grupi Danki, Mili i Sneži.

Zahvaljujem se dragoj kolegici, mom velikom prijatelju, dr Vesni Kandić na savetima i moralnoj podršci.

I na kraju, posebno se zahvaljujem svojim najmilijima za svu ljubav i podršku koju su mi pružili, jer oni su zaslužni za sve što danas jesam. Njima je od srca posvećena ova doktorska disertacija.

Autor

PROTEINSKI PROFILI PŠENICE I NJIHOV UTICAJ NA TEHNOLOŠKA SVOJSTVA BRAŠNA

dipl. inž. Marijana Janković

REZIME

Pšenica je jedna od najvažnijih biljnih kultura koja se koristi u ishrani ljudi kao glavni izvor energije, proteina i dijetalnih vlakana. Uprkos relativno niskom sadržaju proteina (obično 8-15%) hranljivu vrednost proteina pšenice ne bi trebalo pocenjivati. Značaj pšenice uglavnom se pripisuje njoj sposobnosti da može biti samlevana u brašno i griz koji čine osnovne sastojke hleba, drugih pekarskih proizvoda i testenina. Kvalitet brašna, reološke i funkcionalne karakteristike testa i pekarskih proizvoda umnogome zavise od proteina pšenice. Proteini pšeničnog zrna pokazuju visoku kompleksnost i različit međusobni stepen interakcije zbog čega je njihova karakterizacija teška. Pšenica je jedinstvena među biljnim vrstama jer pšenično brašno sadrži proteinski kompleks „gluten“ koji ima svojstvo da formira testo sa reološkim svojstvima potrebnim za proizvodnju hleba i drugih pekarskih proizvoda. Formiranje viskoelastičnog testa koje ima sposobnost zadržavanja gasa tokom procesa fermentacije u potpunosti zavisi od proteina glutena. Kako je testo veoma složen sistem čije karakteristike zavise od mnogobrojnih komponenata i faktora, reološka ispitivanja testa mogu ukazati na ponašanje testa prilikom zamesa i naknadnih manipulacija u pekari.

U cilju karakterizacije strukture i sastava proteina, kao i ispitivanja njihovog uticaja na tehnološka svojstva pšeničnog brašna, u ovom istraživanju korišćeno je pet hlebnih (ZP 87/1, ZP 7/1, ZP 3/1, Cimmyt 266, ZP Zemunska rosa) i pet durum (ZP 120, Cimmyt 7879, Cimmyt 7817, ZP 34/1 rana, ZP DSP/01) genotipova pšenice gajenih tokom dve godine. Elektroforetska karakterizacija albuminsko-globulinske, glijadinske i gluteninske frakcije proteina genotipova hlebne i durum pšenice u dve ispitivane godine pokazala je visoke različitosti, koje se mogu pripisati uticaju spoljnih faktora, genotipa i međusobnim delovanjem genotipa i sredine. Na sadržaj i kompoziciju glijadina i glutenina u genotipovima hlebne pšenice uticaj faktora genotipa je bio dominantan, za razliku od durum pšenica gde je faktor sredine imao veliki uticaj. Mali uticaj sredine na subjedinice glijadina i glutenina je izuzetno povoljan, jer se

samim odabirom genotipa sa dobrim kvalitativnim i kvantitativnim odnosom ovih grupa proteina može uticati povoljno na tehnološka svojstva brašna. Viši sadržaj rastvorljivih glutenina u genotipovima hlebne i durum pšenice u kišnoj godini je uslovio formiranje elastičnijeg i mekšeg glutena koji je imao povoljnog uticaja na reološka svojstva testa, dok su klimatski uslovi u sušnoj godini uticali na formiranje čvrstog, neelastičnog i krtoeg glutena. Pozitivan uticaj pojedinačnih subjedinica proteina glijadina (γ -gli, α/β -gli) na vrednosti ekstenzografskih karakteristika testa hlebne pšenice, uslovio je formiranje mekšeg glutena, dok je negativna korelacija sa ovim subjedinicama kod testa durum genotipova pšenice usloвила formiranje čvrstog, neelastičnog i krtoeg glutena. U cilju ispitivanja uticaja proteinskih frakcija i njihovih subjedinica na tehnološke karakteristike pšeničnog brašna izvršeno je laboratorijsko probno pečenje hleba pripremljenog od brašna genotipova hlebne i durum pšenice. Hlebovi dobijeni od brašna hlebne i durum pšenice gajenih u kišnoj godini imali su bolje teksturalne karakteristike sredina, u poređenju sa hlebovima dobijenim od pšenica gajenih u sušnoj godini. Kako je i očekivano, bolji senzorski kvalitet ostvaren je kod hlebova dobijenih od hlebnih genotipova pšenice.

S obzirom da belo brašno ima nizak sadržaj fitohemikalija koje se gube u procesu mlevenja pšenice, dodavanjem integralnog brašna kukuruza bogatog fenolnim jedinjenjima može se poboljšati funkcionalna i nutritivna vrednost pekarskih proizvoda. U cilju ispitivanja uticaja fenolnih jedinjenja poreklom iz brašna celog zrna plavog i bordo kukuruza kokičara, urađena je analiza antioksidativnog kapaciteta, sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida antocijana, kao i fenolnih kiselina u pšeničnom hlebu i hlebu sa dodatkom 30% kukuruznog brašna. Ispitivanje teksturalnih i senzornih karakteristika je takođe urađeno. Fortifikacija pšeničnog brašna integralnim brašnom kukuruza plave i bordo boje zrna, bogatog fitohemikalijama sa biološkom aktivnošću, poboljšala je funkcionalni profil gotovih proizvoda, što se uočava kroz značajno viši sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, antocijana, kao i fenolnih kiselina u hlebovima sa dodatkom 30% kukuruza plavog i bordo kokičara u odnosu na pšenični hleb. Međutim dodatak kukuruznog brašna je imao negativan uticaj na teksturalne karakteristike hleba dok su senzorna svojstva poboljšana.

Sagledavanje veze između proteinskog sastava i tehnoloških svojstava pšeničnog brašna predstavlja dobru osnovu za definisanje optimalnih uslova

tehnoloških procesa pri proizvodnji širokog asortimana pekarskih proizvoda, kao i kreiranje proizvoda povećane nutritivne i funkcionalne vrednosti sa dodatkom fenolnih jedinjenja poreklom iz zrna kukuruza.

Ključne reči: hlebna i durum pšenica, proteini, reološka svojstva testa, teksturalna i senzorna svojstva hleba, plavi i bordo kukuruz kokičar, fenolna jedinjenja, fortifikacija.

Naučna oblast: TEHNOLOŠKO INŽENJERSTVO

Uža naučna oblast: NAUKA O PRERADI RATARSKIH SIROVINA

UDK:664.641.12:577.112.82(043.3)

PROTEIN PROFILES OF WHEAT AND THEIR IMPACT ON TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF FLOUR

Marijana Janković, BSc

SUMMARY

Wheat is one of the most important cereal crops worldwide and it is a major source of energy, protein, and dietary fibre in human nutrition. Despite its relatively low protein content (usually 8-15%) the nutritional importance of wheat proteins should not be underestimated. The importance of wheat is mainly attributed to the fact that its seed can be ground into flour and semolina, which form the basic ingredients of bread, other bakery products and pasta. Wheat flour quality, rheological and technological properties of dough and bakery products are largely determined by the proteins. Wheat proteins show high complexity and different interactions with each other, thus making them difficult to characterise. Wheat is unique among the edible grains because wheat flour has the protein complex called „gluten“ that can be formed into a dough with the rheological properties required for the production of bread and other bakery products. The formation of the viscoelastic dough that is capable of retaining gases during the fermentation process depends entirely on the gluten proteins. As the wheat dough is a very complex system whose characteristics depend on many components and factors, dough rheological tests can indicate the behaviour of dough during dough mixing and the manipulation in the bakery.

In order to characterize a structure and a composition of wheat proteins, as well as their influence on the technological properties of flour, five bread (ZP 87/1, 7/1 ZP, ZP 3/1, Cimmyt 266, ZP Zemunska rosa) and five durum (ZP 120, Cimmyt 7879, Cimmyt 7817, ZP 34/1 rana, ZP DSP/01) wheat genotypes cultivated in 2010 and 2011 growing seasons, were used. Electrophoretic patterns of albumin-globulin, gliadin and glutenin protein of bread and durum wheat genotypes showed significant differences, which can be attributed to the influence of environmental factors, genotype and the genotype x environment interaction. The content and the composition of gliadin and glutenin fractions of bread wheat genotypes were influenced by a genotype as a dominant factor, while durum wheat genotypes were highly environment dependent. A low influence of environmental factors on gliadin and glutenin subunits is favourable,

because selection of genotypes with a good qualitative and quantitative composition of these protein groups could have a good effect on the technological properties of flour. The higher content of soluble glutenins in rainy-season-grown bread and durum wheat genotypes caused the formation of softer and more elastic gluten, which had a favourable impact on the rheological properties of dough, while the climatic conditions in the dry season influenced the formation of strong, inelastic and brittle gluten. A positive effect of individual gliadin subunits (γ -Gli, α/β -Gli) on extensograph properties of dough of bread wheat genotypes, caused the formation of softer gluten, while a negative correlation with these subunits caused the formation of strong, brittle and inelastic gluten in durum wheat genotypes. In order to investigate the influence of protein fractions and subunits on the technological properties of wheat flour baking tests were performed. Breads made from bread and durum wheat genotypes grown in the rainy season had better crumb textural characteristics than those made from genotypes grown in the dry season. It was expected that breads prepared of bread wheat genotypes had better sensory quality than those prepared of durum wheat genotypes.

Due to a very low percentage of phytochemicals that are being lost during the process of wheat milling, a partial substitution of this cereal flour with wholegrain maize flour rich with phenolic compounds can greatly improve functional properties, as well as the nutritional value of bakery products. In order to determine the effect of blue and dark-red popping maize on these properties, antioxidant capacity and the content of total phenolics, flavonoids, anthocyanins and phenolic acids in wheat bread and bread with 30% of maize flour were evaluated. Textural and sensory parameters of bread quality were also evaluated. Fortification of wheat flour with wholegrain blue and dark-red popping maize flour, rich in phenolic compounds with biological activity, improved the functional profiles of end products, increasing content of total phenolics, anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in maize composite bread. However, maize flour had adverse effect on all texture properties of bread while its sensory quality was improved.

Consideration of relationships between the protein composition and technological properties of wheat flour is a good basis for defining optimal conditions for technological processes in the production of a wide range of bakery products, as

well as developing products with the increased functional value with the addition of phenolic compounds from maize grain.

Keywords: bread and durum wheat, proteins, rheological properties of dough, textural and sensory quality of bread, blue and dark red popping maize, phenolic compounds, fortification.

Scientific field: TECHNOLOGICAL ENGINEERING

Specific scientific field: SCIENCE OF CEREAL GRAIN PROCESSING

UDC: 664.641.12:577.112.82(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Poreklo i hemijski sastav zrna pšenice	3
2.2. Proteini pšenice	9
2.2.1. Albumini i globulini	11
2.2.2. Gluten	12
2.2.2.1. Glijadini	14
2.2.2.2. Glutenini	17
2.3. Tehnološka svojstva brašna i njihov odnos sa proteinima	20
2.3.1. Uticaj strukturnih veza glutena na formiranje testa	24
2.3.2. Uticaj albumina i globulina (enzima) na tehnološka svojstva brašna	28
2.3.3. Uticaj podjedinica glijadina na tehnološka svojstva brašna	29
2.3.4. Uticaj podjedinica glutenina na tehnološka svojstva brašna	30
2.4. Kukuruzno brašno kao funkcionalni dodatak hlebnih smeša	32
2.4.1. Fitohemikalije kukuruza - Fenolna jedinjenja	32
3. MATERIJAL I METODE RADA	34
3.1. Materijal.....	34
3.2. Metode rada	36
3.2.1. Procesne metode	36
3.2.1.1. Laboratorijsko mlevenje pšenice	36
3.2.1.2. Priprema hleba	36
3.2.1.2.1. Recepture	36
3.2.1.2.2. Laboratorijsko probno pečenje	37
3.2.2. Hemijske metode	38
3.2.2.1. Analiza osnovnog hemijskog sastava zrna i brašna	38
3.2.2.1.1. Određivanje sadržaja pepela	38
3.2.2.1.2. Određivanje sadržaja celuloze	38
3.2.2.1.3. Određivanje sadržaja ukupnih proteina	39
3.2.2.1.4. Određivanje sadržaja lipida	39
3.2.2.1.5. Određivanje sadržaja skroba	39
3.2.2.2. Analiza sadržaja, sastava i strukture proteina brašna	39
3.2.2.2.1. Određivanje rastvorljivih proteinskih frakcija po Osborn-u	39
3.2.2.2.2. SDS - Poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-PAGE) i denzitometrijska analiza	40
3.2.2.2.3. Određivanje sadržaja vlažnog glutena	41
3.2.2.2.4. Određivanje sadržaja slobodnih i ukupnih sulfhidrilnih grupa (-SH) i disulfidnih veza (-S-S).....	42
3.2.2.2.5. Određivanje sadržaja triptofana	43
3.2.2.2.6. Određivanje aktivnost lipoksigenaze	43

3.2.2.2.7. Određivanje aktivnost peroksidaze	43
3.2.2.3. Analiza sadržaja fitohemikalija pšeničnog i kukuruznog brašna i hleba	44
3.2.2.3.1. Određivanje sadržaj ukupnih fenola	44
3.2.2.3.2. Određivanje sadržaj ukupnih flavonoida	44
3.2.2.3.3. Određivanje sadržaj fenolnih kiselina	44
3.2.2.3.4. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana	45
3.2.2.3.5. Određivanje sadržaj ukupnog žutog pigmenta	45
3.2.2.3.6. Određivanje antioksidativnog kapaciteta	46
3.2.3. Analize reoloških svojstava testa	46
3.2.3.1. Farinografska analiza	46
3.2.3.2. Ekstenzografska analiza	46
3.2.3.3. Amilografska analiza	47
3.2.4. Ocenjivanje kvaliteta hleba	47
3.2.4.1. Instrumentalni pokazatelji kvaliteta hleba	47
3.2.4.1.1. Određivanje zapremine vekne	47
3.2.4.1.2. Određivanje teksturnih svojstava sredine hleba	47
3.2.4.1.3. Određivanje boje gornje kore i sredine hleba	49
3.2.4.2. Određivanje senzornih svojstava hleba	49
3.2.5. Statistička analiza	49
4. REZULTATI I DISKUSIJA	50
4.1. Sastav i struktura proteina pšenice.	50
4.1.1. Hemijski sastav zrna i brašna hlebne i durum pšenice	51
4.1.2. Rastvorljive proteinske frakcije u brašnu hlebne i durum pšenice	56
4.1.3. Polipeptidni sastav rastvorljivih proteina brašna hlebne i durum pšenice	60
4.1.3.1. Polipeptidni sastav albuminsko-globulinske frakcije identifikovan SDS-PAGE.....	60
4.1.3.1.1. Aktivnost lipoksigenaze i peroksidaze u brašnu hlebne i durum pšenice	64
4.1.3.2. Polipeptidni sastav glijadinske frakcije identifikovan SDS-PAGE.....	67
4.1.3.3. Polipeptidni sastav gluteninske frakcije identifikovan SDS-PAGE.....	73
4.1.4. Sadržaj triptofana, koncentracija cisteina, slobodnih SH grupa, disulfidnih veza i antioksidativni kapacitet glutena hlebne i durum pšenice	80
4.2. Reološka svojstva testa hlebne i durum pšenice.....	86
4.2.1. Reološka svojstva testa hlebne pšenice.....	86
4.2.2. Reološka svojstva testa durum pšenice	89
4.3. Poređenje reoloških svojstava testa hlebnih i durum pšenica i njihova zavisnost sa sadržajem i strukturom proteina.	92
4.3.1. Uticaj proteina na farinografske pokazatelje reoloških svojstava testa.....	92
4.3.2. Uticaj proteina na ekstenzografske pokazatelje reoloških svojstava testa	95
4.3.3. Uticaj proteina na amilografske pokazatelje reoloških svojstava testa	97

4.4. Poređenje instrumentalnih pokazatelja i senzorna svojstva hleba hlebnih i durum pšenica i njihova zavisnost sa sadržajem i strukturom proteina	101
4.4.1. Instrumentalni pokazatelji kvaliteta hleba.....	101
4.4.2. Uticaj proteina brašna i reoloških svojstava testa na instrumentalne pokazatelje kvaliteta hleba	104
4.4.3. Ocena kvaliteta gotovih proizvoda - Sezorna analiza	107
4.5. Fortifikacija pšeničnog hleba bioaktivnim materijama iz kukuruza plave i bordo boje zrna	110
4.5.1. Bioaktivne materije pšeničnog i brašna celog zrna kukuruza kokičara plave i bordo boje i njihov antioksidativni potencijal	110
4.5.2. Uticaj dodatka kukuruza kokičara plave i bordo boje zrna na sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida i antocijana u pšeničnom hlebu	112
4.5.3. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na antioksidativni kapacitet pšeničnog hleba.....	119
4.5.4. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na boju i pH vrednost pšeničnog hleba.....	121
4.5.5. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na instrumentalne parametre	124
4.5.6. Senzorna analiza pšeničnog hleba i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna.....	128
5. ZAKLJUČAK	131
6. PREGLED LITERATURE	135

1. Uvod

Pšenica predstavlja osnovni izvor visokovrednih proteina povoljnih fizičko-hemijskih karakteristika neophodnih i nezamenljivih u proizvodnji hleba i drugih pekarskih proizvoda. Pšenica se najčešće koristi u vidu brašna T400, T500 i T850.

Kvalitet brašna, reološke i funkcionalne karakteristike testa zavise od međusobnog odnosa biohemijskih konstituenata pšeničnog zrna, kao što su proteini, škrob, neskrobni polisaharidi, arabinoksilani, lipidi, kao i fenolne komponente. Međutim, najveći uticaj na razlike u svojstvima testa pripisuje se sadržaju glutenskih proteina, glijadina i glutenina, njihovih subjedinica, kao i međusobnom odnosu ovih proteinskih frakcija.

Sadržaj i svojstva proteinskih frakcija su sortna karakteristika, ali u velikoj meri zavise i od faktora spoljne sredine. Poznavanjem sastava i strukture proteina pšenice i uspostavljanjem veze sa tehnološkim svojstvima brašna omogućava se primena adekvatnog tehnološkog postupka proizvodnje pekarskih proizvoda i uticaj na njihove senzorne karakteristike.

S obzirom da belo pšenično brašno ima nizak sadržaj vitamina, jedinjenja sa antioksidativnim karakteristikama i dijetalnih vlakana koja se gube u procesu mlevenja, dodavanjem integralnog brašna kukuruza bordo i plavog zrna bogatog ovim komponentama može se poboljšati nutritivna, ali i funkcionalna vrednost pekarskih proizvoda. Sa druge strane, kukuruzno brašno može da umanja ispoljavanje funkcionalnosti pšeničnih proteina u pekarskim proizvodima utičući na taj način na promenu njihovih senzornih karakteristika.

Program istraživanja u okviru ove teze obuhvatio je karakterizaciju sastava i strukture proteina različitih genotipova hlebne i durum pšenice gajene tokom dve godine (žetva 2010 i 2011). Osnovi cilj istraživanja je bio da se se utvrdi uticaj međusobnog odnosa proteinskih frakcija glijadina i glutenina i njihovih subjedinica na tehnološke karakteristike pšeničnog brašna. Očekivalo se da će faktori spoljne sredine imati značajan

uticaj na proteine hlebne i durum pšenice, njihov sastav i strukturu. Pretpostavka je bila da će se specifičnost proteinskog sastava hlebnih i durum pšenica odraziti na reološka svojstva testa ovih pšenica, a time i na senzorne karakteristike hleba. Najveći uticaj na kvalitet brašna, a kasnije i na kvalitet testa i hleba se očekivao usled varijacija sastava proteinskih frakcija, prevashodno glijadina i glutenina.

Jedan od ciljeva disertacije je bio ispitivanje uticaja fenolnih komponenata poreklom iz brašna kukuruza obojenog zrna na antioksidativni kapacitet hlebnih smeša i hleba, a ujedno i ispitivanje uticaja kukuruznog brašna na ispoljavanje funkcionalnosti proteina pšenice. S obzirom da je proteinski sastav zrna kukuruza, koji ne sadrži gluten, različit od proteinskog sastava zrna pšenice, očekivale su se znatne razlike u senzornim svojstvima hleba sa dodatkom kukuruza. Pretpostavka je bila da brašno kukuruza plave i bordo boje zrna bogatog fenolnim jedinjenjima, pre svega antocijanima, može poslužiti kao funkcionalni dodatak hlebnim smešama radi poboljšanja antioksidativnih svojstava.

Sagledavanje veze između proteinskog sastava i tehnoloških svojstava pšeničnog brašna predstavljalo bi dobru osnovu za definisanje optimalnih uslova tehnoloških procesa pri proizvodnji širokog asortimana pekarskih proizvoda, kao i za kreiranje proizvoda povećane nutritivne i funkcionalne vrednosti uslovljene karakteristikama fitohemikalija poreklom iz zrna kukuruza.

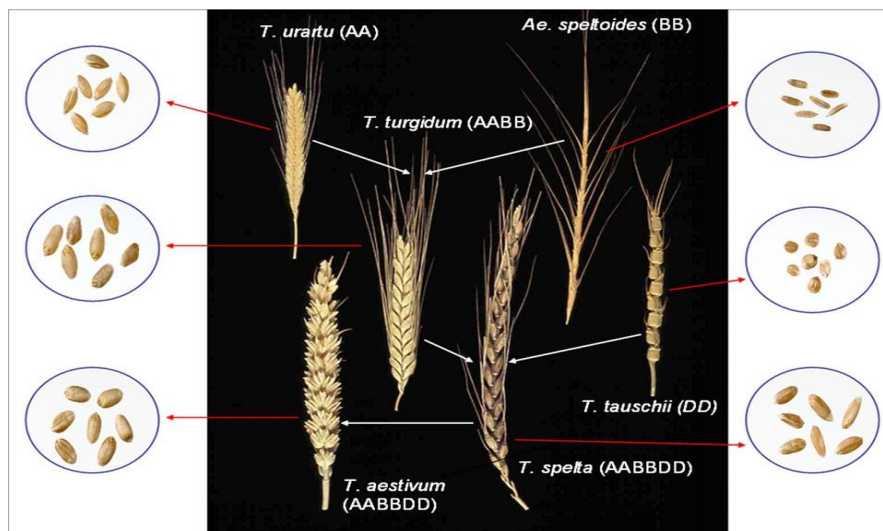
2. Pregled literature

2.1. Poreklo i hemijski sastav zrna pšenice

Opšte je prihvaćeno da je pšenica prva žitarica koja se gajila kao usev za hranu još od 10000 - 8000 p.n.e. Poreklo roda *Triticum* je pronađeno na teritoriji Azije i delu Afrike, na području koje se proteže od Sirije do Kašmira, a na jugu do Etiopije. Ovo je mesto na kome je kultivisana pšenica postepeno evoluirala od divljih biljaka.

Glavni put kojim je pšenica došla u Evropu je bio preko Anadolije do Grčke (6000 p.n.e.), a zatim na severu preko Balkana do Dunava (5000 p.n.e.) i preko Italije, Francuske i Španije (5000 p.n.e.), da bi konačno stigla u Veliku Britaniju i Skandinaviju oko 3000 p.n.e. Slično ovome, pšenica se proširila preko Irana u centralnoj Aziji sve do Kine oko 1000 p.n.e. i Afrike, u početku do Egipta (*Feldman, 2001*).

Prema savremenoj taksonomiji, pšenica pripada rodu *Triticum* porodice *Poaceae* (nekadašnje *Graminae*). Obuhvata nekoliko vrsta koje obrazuju poliploidnu seriju sa osnovnim brojem hromozoma 7, a to su diploidna ($2n = 2k = 14$), tetraploidna ($2n = 4k = 28$) i heksaploidna ($2n = 6k = 42$) pšenica. Danas oko 95% od ukupne količine pšenice gajene u svetu je heksaploidna hlebna pšenica (*T. aestivum*) (*Shewry, 2009*), koja je poznatija kao tvrda ili meka pšenica u zavisnosti od strukturno mehaničkih karakteristika zrna. Ona se koristi uglavnom u vidu brašna (od celog ili rafinisanog zrna) za proizvodnju velikog broja različitih vrsta hleba i pekarskih proizvoda. Najveći deo od preostalih 5% je tetraploidna durum pšenica (*T. durum*) koja se koristi za proizvodnju griza i glavna je sirovina za izradu testenina. Neke durum pšenice se melju do brašna i koriste u mediteranskim i zemljama Bliskog istoka za proizvodnju hleba srednje zbijenosti (*Peña, 2002*). Na Slici 2.1. prikazan je evolucioni i genetski odnos između kultivisanih hlebnih i durum pšenica i srodnih divljih diploidnih trava.

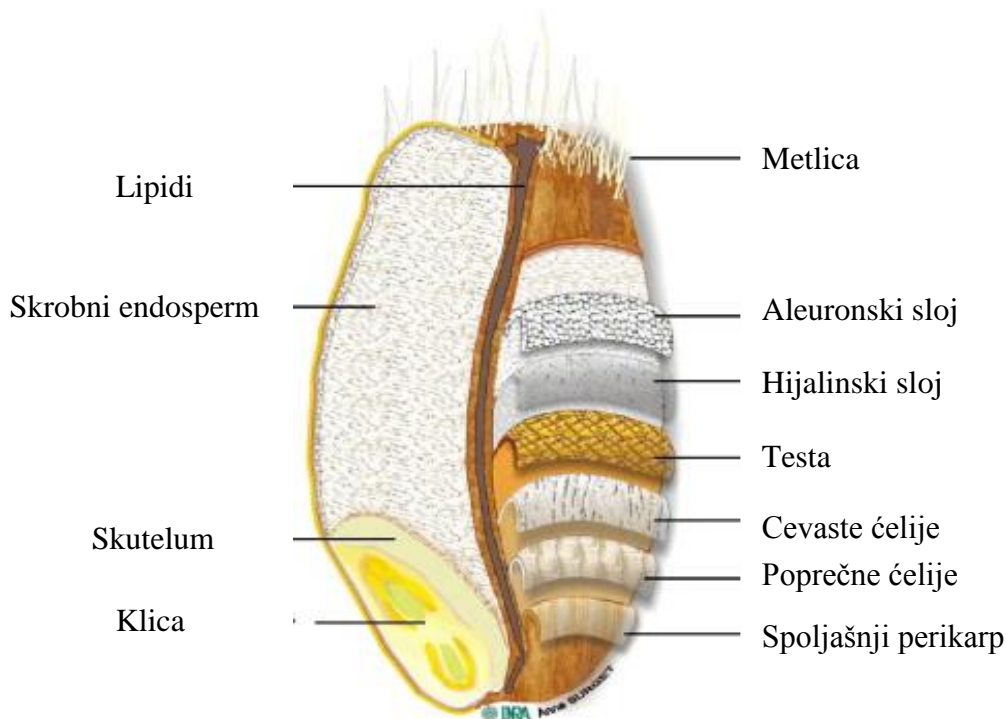


Slika 2.1. Evolucion i genetski odnos između kultiviranih hlebnih i durum pšenica i srodnih divljih diploidnih trava (*Snape i Pánková, 2006*).

Pšenica spada u žita sa prinosom od preko 690 miliona tona godišnje (*FAO, 2013*) i jedna je od glavnih biljnih kultura koja se koristi u ishrani ljudi (*Shewry, 2000*). Ona čini oko 30% proizvedenih žita, a 72% proizvedene pšenice se koristi za ljudsku ishranu. Uprkos relativno niskom sadržaju proteina (obično 8-15%) hranljivu vrednost proteina pšenice ne treba pocenjivati, posebno u zemljama u kojima hleb i drugi pekarski proizvodi čine značajan deo ishrane (*Shewry, 2000*). Od ukupne svetske ponude pšenice, u razvijenim zemljama se u proseku 53% preradi u hranu, dok je u zemljama u razvoju zastupljena sa blizu 85% (*Peña, 2007*). Ona pruža približno jednu petinu od ukupnog kalorijskog unosa svetske populacije (*FAO, 2009*).

Pšenično zrno se sastoji od tri odvojene celine: omotač, skrobni endosperm i embrio (klica) koje čine 13-17%, 80-85% odnosno 2-3% računato na suhu materiju (*Scossa, 2008*). Omotač ili pericarp okružuje celo zrno i sastoji se od dva dela, spoljnog i unutrašnjeg perikarpa. Spoljni perikarp se sastoji od epidermisa, hipoderma i takozvanih tankozidnih ćelija, a unutrašnji perikarp čine intermedijarne ćelije (poprečne i cevaste ćelije). Sledeći sloj ćelija je obojeni sloj, koji se takođe naziva i testa, i hijalinski sloj, koji je srastao sa aleuronskim slojem (Slika 2.2.). Aleuronski sloj se nalazi na površini endosperma odmah ispod omotača. Po histološkim karakteristikama aleuronski sloj pripada endospermu, a po

tehnološkim - omotaču. U prizmatičnim ćelijama ovog sloja se nalaze belančevine, a posebno belančevina aleuron, po kojoj je sloj dobio ime. Pored belančevina u aleuronskom sloju se nalaze lipidi, vitamini, enzimi i neorganske materije. Osnovni hemijski sastav različitih delova zrna prikazan je u Tabeli 2.1.

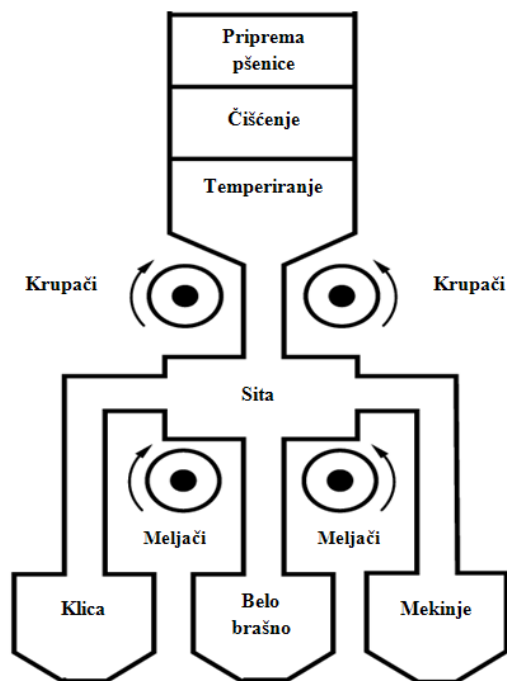


Slika 2.2. Histološka struktura zrna pšenice (Barron i sar., 2007).

Tabela 2.1. Hemijski sastav različitih delova zrna pšenice izražen u prosečnim vrednostima preračunatim na suhu materiju (Belderok, 2000).

	Celo zrno	Skrobni endosperm	Omotač	Embrio (klica)
Proteini	16	13	16	22
Lipidi	2	1,5	5	7
Ugljeni hidrati	68	82	16	40
Dijetalna vlakna	11	1,5	53	25
Minerali (pepeo)	1,8	0,5	7,2	4,5
Druge komponente	1,2	1,5	2,8	1,5
Ukupno	100	100	100	100

Značaj pšenice uglavnom se pripisuje njenoj sposobnosti da može biti samlevena u brašno i griz koji čine osnovne sastojke hleba, drugih pekarskih proizvoda i testenina. Mlevenjem pšenice razdvajaju se anatomske delove zrna i ono se usitnjava. Postepenom redukcijom zrna pšenice, uz višefazno usitnjavanje i mlevenje dobijaju se čestice različitog promera koje se prosejavaju, a spajanjem različitih pasaja formiraju se tipovi brašna sa različitim udelom endosperma, klice i mekinja. Na Slici 2.3. prikazana je šema tehnološkog procesa mlevenja. S obzirom da sadržaj proteina, ugljenih hidrata, mineralnih materija, vitamina i antioksidativnih fitonutritienata varira između različitih frakcija zrna pšenice (*Liyana-Pathirana i Shahidi, 2007; Baic, 2005*), funkcionalna i nutritivna svojstva raznih tipova brašna su različite, kao i njihova podobnost za različite prehrambene proizvode. Skorašnji podaci pokazuju da proizvodi od celog zrna koji se koriste u ishrani čine svega 5-10% ukupne potrošnje proizvoda od žita, a ostalih 90% čine proizvodi od belog brašna (*Marquart i sar., 2007*). Efikasnost razdvajanja frakcija zrna zavisi od mlevnih karakteristika pšenice (meljivost) i načina vođenja tehnološkog procesa, pripreme i mlevenja (*Žeželj, 2005*).



Slika 2.3. Šema tehnološkog procesa mlevenja pšenice

Pšenično brašno se pretežno sastoji od skroba (70-75%), vode (12-14%), proteina (8-16%) i drugih komponenata kao što su prehrambena vlakna (2-3%), lipidi (2%) i pepeo (1%). Kvalitet pšeničnog brašna zavisi od sadržaja i karakteristika ovih komponenata koje se razlikuju u zavisnosti od sorte pšenice (*Morita i sar., 2002*). Pšenično brašno pored ovih materija sadrži vitamine (B1, B2, E, provitamin A, nikotinsku kiselinu) i enzime (proteaze, lipaze, oksidaze i druge) (*Petronijević, 2000*).

Skrob je najvažniji rezervni polisaharid kod mnogih žita (*Parker i Ring, 2001*). On je najzastupljeniji u zrnu pšenice u poređenju sa drugim jedinjenjima (*Goesaert i sar., 2005*) i čini u proseku 60-70% komponenata zrna i 70-80% komponenata brašna. Skrob ima ulogu inertnog punioca u kontinualnom matriksu testa (*Bloksma, 1990*), dok su *Eliasson i Larson (1993)* opisali testo kao bikontinualnu mrežu skroba i proteina. Tokom mešenja testa, skrob upija oko 46% vode i prisutan je u testu u svom osnovnom obliku (*Goesaert i sar., 2005*). Sadržaj skroba u brašnu, veličina skrobnih granula i stepen njihove oštećenosti utiču na kvalitet zamešenog testa, jer sitnije kao i oštećene skrobne granule mogu apsorbirati više vode (*Auerman, 1988*).

Lipidi čine 2-3% komponenata pšeničnog zrna i 2-2,5% komponenata pšeničnog brašna, a sam sadržaj lipida nije uslovljen samo genetskim i ekološkim karakteristikama, već i samim procesom mlevenja pšenice i metodom ekstrakcije lipida (*Chung i sar., 2009*). Masne kiseline, palmitinska i esencijalna linolna kiselina, kao i u ulju rastvorljivi vitamini i fitosteroli, su značajne komponente lipida pšeničnog zrna (*Ruibal-Mendieta i sar., 2004*). Približno 70-75% od ukupnog sadržaja lipida u brašnu čine neskrobni lipidi koji imaju značajan uticaj na formiranje testa, dok skrobni lipidi koji su čvrsto vezani u skrobnim granulama nemaju mogućnosti uticaja na testo tokom njegove obrade ukoliko ne dođe do procesa želatinizacije skroba (*Eliasson i Larsson, 1993*). Na zapreminu vekne negativno utiču slobodne masne kiseline iz nepolarnih lipida, dok glikolipidi iz polarnih lipida imaju pozitivan uticaj na volumen vekne (*MacRitchie, 1983*).

Prehrambena vlakna pšeničnog zrna čine rezistentni skrob, celuloza, hemiceluloza i drugi kompleksi polisaharida kao što su arabinoksilani, β -glukani, pektini i arabinogalaktani, zajedno sa ligninom (*Muralikrishna i Rao, 2007*). Testa bogata prehrambenim vlaknima imaju visoku moć upijanja vode, postaju slaba i imaju smanjenu

toleranciju tokom fermentacije (*Laurikainen i sar., 1998*). Vodeni rastvori u vodi nerastvorljivih arabinoksilana imaju visok viskozitet i ovo svojstvo je dugo smatrano kao veoma važno za pecivna svojstva pšeničnog brašna (*Courtin i Delcour, 2002*). Prehrambena vlakna takođe povećavaju vreme razvoja testa, a smanjuju stabilnost i stepen omekšanja testa (*Penella i sar., 2008*).

Fitohemikalije koje se nalaze u pšeničnom zrnu mogu biti podeljene na fenole, karotenoide, tokoferole, alkilresorcinole i druge. Oko 99% ukupnih fenolnih jedinjenja se nalazi u omotaču pšeničnog zrna i njihov sadržaj se prema istraživanju *Žilić i sar. (2012a)* kreće u opsegu od 7746,54 do 12384,55 mg GAE/kg u različitim genotipovima hlebne i durum pšenice. Od 72-84% fenolnih jedinjenja se nalazi vezano za polisaharide ćelijskih zidova (*Adom i sar., 2003*) i njihov sadržaj u zrnu pšenice je oko 2,12 odnosno 1,24 puta viši u poređenju sa slobodnim i konjugovanim fenolima (*Žilić i sar., 2014*). Flavonoidi i fenolne kiseline predstavljaju najčešću, najkompleksniju i najznačajniju formu fenolnih jedinjenja u pšeničnom zrnu. Flavonoidi su posebno važni u ljudskoj ishrani kao antioksidanti i antivirusni agensi. Takođe, epidemiološke studije su pokazale da se njihovim unosom smanjuje rizik od kancera i kardiovaskularnih bolesti (*Wang i sar., 2012*). Fenolne kiseline predstavljaju grupu prirodnih komponenata koje imaju visoku antioksidativnu aktivnost u odnosu na slobodne radikale i druge reaktivne forme kiseonika, za koje se smatra da su uzrok mnogih hroničnih oboljenja, kao što su kancer i kardiovaskularna oboljenja. Od prisutnih fenolnih kiselina u pšeničnom zrnu, najzastupljenija je ferulinska kiselina, u manjoj količini *p*-kumarinska, a mogu se naći i *p*-hidroksibenzoeva, vanilinska, siringisku, *o*-kumarinska, salicilna i sinapinska kiselina (*Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006; Moore i sar., 2005*). Ferulinska kiselina nalazi se u trans-izomernoj formi vezana estarskim vezama za ćelijske zidove polisaharida (*Klepacka i Fornal, 2006*), dok se svega oko 2% od ukupne ferulinske kiseline nalazi u slobodnoj formi (*Žilić i sar., 2014*).

Karotenoidi i njihovi estri pšeničnom zrnu daju boju koja predstavlja bitan indikator kvaliteta. Sadržaj ukupnih karotenoida u pšeničnom zrnu se kreće od 0,8 do 2,17 µg/g. Lutein i zeaksantin su najzastupljeniji karotenoidi (*Moore i sar., 2005*), dok su manje koncentracije β-kriptoksantina i β-karotena takođe detektovane u pšeničnom zrnu. Pored

visoke antioksidativne aktivnosti α - i β -karoten i β -kriptoksantin imaju provitamin A aktivnost, dok lutein i zeaksantin privlače veliku pažnju zbog moguće uloge u prevenciji katarakte i degeneracije makule oka uslovljene starenjem (*Carpentier i sar., 2009*).

Tokoferoli i tokotrienoli, zajedno poznati kao vitamin E, imaju sposobnost da deluju kao antioksidansi koji sakupljaju lipidno-peroksidne radikale (*Lampi i sar., 2010*). Premda pšenično zrno sadrži sve forme tokoferola skoncentrisane u klici (*Moore i sar., 2005; Panfili i sar., 2003*), α -tokoferol je najaktivnija forma vitamina E (*Reboul i sar., 2006*). Koncentracija ukupnih tokoferola i tokotrienola u pšeničnom zrnu ima vrednosti od 27,6 and 79,7 μ g/g (*Lampi i sar., 2010*).

Kako se mlevenjem uklanjaju mekinje i sa njima 75% fitohemikalija pšeničnog zrna (*Slavin, 2003; Jones i sar., 2004*), prvenstveno fenolnih jedinjenja, obogaćivanje belog brašna dodatkom brašna drugih biljnih vrsta bogatog fitohemikalijama može se uticati kako na reološke karakteristike testa, tako i na funkcionalno poboljšanje gotovih proizvoda.

2.2. Proteini pšenice

Naučna istraživanja o proteinima pšeničnog zrna počinju izolovanjem pšeničnog glutena koje je opisano 1745. godine (*Beccari, 1745*).

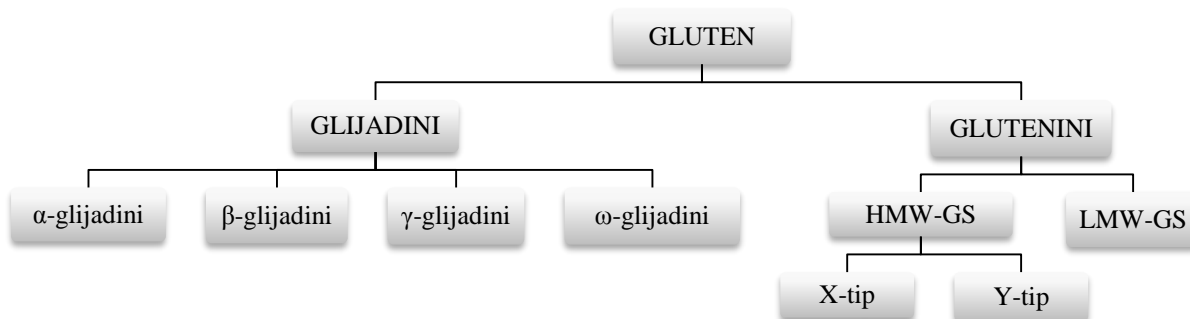
Sadržaj proteina u pšeničnom zrnu se kreće od 7 do 15% u hlebnoj pšenici i od 9 do 18% u durum pšenici (*Daniel i Triboi, 2002; Shewry i sar., 2002*) i uslovljen je kako genetičkim tako i faktorima spoljne sredine (*Hadži-Tašković Šukalović i sar., 2013*). Uprkos tome, same varijacije u ukupnom sadržaju proteina ne mogu adekvatno objasniti utvrđene razlike krajnjeg kvaliteta sorti pšenice (*Peterson i sar., 1992*).

Prema Osbornovoj klasifikaciji iz 1924. godine, proteini pšenice se na osnovu rastvorljivosti dele na četiri glavne grupe: albumini (rastvorljivi u vodi i razblaženim puferima), globulini (rastvorljivi u rastvorima soli), glijadini (rastvorljivi u 70-90% etanolu) i glutenini (rastvorljivi u razblaženim kiselinama ili bazama) (Slika 2.4.)



Slika 2.4. Podela pšeničnih proteina prema Osborn-u (*Osborne, 1924*)

Proteini pšeničnog zrna pokazuju visoku kompleksnost i različit međusobni stepen interakcije, čime ih je teško okarakterisati. Molekulska masa pšeničnih proteina kreće se od 30.000 do više od 10 miliona Da (*Wieser, 2007*) i mogu se podeliti na strukturno/metaboličke (neglutenske) i rezervne (glutenske) proteine (*Shewry, 2003*). Strukturni/metabolički proteini sastoje se od albumina, globulina i amfifilnih proteina. Nembranski amfifilni proteini imaju veliki uticaj na strukturno mehaničke karakteristike zrna i reološka svojstva testa (*Dubreil i sar., 1998*). Drugi sistem klasifikacije deli glutenske proteine (prolamine) u tri grupe: sumporom bogate, sumporom siromašne i proteine visoke molekulske mase. Sumporom bogati prolamini uključuju β -glijadine, γ -glijadine, B- i C-glutenine niske molekulske mase (glutenini LMW). Sumporom siromašni prolamini sadrže ω -glijadine i D-LMW-glutenine (*Shewry i Halford, 2002*), dok prolamini visoke molekulske mase uključuju HMW glutenine.



Slika 2.5. Podela rezervnih proteina pšenice (*Shewry i sar., 1986*)

2.2.1. Albumini i globulini

Albumini i globulini su rastvorljivi u vodi i rastvorima soli (*Vensel i sar., 2005; Merlino i sar., 2009*) i predstavljaju veoma raznovrsnu grupu proteina zbog svojih fizičko-hemijskih svojstava u smislu aminokiselinskog sastava, izoelektrične tačke i molekulske mase. Njihova molekulska masa je uglavnom niža od 25 kDa, mada se značajan procenat proteina nalazi između molekulskih masa od 60 i 70 kDa (*Veraverbeke i Delcour, 2002*). Nutritivno, albumini i globulini imaju veoma dobar balans aminokiselina. Imaju relativno visok sadržaj triptofana i metionina (*Pomeranz, 1968*) i sadrže oko 50% ukupne količine lizina koja se nalazi u zrnju (*Fra-Mon i sar., 1984*). S druge strane, ovi proteini mogu biti uzrok nekih zdravstvenih problema, kao što su alergija, astma i dijareja (*Weiss i sar., 1997; Takizawa i sar., 2001*).

Neglutenski proteini, albumini i globulini pšenice čine 20-25% ukupnih proteina pšeničnog zrna (*Belderok i sar., 2000; Merlino i sar., 2009*) i većina njih je monomerna. Pored toga, albumini (uglavnom β -amilaze) i globulini sadrže i polimerne proteine koji su stabilizovani interlančanim disulfidnim vezama. Većina neglutenskih proteina su metabolički (uglavnom enzimi) ili strukturni proteini. Međutim, polimerni globulini (*Singh i sar., 1985, 1987, 1991*), slično sa 11S frakcijom (legumin), formiraju malu grupu (oko 5% od ukupnog sadržaja proteina) rezervnih proteina. *Dong i sar. (2012)* su ispitivanjem 89 neglutenskih proteina ustanovili da više od 80% ovih proteina pripada enzimima. Oni su klasifikovani u osam funkcionalnih grupa, a uključeni su u metabolizam ugljenih hidrata (27%), metabolizam proteina (27%), stres/odbranu/detoksikaciju (11%), ćelijski metabolizam (6%), transkripciju/translaciju (4%), azotni metabolizam (4%), fotosintezu (4%) i signalnu transdukciju (1%).

U poslednjih nekoliko godina, povoljni efekti usled upotrebe enzima amilaza, ksilanaza, lipoksigenaza (LOX), pentozanaza, glukoza-oksidaza (GOX) i peroksidaza (POX) su unapredili rad pekarske industrije (*Jimenez i Martinez-Anaia, 2001*). Tokom stajanja ili mešenja pšeničnog testa, lipoksigenaza i peroksidaza mogu biti odgovorne za smanjenje početnog sadržaja antioksidanasa. Međutim, pored ove činjenice, prisustvo lipoksigenaze i peroksidaze je poželjno za proces pripreme hleba jer poboljšavaju proces

fermentacije a time i teksturu hleba. Prema istraživanju *Žilić i sar. (2011b)* aktivnost lipoksigenaze je koncentrisana u endospermu i klici pšeničnog zrna, dok je peroksidaze najvećim delom sadržana u omotaču pšeničnog zrna. Aktivnost lipoksigenaze u zrnu hlebne i durum pšenici se kreće u opsegu od 0,46-1,18 $\mu\text{mol/g/min}$, dok aktivnost peroksidaze ima vrednosti od 4,61-11,16 $\mu\text{mol oksidovane ferulinske kiseline/g/min}$ (*Žilić i sar., 2010*). Sa druge strane visok sadržaj α -amilaze u pšeničnom brašnu nije poželjan i takva brašna se ne mogu koristiti u procesu pripreme hleba. α -amilaza je aktivna i iznad temperatura na kojima skrob želatinizira, uzrokujući hidrolizu skroba, što dovodi do manjeg volumena hleba i lepljive sredine.

2.2.2. Gluten

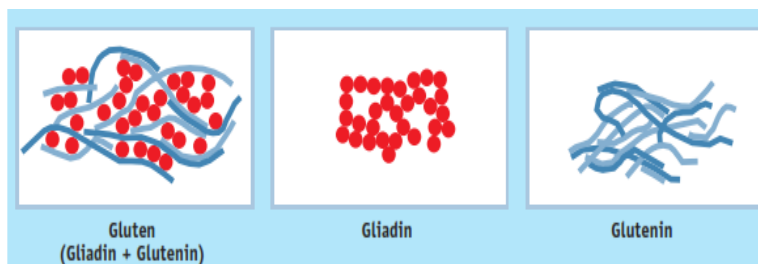
Jedinstvene karakteristike pšenice se zasnivaju na svojstvu rezervnih proteina da formiraju gluten. Njihova unutrašnja viskoelastična svojstva su odgovorna za karakteristike različitih proizvoda od pšenice – hleba, testenina, nudli, keksa, kolača, peciva i drugih (*Day i sar., 2006*) i upotrebu proteina pšeničnog glutena u različitim prehrambenim proizvodima (*Delcour i sar., 2012*). Pored uticaja na tehnološka svojstva pšenice, gluten ima i antioksidativne karakteristike. Prema istraživanjima *Žilić i sar. (2012b)* kompleksna struktura proteina glutena uslovljava njihov visok antioksidativni kapacitet, dok su *Suetsuna i Chen (2002)* i *Wang i sar. (2007)* detektovali antioksidativne peptide u hidrolizatima glutena.

Glutenski proteini čine 80-85% od ukupnog sadržaja proteina pšenice i glavni su rezervni proteini pšenice. Nalaze se u endospermu zrelog pšeničnog zrna gde formiraju neprekidan matriks oko skrobnih granula. To su sekretorni proteini, koji se sintetišu u endoplazmatičnom retikulumu i ko-translatorno dopremaju u lumen endoplazmatičnog retikuluma. Unutar lumena endoplazmatičnog retikuluma, rezervni proteini pšenice mogu slediti dva puta: Goldžijevu-zavisnu rutu koja dovodi do taloženja proteina unutar tela vakuola ili Goldžijevu-nezavisnu rutu u kojoj se nataloženi proteini, formirani u okviru lumena endoplazmatičnog retikuluma, mogu spojiti na krajevima sa telom proteina vakuola (*Kumamaru i sar., 2007*).

Glutenski proteini predstavljaju kompleks sačinjen od prolina (10%), glicina (20%) i glutamina (35%) kao najzastupljenijih aminokiselina koje su odgovorne za karakteristike proteina glutena (*Pommet i sar., 2005; Wellner i sar., 2005*). U aminokiselinskom sastavu glutena, cisteinski ostaci čine mali udeo (~2%), ali veoma bitan za strukturu i funkcionalnost glutena. Niska rastvorljivost glutena u vodi se pripisuje niskim sadržajem ostataka lizina, arginina, glutaminske i asparaginske kiseline, koji zajedno čine manje od 10% ukupnog broja aminokiselinskih ostataka. Oko 30% aminokiselinskih ostataka u glutenu je hidrofobno, a ostaci u velikoj meri doprinose sposobnosti formiranja agregata proteina hidrofobnim interakcijama i vezivanje lipida i drugih nepolarnih supstancija.

Gluten se sastoji od stotina proteinskih komponenata koje su prisutne ili kao monomeri ili vezane inter- i intralančanim disulfidnim vezama (oksidovana forma cisteina) ili kao oligomeri (*Wrigley i Bietz, 1988*). Glutenski proteini se na osnovu svoje rastvorljivosti mogu podeliti na glijadine i glutenine (*Wieser, 2007*), a njihov odnos i udeo u pšeničnom zrnu je varijabilan i uslovljen je faktorima spoljne sredine i genetičkom predispozicijom (*Branlard i sar., 2000; Shewry i sar., 2000*). Međutim, pšenično brašno treba da sadrži približno istu količinu glutenina i glijadina, a narušavanjem odnosa glutenin/glijadin mogu se promeniti njegova viskoelastična svojstva (*Peña i sar., 2002*).

Veliki broj različitih modela je predložen za strukturu polimera glutena. Najraniji modeli polimera glutena su pokazali da intralančane disulfidne veze u okviru istog molekula glutenina primoravaju gluteninske molekule u konformacije koje olakšavaju interakciju samih molekula glutenina putem nekovalentnih veza uzrokujući agregatne strukture (*Kasarda i sar., 1976*). Kasnije modeliranje je protežitalo lančanu formu između susednih molekula glutenina povezanih disulfidnim vezama (*Ewart, 1979*). Naknadne studije su pokazale da se polimer glutena sastoji od širokog spektra molekula različitih veličina, od dimera do polimera sa molekulskom masom i do nekoliko miliona daltona (*Larroque i sar., 1996; Wrigley, 1996*). Smatra se da su i intra- i interlančane disulfidne veze koje se javljaju, strukturno važne kao i nekovalentne veze (*Belton, 1999*). Međutim, polimer glutena koji se dobija ekstrakcijom proteina iz zrna pšenice ili pšeničnog brašna je uglavnom izgrađen od gluteninskih subjedinica povezanih kovalentnim disulfidnim vezama, dok su veze koje se javljaju kod glijadina intermolekularne disulfidne veze.



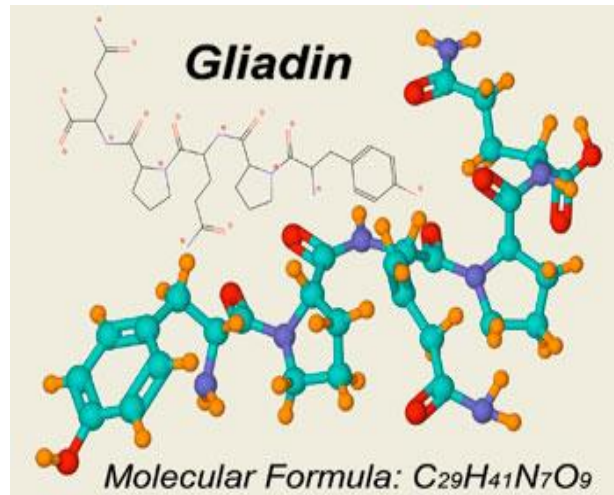
Slika 2.6. Šematski prikaz strukture glutena i njegovih frakcija, glijadina i glutenina (Weipert, 2006)

Najnovije studije pokazuju uglavnom amorfnu strukturu glutena, što ukazuje na jasnu hijerarhijsku molekularnu strukturu u polimeru glutena (Kuktaite i sar., 2011). Na Slici 2.6. prikazana je struktura glutena i njegovih frakcija prema šemi koju je dao Weipert (2006).

2.2.2.1. Glijadini

Glijadini su monomerni proteini koji se sastoje od jednog lanca polipeptida i čine od 30 do 40% ukupnih proteina pšeničnog brašna. Njihova monomerna priroda potiče od međulančanih disulfidnih mostova koji čine manje ili više loptastu strukturu glijadina (Shewry i sar., 2003). Oni predstavljaju polimorfnu mešavinu proteina rastvorljivih u 70% alkoholu (Anderson i Greene, 1997).

Glijadini su proteini koji su najiscrpnije ispitivani elektroforezom. Ova činjenica je u snažnoj korelaciji sa naporima da se pronade pouzdan metod za identifikaciju podjedinica i istraži genetička pozadina glijadina, uključujući korelacije između kvaliteta pšenice i distribucije pojedinačnih polipeptida kodiranih u genomu pšenice (Lasztity, 1996).



Slika 2.7. Struktura molekula glijadina

Molekulske mase glijadina se kreću od 30 do 80 kDa i oni su klasifikovani u četiri grupe α -, β -, γ - i ω -glijadine na osnovu svojih biohemijskih i genetičkih karakteristika (Thewissen i sar., 2011) i pokretljivosti na niskim pH vrednostima u poliakrilamid gel elektroforezi (Shewry i sar., 1986). Kasnije studije na aminokiselinskim sekvencama su pokazale da elektroforetska mobilnost ne reflektuje uvek odnos proteina i da α - i β -glijadini pripadaju jednoj grupi (α/β -).

Savremene metode omogućavaju razdvajanje proteina glijadinske frakcije na više stotina komponenata. Na osnovu analiza ukupne ili pojedinačne aminokiselinske sekvence, aminokiselinskog sastava i molekulskih masa oni mogu biti podeljeni na 4 podjedinice: $\omega 5$ -, $\omega 1,2$ -, α/β - i γ -glijadini (Wieser, 1996). α/β - i γ -glijadini imaju molekulske mase koje se preklapaju (30kDa-45kDa), dok $\omega 5$ -glijadini i $\omega 1,2$ -glijadini imaju molekulsku masu od 46-74 kDa (Kasarda i sar., 1983). Unutar svake podjedinice, strukturne razlike usled zamene, uklanjanja i umetanja ostataka pojedinačnih aminokiselina su male.

α/β - i γ -glijadini (28-33% odnosno 23-31% od ukupnog sadržaja glutena) imaju količine glutamina i prolina koje su mnogo niže od onih u ω -glijadinima. Svaki od njih sadrži potpuno različite N- i C-terminalne krajeve. N-terminalni kraj (40-50% od ukupnih proteina) sadrži većinom ponovljive sekvence bogate glutaminom, prolinom, fenilalaninom

i tirozinom i jedinstven je za svaki tip proteina glijadina. U okviru C-terminalnog kraja, α/β - i γ -glijadini su homologni. Oni predstavljaju sekvence koje se ne ponavljaju, imaju manje glutamina i prolina nego N-terminalni kraj i imaju više standardnu kompoziciju. Uz nekoliko izuzetaka, α/β -glijadini sadrže šest, a γ -glijadini osam cisteinskih ostataka na C-terminalnom kraju i formiraju tri odnosno četiri homologne međulančane veze (*Grosch i Wieser, 1999*). Upravo je ovo razlog zašto ih nazivaju i sumporom bogate subjedinice. Studije o sekundarnoj strukturi proteina su pokazale da N-terminalni krajevi α/β - i γ -glijadina imaju strukturu β -okreta, slično kao i ω -glijadini (*Tatham i Shewry, 1995*), dok neponovljivi C-terminalni krajevi sadrže značajan udeo α -heliksa i β -nabrane strukture. Iako distribucija ukupnih glijadina između različitih tipova snažno zavisi od sorte pšenice (genotipa) i uslova gajenja (zemljište, klima), može se generalizovati da su α/β - i γ -glijadini glavne komponente, dok se ω -glijadini nalaze u znatno manjim količinama (*Wieser i Kieffer, 2001*)

ω -glijadini (7-13% od ukupnog sadržaja glutena) imaju visok sadržaj glutamina i prolina, a siromašni su cisteinom, pa nemaju mogućnost disulfidnog umrežavanja već u formaciji polimera tokom procesa formiranja testa učestvuju preko nekovalentnih veza, dok α/β - i γ -glijadini mogu biti inkorporirani u polimer glutena sa međumolekulskim S-S vezama (*Kuktaite, 2004; Johansson i sar., 2013*). Oni takođe sadrže nekoliko standardnih aminokiselina i viši sadržaj fenilalanina u poređenju sa drugim klasama glijadina (*Tatham i Shewry 1995*). Karakteriše ih najviša hidrofilnost u poređenju sa drugim glutenskim proteinima u pogledu ukupnog aminokiselinskog sastava sa svega nekoliko ostataka sa naelektrisanim bočnim krajem lanca. U nekim ω -glijadinima sadržaj glutaminske kiseline prelazi 50%, pa se može reći da ω -glijadini sadrže najveći procenat glutamina (Tabela 2.2.). Skoro celokupan sadržaj glutaminske kiseline prisutan je u glijadinima kao glutamin. ω -glijadini sadrže i veliku količinu prolina koji je povezan i sa uticajem na sekundarnu strukturu polipeptida glijadina, zbog toga što prisustvo bočnih lanaca prolina ometa formiranje α -heliksa (*Lásztity, 1995*).

Tabela 2.2. Aminokiselinski sastav različitih podjedinica glijadina (adaptirano iz *Wieser, 2007*)

Podjedinice	Delimični aminokiselinski sastav (%)				
	Glutamin	Prolin	Fenilalanin	Tirozin	Glicin
ω 5-gliadini	56	20	9	1	1
ω 1,2- gliadini	44	26	8	1	1
α/β - gliadini	37	16	4	3	2
γ - gliadini	35	17	5	1	3

Nizak sadržaj lizina, arginina i histidina, sa niskim sadržajem slobodnih karboksilnih grupa, smešta glijadine među najmanje naelektrisane proteine (*Lásztity, 1995*). U Tabeli 2.3. prikazan je sadržaj aminokiselina u ukupnom glijadinu.

Tabela 2.3. Aminokiselinski sastav glijadina na 100g proteina (*Ewart, 1967*)

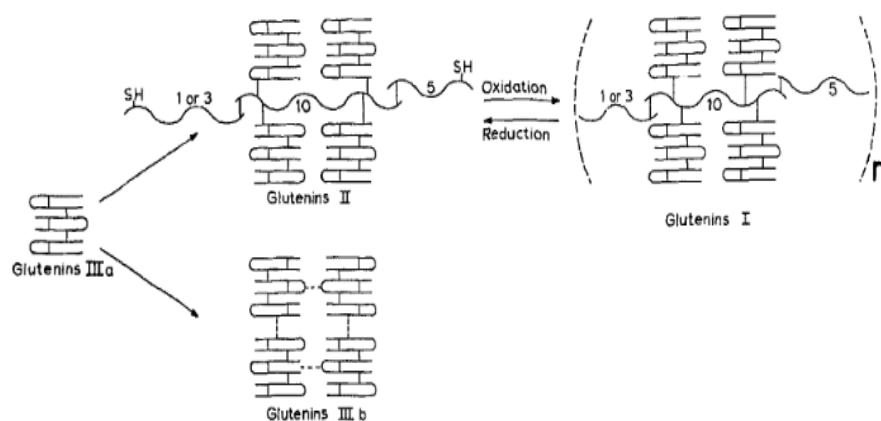
Aminokiselina	Ukupan glijadin	Aminokiselina	Ukupan glijadin
Lizin	5,0	Glicin	26,8
Histidin	16,3	Alanin	28,6
Arginin	17,4	Cistein	29,0
Asparaginska kiselina	24,8	Valin	41,6
Treonin	21,3	Metionin	10,9
Serin	53,6	Izoleucin	38,0
Glutaminska kiselinu	301,1	Leucin	60,6
Prolin	142,0	Tirozin	16,0
Fenilalanin	37,5	Triptofan	3,8

2.2.2.2. Glutenini

Glutenini su poznati kao najveći polimeri u prirodi (*Shewry i Halford, 2002*). To su polimerni proteini pšeničnog glutena, koji su rastvorljivi u razblaženoj sirćetnoj kiselini (*Field i sar., 1983*). U pšenici se nalaze dve klase gluteninskih podjedinica, glutenini velikih molekulskih masa (HMW-GS) i glutenini malih molekulskih masa (LMW-GS), koje se oslobađaju redukcijom disulfidnih veza korišćenjem redukcionih sredstava, a određene su pomoću elektroforeze.

LMW-GS (19-25% od ukupnog sadržaja glutena) su prvi koji su identifikovani gel filtracijom ekstrakata pšeničnog brašna kao glijadini velike molekulske mase koji su povezani disulfidnim vezama, što ih je razlikovalo od monomernih glijadina (*Beckwith i*

sar., 1966). Strukturu LMW glutenina čine cisteinski ostaci koji pomažu formiranje gluteninskih polimera. Na osnovu broja cisteinskih ostataka u LMW gluteninima razlikuje se dva tipa LMW podjedinica koje učestvuju u nastajanju polimera. Prvi tip su LMW podjedinice sa dva ili više cisteinska ostatka koji učestvuju u nastajanju intermolekulskih disulfidnih veza među HMW gluteninima i omogućavaju reakciju propagacije gluteninskog polimera. Suprotno ovome, drugi tip su LMW podjedinice koje poseduju jedan cisteinski ostatak i koje učestvuju u reakciji terminacije gluteninskih polimera, čime se zaustavlja njegovo dalje povećavanje (*Masci i sar., 1999*) (Slika 2.8.).



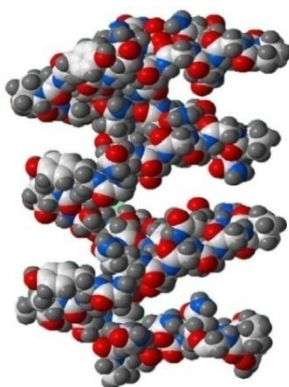
Slika 2.8. Model molekularne strukture glutenina pšeničnog brašna (Glutenin I/A+B+C, II/A, III/B+C) (*Graveland i sar., 1985*)

HMW-GS čine 5-10% ukupnih proteina brašna (*Payne, 1986*) i imaju molekulsku masu od 80-160 kDa (*Payne i sar., 1980*). Preovlađuje mišljenje da struktura HMW glutenina predstavlja smešu polipeptidnih jedinica koje su unakrsno povezane intermolekulskim disulfidnim vezama i stoga se dobijaju veliki opsezi molekulskih masa koje se mogu meriti i u milionima Da. Gluteninske podjedinice HMW mogu se klasifikovati na dva tipa: x i y (*Shewry i sar., 1992*). x-tip podjedinica ima manju elektroforetsku pokretljivost na SDS-PAGE i veće molekulske mase od y-tipa podjedinica. Njihov procentualni udeo u ukupnom sadržaju glutena se kreće u opsegu od 4-9%, dok je zastupljenost y-tipa podjedinica od 3-4% (*Wieser, 2007*). Proteinski lanac HMW podjedinica glutenina, sastoji se od tri različita dela (*Shewry i sar., 1989*): centralnog dela koji čine ponavljajuće aminokiselinske sekvence (*Harberd i sar., 1986*) i bočnih delova

koji se završavaju sa N- i C-krajevima, a sastoje se od neponavljajućih aminokiselinskih sekvenci. Neponavljajući N-terminalni kraj sadrži 80-105 aminokiselinskih ostataka, ponavljajući centralni deo 480-700 ostataka i C-terminalni kraj 42 ostataka (*Shewry i sar., 1992*). Aminokiselinske sekvence HMW podjedinica glutenina, imaju od četiri do sedam cisteinskih ostataka koji se nalaze na N-kraju i C-kraju (*Shewry i sar., 1992*). Iako aminokiselinski ostatak ne učestvuje u formiranju peptidnih mostova, on utiče na interakciju proteina sa drugim proteinima i drugim jedinjenjima. Glutenini i glijadini imaju veoma sličan aminokiselinski sastav, s time da glutenini imaju visok sadržaj glutamina i prolina a nizak sadržaj naelektrisanih aminokiselina (*Goesaert i sar., 2005*). Aminokiselinski sastav različitih klasa glutenina visokih molekulskih masa prikazan je u Tabeli 2.4.

Tabela 2.4. Aminokiselinski sastav različitih podjedinica glutenina visokih molekulskih masa (adaptirano iz Wieser, 2007)

Tip	Delimični aminokiselinski sastav (%)				
	Glutamin	Prolin	Fenilalanin	Tirozin	Glicin
x-HMW	37	13	0	6	19
y-HMW	36	11	0	5	18



Slika 2.9. Molekularni model spiralne strukture formirane od HMW subjedinica glutenina (*Parchment i sar., 2001*). Atomi bele boje-ugljenik, plave-azot, crvene-kiseonik i sive-vodonik

Glutenini se takođe dodatno kalasifikuju u četiri podgrupe (A, B, C i D) na osnovu elektroforetske mobilnosti na SDS-PAGE. Podgrupa A je determinisana kao HMW-GS a podgrupe B, C i D pripadaju LMW-GS (*Shewry i Tatham, 1990; Wrigley, 1996; Gianibelli i sar., 2001; Wang i sar., 2006*). B i C podgrupe sadrže oko 60% od ukupnih LMW-GS i imaju molekulska masu 42-51 kDa odnosno 30-40 kDa, a D podgrupa ima molekulska masu od 55-70 kDa. Na osnovu N-terminalne aminokiselinske sekvence, B-podgrupa LMW-GS se može podeliti na LMW-s, LMW-m odnosno LMW-i, na osnovu prvog aminokiselinskog ostatka osnovnog proteina: serin, metionin ili izoleucin. LMW-s subjedinice su dominantne i njihova molekulska masa se kreće od 35 do 45 kDa i veća je u odnosu na masu LMW-m subjedinica čija je molekulska masa od 30 do 40 kDa (*Tao i Kasarda, 1989; Lew i sar., 1992; Masci i sar., 1995*). Aminokiselinska sekvenca LMW-GS u C podgrupi je slična sa aminokiselinskom sekvencom γ - i α -glijadina. Jako kiseli LMW-GS koji imaju molekulska masu 58 kDa, prisutni su u podgrupi D i ovi LMW-GS su dobijeni od modifikovanih ω -glijadina (*Gianibelli i sar., 2001*).

Gotovo je nemoguće ekstahovati ceo polimer glutenina iz pšeničnog brašna. Takođe je teško odrediti stvarni udeo i veličinu polimera glutenina. Pored toga, utvrđeno je da je udeo neekstrahovanih proteina, najvećim delom polimera glutenina, u korelaciji sa pecivošću brašna (*Field i sar., 1983; Gupta i sar., 1992; Bean i sar., 1998*). Na Slici 2.9. prikazan je model molekularne strukture glutenina.

2.3. Tehnološka svojstva brašna i njihov odnos sa proteinima

Umetnost pravljenja hleba je poznata još pre više od četrdeset vekova. Hleb je bio popularna hrana za sve uzraste, iako ne u istoj formi koju danas poznajemo, a pečenje hleba od kvasnog i kiselog testa su jedni od najstarijih biotehnoških procesa (*Barrett, 1975*). Do današnjeg dana, pšenica se smatra primarnim usevom za proizvodnju hleba i drugih proizvoda od brašna zbog svojih vrhunskih pecivnih svojstava u poređenju sa drugim žitaricama, kao što su ječam i raž (*Dewettinck i sar., 2008*). Za pecivost brašna, pravi odnos i interakcija svih komponenata koje čine brašno su od suštinskog značaja (*Kuktaite, 2004*).

Međutim, kvalitet brašna, reološke i funkcionalne karakteristike testa i pekarskih proizvoda najviše zavise od proteina pšenice (*Wrigley i sar., 2000*).

Mešanjem pšeničnog brašna i vode dobija se testo sa viskoelastičnim svojstvima koje je pogodno za izradu hleba i drugih pekarskih proizvoda. Testo spada u jedno od najsloženijih reoloških sistema i predstavlja viskoelastični sistem koji pri proticanju ispoljava pseudoplastično i tiksotropno ponašanje (*Weipert, 1990*), a njegovo kompleksno reološko ponašanje je posledica njegove složene strukture. Operacije uključene u mešenje testa i njegovu konverziju u hleb utiču na reološka svojstva testa, koje predstavljaju veoma osetljiv indikator promena u strukturi testa (*Song i Zheng, 2007*). Pojam, reologija testa uglavnom je povezan sa proteinskim komponentama testa. Međutim, skrob, kao najzastupljenija komponenta brašna umnogome utiče na teksturu i kvalitet pekarskih proizvoda, jer rastvara gluten, apsorbuje vodu iz glutena tokom procesa želatinizacije i time obezbeđuje strukturu propustljivu za mehuriće gasa (*Miyazaki et al., 2006*). Osnovne reološke karakteristike testa su: jačina-čvrstoća, viskozitet, elastičnost i plastičnost. Kako se viskozitet i elastičnost mogu direktno izmeriti i utvrditi, one predstavljaju najvažnija svojstva za opisivanje testa i njegovog ponašanja. Elastičnost u pekarskoj industriji predstavlja senzornu percepciju koja se registruje kada se testo brzo razvuče i pusti. Prema novijim podacima, elastičnost testa se koristi i kao sinonim za snagu testa (*Shewry i sar., 2000; Anjum i sar., 2007*). Elastičnost je dobra kada se testo brzo vrati u svoj prvobitan oblik (*Kieffer, 2006*). U testu od pšeničnog brašna, visokomolekularne subjedinice glutenina su glavne komponente koje utiču na elastičnost glutena i na kvalitet mešenja hleba, zbog njihovog značaja u formiranju polimera glutenina (*Shewry i sar., 1992*), dok niskomolekularne subjedinice glutenina utiču na rastegljivost testa. Skrob kao najzastupljenija komponenta pšeničnog zrna, a uz njega i neskrobni polisaharidi, imaju mnogo uticaja na viskozna svojstva (*Freitas i sar., 2003*). Maksimalni viskozitet predstavlja sposobnost skrobnih granula da nabubre slobodno pre njihovog pucanja, pa stoga, skrob sa visokim stepenom bubrenja ima i visok viskozitet (*Rojas i sar., 1999*). Međutim pored skroba, kao dominantne komponente pšeničnog zrna i brašna, proteini takođe imaju uticaja na viskozitet. Tako glijadini poboljšavaju viskozna svojstva i rastegljivost u pšeničnom testu jer igraju ulogu “plastifikatora” (*Wieser, 2007*). Hidratisani

glijadini formiraju slabo ali visoko viskozno testo koje pokazuje sposobnost umrežavanja na temperaturama od 75-115°C i koje se ne ponaša kao jednostavna viskoelastična tečnost (Martling i sar., 2004). Na Slici 2.10. dat je prikaz viskoelastičnih svojstava rehidratiranih proteina pšenice.



Slika 2.10. Viskoelastična svojstva rehidratiranog glutena, glijadina i glutenina (Weipert, 2006)

Reološka merenja se koriste za praćenje ponašanja testa u toku celog proizvodnog procesa, tj. za karakterizaciju mehaničkih svojstava testa, molekulske strukture i sastava (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003). Ona su od velikog značaja u proizvodnji različitih prehrambenih proizvoda, jer utiču na proces obrade, uslove prerade i kvalitet proizvoda.

Postoji veliki broj uređaja i testova za određivanje reoloških svojstava testa koji se mogu podeliti u dve grupe: empirijski (deskriptivni, imitativni, konvencionalni) i fundamentalni (osnovni) (Weipert, 1990). Empirijski testovi su jednostavni i često se koriste u proizvodnim pogonima, pružajući podatke koji su korisni za procenu performansi tokom obrade i za kontrolu kvaliteta. Oni daju veliki broj informacija o kvalitetu i performansama proizvoda od žitarica, kao što su konzistencija, tvrdoća, tekstura, viskoznost, itd. (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003). Za ispitivanje reoloških svojstava pšeničnog testa tokom mešenja koriste se farinograf i miksograf, u toku oblikovanja testa ekstenzograf, alveograf (Pena i sar., 1990), a u poslednje vreme upotrebljava se i Stable Micro System Kiffer metoda za određivanje ekstenzionih svojstava pšeničnog testa i glutena (Pirozi i sar., 2008). Za ponašanje testa u toku fermentacije koristi se reofermentometar (Ktenioudaki i sar., 2011), a za praćenje ponašanja testa u toku mešenja i zagrevanja koristi se Mixolab (Gil-Humanes i sar., 2012). Iako nezamenljivi u

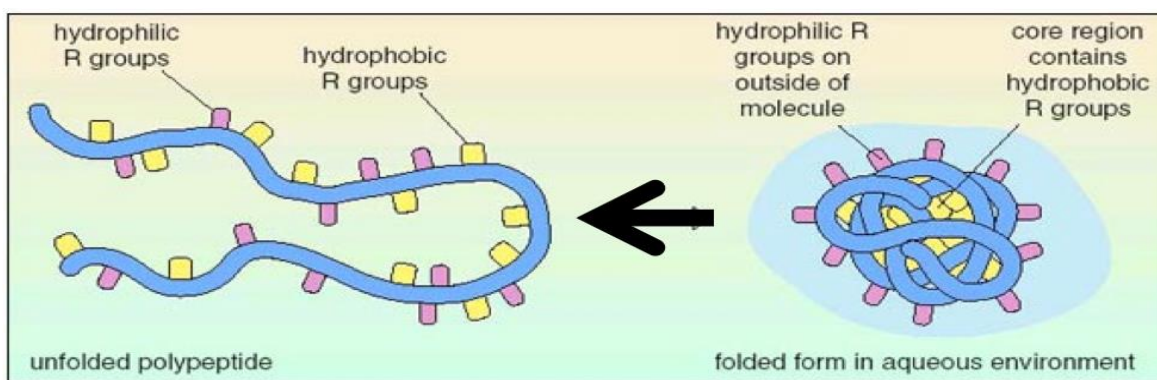
laboratorijama za kontrolu kvaliteta i industriji, uređaji za empirijska reološka merenja imaju dosta nedostataka, kao što su: interpretacija rezultata u relativnim jedinicama koje nisu u SI sistemu, što utiče na nemogućnost definisanja fundamentalnih reoloških parametara kao što su napon, deformacija,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

Pojam pecivost predstavlja sveukupno ponašanje brašna tokom dobijanja hleba i drugih pekarskih proizvoda. Ona podrazumeva dobru sposobnost vezivanja vode, dobru moć razvijanja i zadržavanja gasova i dobru stabilnost testa pri fermentaciji sa malim stepenom omekšanja pri mešenju i u toku odležavanja. Brašna koja vezuju veću količinu vode u toku zamesa, a vezanu vodu u toku prerade ne otpuštaju i ne čine testa lepljivim daju veće prinose testa, a samim tim i veći prinos hleba i dobar prinos zapremine. Ova sposobnost vezivanja vode prevashodno zavisi od količine glutena. Međutim na moć vezivanja vode utiču i karakteristike glutena, enzimska aktivnost brašna, sadržaj vlage u brašnu i granulacioni sastav brašna, kao i stepen oštećenja skroba. Količina i intezitet razvoja gasova zavisi od nekoliko faktora od kojih su najbitniji prisustvo slobodnih šećera i dekstrina u brašnu, koncentracija enzima, količina prisutnog kvasca i njegove fermentacione sposobnosti, broj premesivanja u toku fermentacije i stanje skrobnih granula. Svojstva brašna koja daju manju ili veću osetljivost testa pri preradi su: količina i kvalitet glutena i njihova podložnost razgradnji, prisustvo enzima koji razgrađuju skrob i gluten i karakteristike skroba u brašnu (*Pojić i sar., 2014*). Tehnološki proces proizvodnje hleba je složen. Sastoji se iz niza međusobno povezanih tehnoloških operacija. To su: priprema glavnih i pomoćnih sirovina, mešenje testa, deljenje testa na testene komade, oblikovanje, intermedijarna fermentacija (odmaranje testa), završno oblikovanje, završna fermentacija, pečenje, hladenje, pakovanje i skladištenje. Pečenje je poslednji, ali najvažniji korak u tehnološkom procesu proizvodnje hleba. Niz fizičkih, hemijskih i bioloških promena kao što su isparavanje vode, formiranje porozne strukture, ekspanzija volumena, denaturacija proteina, želatinizacija skroba, formiranje kore i drugo, se dešavaju tokom pečenja hleba (*Mondal i Datta, 2008*). Za potrošača, ključni atributi hleba su aroma i tekstura (*Heinio, 2006*). Najvažnija aromatična jedinjenja se formiraju tokom pečenja, u procesu Majarove

(Maillard) reakcije i karamelizacije. Enzimske i reakcije tokom fermentacije utiču na aromu sredine hleba, dok toplotne reakcije utiču na aromu kore hleba (*Kirchhoff i Schieberle, 2001*). Pored arome, svežina, boja, tekstura i žvkljivost imaju velikog uticaja na ukupnu percepciju hleba. Međutim, u poslednje vreme sve je veći broj potrošača koji pored senzornih karakteristika hleba pridaje veliku važnost i njegovom zdravstvenom efektu, pa se u proizvodnji specijalnih vrsta hlebova pored osnovnih sirovina dodaju različiti dodaci u cilju promena hranljive vrednosti hleba i poboljšanja zdravlja ljudi.

2.3.1. Uticaj strukturnih veza glutena na formiranje testa

Tokom mešanja i gnječenja smese pšeničnog brašna i vode, dešava se kompleks fizičkih, hemijskih i biohemijskih transformacija, i menja se polimerna struktura glutena. Primenom smicanja i zatezne snage, proteini glutena apsorbuju vodu i delimično se odvijaju. Kovalentne i nekovalentne veze bivaju raskinute, dolazi do pregrupisanja, ravnanja molekula i nakon toga se formiraju nove veze i stvara se novi polimerni protein, ali u preuređenoj formi (*Letang i sar., 1999; Kuktaitė i sar., 2005*). Šematski prikaz odvijanja molekula proteina dat je na Slici 2.11.



Slika 2.11. Šematski prikaz odvijanja proteinskih molekula

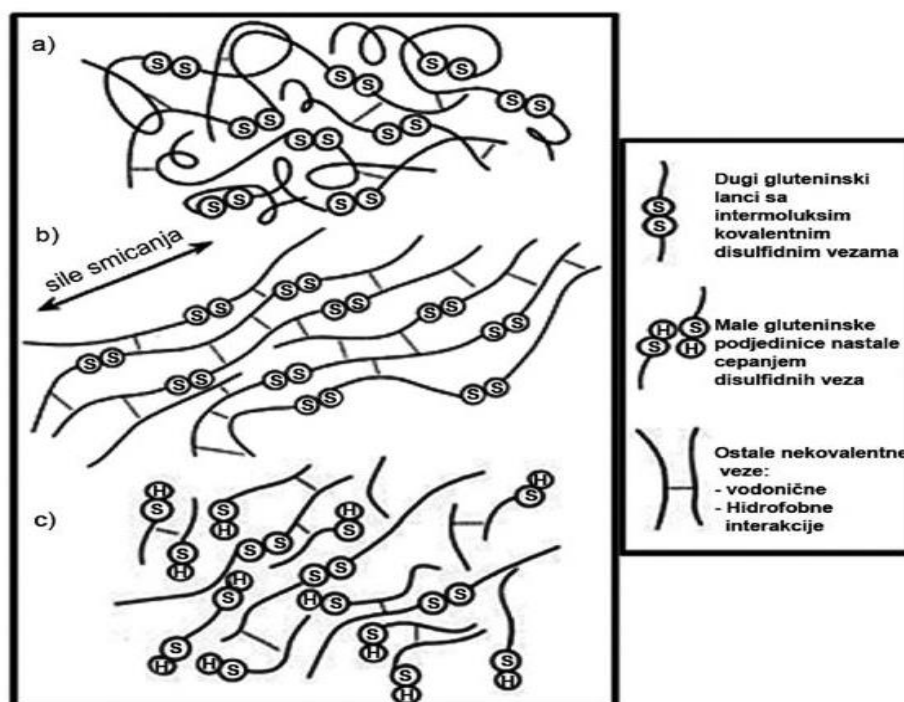
Delimično odvijanje proteinskih molekula olakšava hidrofobne interakcije i sulfhidril-disulfid reakcije izmene, koje rezultiraju formiranjem vlaknastih polimera. Ovi linearni polimeri stupaju u međusobni kontakt, preko vodoničnih veza, hidrofobnih

interakcija i disulfidnog umrežavanja, i formiraju film koji je sposoban da zadržava gas. Kako se mešenje nastavlja, lanci glutenina teže da se orijentišu u pravcu sila smicanja i istezanja. U toj fazi, mreža glutena je razvijena i umrežena intermolekulskim kovalentnim disulfidnim vezama. Zbog ovih transformacija u glutenu, interakcije između umreženih polimera su jake i raste otpor testa na deformaciju, sve dok se ne dostigne maksimalni otpor. Na vrednostima optimalnog zamesa, testo je potpuno hidratirano sa maksimalnom elastičnošću, a proteinski polimer je najveći i najkompleksnijeg oblika (*Lee i sar., 2001; Kuktaitė i sar., 2004*). U ovim slučajevima voda ima veoma važnu ulogu i značajno utiče na viskoelastična svojstva testa (*Masi i sar., 1998*). Visok sadržaj glutamina i hidroksil aminokiselina (~10%) u glutenu je odgovoran za njegovo svojstvo vezivanja vode. Pored toga, oštećenja skrobnih granula tokom mlevenja i prisustva neskrobnih ugljenih hidrata utiče na moć upijanja vode (*Finney i sar., 1987*). Poželjno je da brašno koje se koristi za pravljenje hleba ima visoku moć upijanja vode za formiranje standardne konzistencije, a samim tim će i randman testa i hleba biti visok. Kada se testo mesi duže, više od njegovog optimuma razvoja, dolazi do raskidanja disulfidnih veza, pucanja u strukturi mreže i glutenini postaju depolimerizovani. Vreme koje je potrebno da se dostigne maksimalna snaga tokom mešenja testa se koristi kao mera kvaliteta pšenice za pravljenje hleba - duže vreme ukazuje na bolji kvalitet. Step formiranja i razgradnje polimerne strukture proteina, kao i veličina i kompleksnost u trenutku optimalnog zamesa je u vezi sa kompozicijom proteina zrna i veličinom i složenosti proteina u zrnu/brašnu (*Kuktaitė i sar., 2004; 2005; Hussain i sar., 2012; 2013*).

Tokom formiranja testa, cisteinski i cistinski ostatci koji čine 2-3% ukupnih aminokiselinskih ostataka glutena, podležu sulfhidril-disulfidnim reakcijama razmene, koje rezultiraju ekstenzivnom polimerizacijom proteina glutena. Razvoj viskoelastičnog testa u velikoj meri zavisi od inteziteta sulfhidril-disulfid reakcija razmene. Ovo dokazuje činjenica da dodatkom cisteina, kao redukcionog sredstva u testo, u velikoj meri opada viskoelastičnost. Sa druge strane, dodavanjem oksidacionih sredstava se povećava elastičnost testa. Ovo ukazuje da pšenične sorte koje su bogate -SH i -S-S grupama mogu posedovati superiorniji kvalitet za mešenje hleba, ali ova povezanost je nepouzdana, jer je uloga sulfhidril-disulfid reakcija razmene u razvoju viskoelastičnih testa malo razjašnjena.

Razlike u kvalitetu mešenja hleba od različitih sorti pšenice je u vezi sa razlikama u strukturi samog glutena. Šematski prikaz razvoja glutena dat je na Slici 2.12.

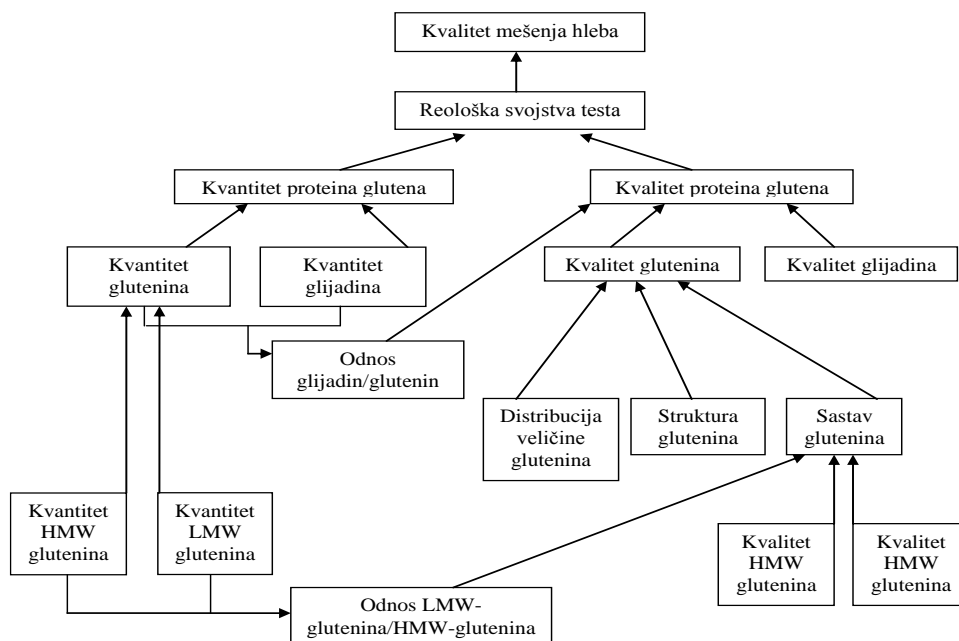
Pecivost i sposobnost zadržavanja gasa u fermentisanom testu je uslovljen proteinima glutena. Mnoga istraživanja su pokazala da strukturna osnova glutenskog makropolimera u testu prevashodno zavisi od gluteninskih subjedinica, međutim, nedavna istraživanja su jasno pokazala da i veliki deo glijadina učestvuje i da su deo polimera glutena na optimumu mešanja. α -, β - i γ -glijadini mogu biti inkorporirani u polimer glutena sa intermolekulskim disulfidnim vezama, dok sumporom siromašni ω -glijadini moraju biti ili zarobljeni u polimeru ili povezani vodoničnim ili drugim nekovalentnim vezama (Kuktaite, 2004).



Slika 2.12. Molekulska interpretacija razvoja glutena: a) početak mešenja, b) optimalan zames, c) prekomerno mešenje (Letang i sar., 1999).

Dok gluteninska frakcija doprinosi jačini i elastičnosti testa (Weipert, 2006) formiranjem intra- i interlančanih disulfidnih veza, glijadinska monomerna frakcija koja obrazuje matriks unutar polimerne mreže glutenina (Abang Zaidel i sar., 2010) i formira samo interlančane disulfidne veze, ima ulogu plastifikatora, tj. doprinosi viskoznom

ponašanju i rastegljivosti glutena (*Kuktaite, 2004*). Dakle, optimalan odnos gliadina i glutenina je neophodan za formiranje viskoelastičnog testa. Odnos gli/glu je takođe u pozitivnoj vezi sa čvrstoćom hleba i u negativnoj sa specifičnom zapreminom, ukazujući da je balans između glijadina i glutenina važan za procenu pogodnosti pšenične sorte za pravljenje hleba (*Sheweta i sar., 2013*).



Slika 2.13. Faktori koji utiču na reologiju i pecivost *Veraverbeke i Delcour (2002)*

Kvantitet, kompozicija (kvalitet), tip i viskoelastična svojstva glutenskih proteina pšenice su veoma bitna za mešenje hleba (*Finney i Barmore, 1948; Shewry i Halford, 2002*). Proteini glutena koji određuju pecivost su uslovljeni velikim brojem genetskih i spoljnih faktora (*MacDonald, 1992; MacRitchie, 1999; Johansson i sar., 2001*).

2.3.2. Uticaj albumina i globulina (enzima) na tehnološka svojstva brašna

Neglutenski proteini, albumini i globulini, imaju značajan uticaj na obradu i reološka svojstva pšeničnog brašna (*Song i Zheng, 2007; Hill i sar., 2008*) uglavnom kao funkcionalni proteini, pa se tako loš kvalitet pšeničnog brašna lako može poboljšati dodatkom različitih enzima, kao što su amilaze i/ili ksilanaze. α -amilaze smanjuju viskozitet testa, poboljšavaju obradu testa, utiču na strukturu sredine hleba i dobijanje mekše i veće vekne hleba (*Linko i sar., 1997*). Enzimi kao što su izoenzimi lipoksigenaze smanjuju vreme mešanja testa, mogu davati ukus „nalik orahu“ u nekim sistemima (*Linko i sar., 1997*) i povećavaju toleranciju testa na mešanje i vreme odmaranja testa, što uslovljava poboljšanje volumena vekne hleba (*Permyakova i Trufanov, 2011*). Lipoksigenaza takođe katališe oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina tokom mešanja testa, a formirani hidroperoksidi mogu oksidovati sulfhidrilne grupe u glutenskim proteinima i samim tim uticati povoljno na formiranje mreže glutena u testu. Aktivnost enzima pentozanaza poboljšava elastičnost glutena (*Soupe, 1995*) i finalni kvalitet hleba (*Martínez-Anaya i Jiménez, 1997*) stvarajući promene u reološkim karakteristikama i/ili distribuciji vode (*Cleemput i sar., 1995*). Pozitivan efekat peroksidaza na pećivost se pripisuje unakrsnom povezivanju arabinoksilana sa ferulinskom kiselinom u velike aggregate koji imaju bolji kapacitet vezivanja vode i koji uzrokuju redistribuciju vode u testu (*Hilhorst i sar., 2002*). Peroksidaze i lipoksigenaze mogu biti odgovorne za oksidativnu degradaciju karotenoida tokom pripreme testa i mešanja hleba, posebno prilikom korišćenja celog zrna pšenice, kao i za pad polaznog sadržaja antioksidanasa (*Delcros i sar., 1998; Trono i sar., 1999*). *Primo-Martin i sar. (2003)* su istraživali promene u količini, kvalitetu i viskoelastičnim svojstvima makropolimera glutenina dodavanjem enzima - pentozanaza, glukzooksidaza, lakaza i njihovih kombinacija. Oni su utvrdili da dodatkom glukzooksidaza testo postaje slabo rastegljivo sa velikim otporom, dok dodatak pentozanaze/glukoza-oksidaze rezultira poboljšanom rastegljivošću testa.

Imajući u vidu da pšenični albumini i globulini imaju sporednu ulogu u kvalitetu brašna, nedovoljno su ispitivani. Prema istraživanjima *Tomić i sar. (2015)* albuminska frakcija sa molekulskom masom od 15-30 kDa utiče na pojedine reološke karakteristike

testa, posebno na apsorpciju vode, jednoaksijalni i biaksijalni otpor na rastezanje, kao i na proteolitičku aktivnost.

2.3.3. Uticaj pojedinih glijadina na tehnološka svojstva brašna

Glijadini se mogu udruživati međusobno ili sa gluteninima posredstvom hidrofobnih inetrakcija i vodoničnih veza (*Veraverbeke i Delcour, 2002*), pa je vrlo teško tumačiti zasebne efekte glijadina na kvaliteta testa (*Payne i sar., 1987*). Hidratisani glijadini imaju manju elastičnost i manje su kohezivni od glutenina. Dodavanjem glijadinskih frakcija pšeničnom brašnu bitno se smanjuje maksimalan otpor, a povećava rastegljivost testa (*Schropp i Wieser, 1996*), što je i očekivano imajući u vidu njihovu viskoznu prirodu.

Iako glijadini generalno utiču na volumen hleba (*Hoseney i sar., 1969; Weegels i sar., 1994*), uloga pojedinačnih glijadina još uvek nije dobro shvaćena (*Fido i sar., 1997*). Međutim, *Uthayakumaran i sar. (2001)* su ustanovili da γ -glijadini smanjuju vreme mešanja testa i maksimalni otpor pri rastezanju, a ω -glijadini najviše utiču na smanjenje volumena vekne. Uticaj glijadina na volumen vekne je u korelaciji sa molekulskom masom, dok su uticaj na vreme mešanja, maksimalni otpor na rastezanje i rastegljivost u korelaciji sa hidrofobnošću. Prečišćavanje i dodavanje pojedinih grupa glijadina u brašno, uzrokuje kontradiktorne pokazatelje njihovog uticaja na kvalitet testa (*Branlard i Dardevet, 1985; MacRitchie, 1987; Khatkar i sar., 2002*). Pokazuje i negativne i pozitivne i/ili nepostojanje korelacije između udela i tipa glijadina i funkcionalnosti pšeničnog brašna u funkcionalnim testovima (*van Lonkhuijsen i sar., 1992; Nieto-Taladriz i sar., 1994; Khatkar i sar., 2002*). Isto tako, efekti na tehnološka svojstva izolovanih glijadina i procedura inkorporacije koji se koriste u ovim testovima se moraju uzeti u obzir, jer oni mogu izmeniti prirodnu konformacionu strukturu proteina (*Weegels i sar., 1994*). *Gil-Humanes i sar. (2012)* su utvrdili da je sadržaj γ -glijadina u pozitivnoj korelaciji sa razvojem testa što povećava snagu testa, ali i da γ -glijadini nisu najznačajniji pokazatelji kvaliteta testa jer se njihov uticaj menja sa sastavom ostalih glijadina.

Van den Broeck i sar. (2009) su ocenili tehnološka svojstva hlebne pšenice brisanjem redova i ustanovili su da je uklanjanje lokusa α -glijadina na kratkom kraku hromozoma 6D rezultiralo značajnim smanjenjem tehnoloških svojstava, a brisanje na kratkom kraku hromozoma 1D (ω -glijadin, γ -glijadin i LMW lokusa) zadržava tehnološka svojstva.

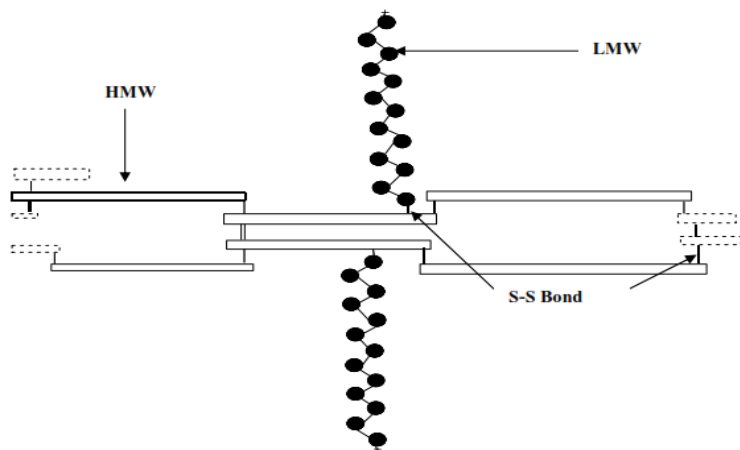
2.3.4. Uticaj podjedinica glutenina na tehnološka svojstva brašna

Glutenini formiraju neprekidnu i viskoelastičnu mrežu tokom mešanja testa, a performanse pečenja umnogome zavise od raspodele molekulskih masa proteina glutenina (*MacRitchie, 1992; Wieser, 2007*).

Glutenini visokih molekulskih masa čine testo elastičnim i omogućavaju mu da zadrži mehuriće gasa koje stvara kvasac i da raste. Ovo je veoma važno za kvalitet finalnog proizvoda (*Cornish i sar., 2006*), s obzirom da svojstvo zadržavanja gasa određuje zapreminu vekne i strukturu pora dobijenog hleba (*Gan i sar., 1995*). Mnogobrojne studije su pokazale pozitivnu korelaciju između sadržaja HMW glutenina i tehnološkog postupka proizvodnje hleba. Međutim, da bi se predvideo kvalitet pšenice nije dovoljno samo utvrditi prisustvo i/ili odsustvo određenih HMW gluteninskih subjedinica, već je potrebno odrediti i apsolutne količine i relativne udele HMW glutenina (*MacRitchie i sar., 1991*). *Wieser i Kieffer (2001)* su utvrdili da je uticaj x-tipa HMW na pecivost znatno veći od y-tipa HMW. LMW glutenini koji formiraju velike agregate utiču na jačinu testa (*Melas i sar., 1994*), ali je jačina i otpor koji obezbeđuju LMW glutenini upola manja od one koju obezbeđuju HMW (*Wieser i Kieffer, 2001*). Suprotno tome, *Andrews i Skerritt (1996)* su pronašli vezu između LMW glutenina i rastegljivosti testa i slabu korelaciju između ovih proteina sa drugim svojstvima testa.

Dostupni podaci takođe ukazuju da je specifičan način disulfidnog umrežavanja između LMW i HMW glutenina u glutenu daleko važniji za pecivost od količine ovog proteina (*MacRitchie, 1992*). Na Slici 2.14. šematski su prikazane međulančane disulfidne strukture LMW i HMW glutenina. Mikroskopska istraživanja gluteninske strukture dokazala su da HMW-GS formiraju linearne lance i mrežu, LMW-GS formiraju grupe i

agregate, a gluten nastaje kada LMW-GS formiraju grane koje se vezuju na linearne HMW-GS lance (*Lindsay i Skerit, 1999*).



Slika 2.14. Dupla jedinica – za međulančane disulfidne strukture LMW (•) i HMW (□) subjedinica glutenina (*Wieser, 2007*)

U međuprostoru koji formiraju „končaste“ strukture gluteninskih podjedinica, uniformno su rasporedene glijadinske podjedinice i prostiru se kroz testo, što je u skladu sa njihovom ulogom da popunjavaju međuprostor. *Ewart (1990)* je pretpostavio da se disulfidne veze između HMW-GS i LMW-GS lakše raskidaju nego disulfidne veze pojedinačnih gluteninskih podjedinica.

2.4. Kukuruzno brašno kao funkcionalni dodatak hlebnih smeša

Kukuruzno zrno se pretežno sastoji od skroba (70%), proteina (10%), lipida (5%), dijetalnih vlakana (10%) i mineralnih materija (1.5%) (Loy i Wright, 2003). Najveći udeo proteina kukuruznog zrna, oko 75%, se nalazi u endospermu, a najznačajnija frakcija su prolamini-zeini. Oni čine oko 70% ukupnih proteina u endospermu i na osnovu strukture se mogu podeliti na četiri podgrupe α -, β -, γ - i δ -zeini (Holding i sar., 2008). Zeini su siromašni esencijalnim aminokiselinama lizinom i triptofanom što smanjuje njihovu hranljivu vrednost, ali su bogati metioninom i cisteinom (Adebayo i Emmanuel, 2001). Nerastvorljivost u vodi ograničava njihovu primenu u prehrambenim proizvodima za ljudsku upotrebu (Shukla i Cheryan, 2001). Mešanjem sa vodom, kukuruzno brašno, za razliku od pšeničnog, ne formira viskoelastično testo. Proteini kukuruza, na prvom mestu zeini, teško se hidratišu i hidrofobniji su od glutena (Taylor i Belton, 2002). Ova svojstva su najverovatnije u vezi sa njihovom α -heliks strukturom (Belton, 1999). Hidratacija brašna u ranim fazama formiranja testa uključuje transformisanje proteina iz staklastog u viskoelastično stanje (Levine i Slade, 1989), a pored toga dodatni problem je što su kukuruzni zeini zarobljeni u proteinskim telima (Larkins i sar., 1984) što ih čini nedostupnim za učestvovanje u formiranju testa (Shewry, 1999).

Iako kukuruzno brašno može da umanjuje ispoljavanje funkcionalnosti pšeničnih proteina u pekarskim proizvodima i promenu senzornih karakteristika ovih proizvoda, dodavanjem integralnog brašna kukuruza plave i bordo boje zrna bogatog vitaminima, mineralnim materijama, prehrambenim vlaknima, a posebno fenolnim jedinjenjima visokog antioksidativnog kapaciteta u belo pšenično brašno, može se poboljšati nutritivna vrednost pekarskih proizvoda.

2.4.1. Fitohemikalije kukuruza - Fenolna jedinjenja

Zrno kukuruza je bogat izvor dijetalnih vlakana i sadrži visok sadržaj fitohemikalija sa biološkom aktivnošću, kao što su karotenoidi i fenolna jedinjenja (Li i sar. 2007, 2009). Fenolne kiseline i flavonoidi predstavljaju najzastupljenije fenolne komponente u celom zrnu kukuruza i nalaze se kao rastvorljive slobodne, konjugovane i nerastvorljive vezane

forme. Prema istraživanima *Žilić i sar. (2012c)* sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja se u zrnu različitih genotipova kukuruza bele, žute, narandžaste, crvene, bordo i plave boje zrna kretao od 4494 do 10528 mg GAE/kg. Većina fenolnih antioksidanasa kukuruznog zrna vezana je za vlakna te je ovaj kompleks nepodložan varenju sve do debelog creva gde dolazi do povećanja njihove rastvorljivosti i antioksidativne aktivnosti. Kako pokazuju epidemiološka istraživanja, ovo bi mogao biti razlog uticaja celog zrna žita, a time i kukuruza u sprečavanju kancera debelog creva (*Perez-Jimenez i Saura-Calixto, 2005*). Purpurni, crveni i plavi kukuruz bogat je antocijanima, u vodi rastvorljivim glikozidima koji pripadaju klasi flavonoida. Antocijani su odgovorni za boju, izuzetno su visokog antioksidativnog kapaciteta i zastupljeni su u aleuronskom i sloju perikarpa. Derivati cijanidina čine 70% od ukupnih antocijana kukuruza. Pored cijanidin 3-glukozida (Cy-3-Glu), kao dominantne forme u zrnu kukuruza, zastupljeni su pelargonidin 3-glukozid (Pg-3-Glu), cijanidin 3,5-diglukozid (Cy-3,5-diGlu) i pelargonin 3,5-diglukozid (Pg-3,5-diGlu). *Žilić i sar. (2012c)* detektovali su ukupno 13 antocijana u uzorcima ZP kukuruza različite boje zrna. Antioksidativni kapacitet antocijana upravo zavisi od njihove aglikonske forme, kao i stepena glikolize i acetilacije. Mnoga istraživanja obezbeđuju nutritivnu i biohemijsku osnovu za korišćenje antocijana kao funkcionalnih faktora hrane koji mogu doprineti prevenciji dijabetesa i gojaznosti (*Tsuda i sar., 2003*). Zdravstvena korist ovih biljnih metabolita pored antioksidativne, antiradikalske i antikancerogene aktivnosti pripisuju se i drugim mehanizmima kao što su antimutagene, estrogene, kao i inhibiciji enzima i indukciji detoksikacije enzima (*Abdel-Aal i Hucl, 1999*).

3. Materijal i metod rada

3.1. Materijal

U ovim istraživanjima korišćeno je pet hlebnih i pet durum genotipova pšenice, kao i dva genotipa kukuruza kokičara plave i bordo boje zrna koji su selekcionisani u Institutu za kukuruz. Izbor ZP genotipova pšenice izvršen je na osnovu predloga selekcionera i rezultata prethodnih analiza osnovnog hemijskog sastava i karakteristika proteina zrna pšenice. Izbor genotipova kukuruza izvršen je na osnovu prethodnih analiza sadržaja bioaktivnih materija. Nazivi genotipova, njihovo poreklo i pedigree prikazani su u tabeli 5.

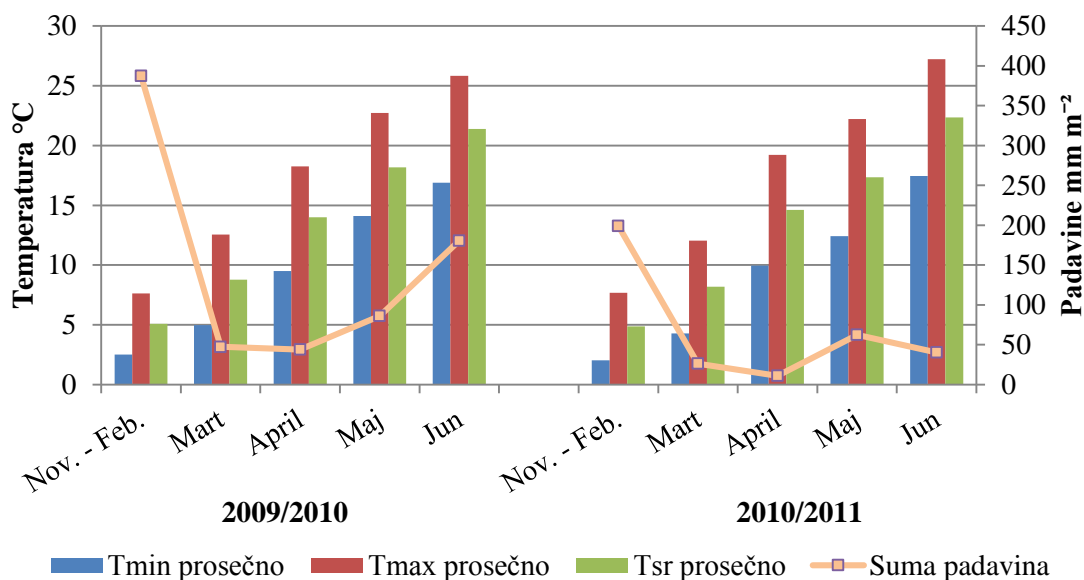
Tabela 3.1. Genotipovi hlebne i durum pšenice i kukuruza korišćeni u istraživanju

Genotip	Poreklo	Tip	Pedigre
<i>Hlebna pšenica</i>			
ZP 87/I	MRIZP	linija	ZA-99 (Serbia)/POBEDA (Serbia)
ZP 7/I	MRIZP	linija	NS6238 (Serbia)//ZAJEČARKA 75 (Serbia)
ZP 3/I	MRIZP	linija	BRIGAND (UK)//POBEDA (Serbia)
15HRWYT no.226	CIMMYT	linija	TNMU/CHAPIO
Zemunska rosa	MRIZP	sorta	SKOPLJANKA (Macedonia)/PROTEINKA (Serbia)
<i>Durum pšenica</i>			
ZP 120/I	MRIZP	linija	WINDUR (Germany)//KAVADARKA (Macedonia)
37EDUYT no.7879	CIMMYT	linija	STOT//ALTAR84/ALD*2/3/AUK/GUIL//GREEN
37EDUYT no.7817	CIMMYT	linija	SNITAN/3/STOT//ALTAR84/ALD
ZP 34/I	MRIZP	linija	SOD 55 (Slovakia)//KORIFLA (ICARDA)
DSP-MD-01 no.66	ICARDA	linija	848.10.6/Otb2//Gdr1
<i>Kukuruz kokičar</i>			
Kolekcija 792- bordo	MRIZP	sorta	Sakupljeno u okolini Kragujevca
Kolekcija 792- plavi	MRIZP	sorta	Sakupljeno u okolini Kragujevca

MRIZP – Institut za kukuruz “Zemun Polje”, Srbija; CIMMYT-International Maize and Wheat Improvement Centre, Mexico; ICARDA-International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas, Syria; 15HRWYT-15th High Rainfall Wheat Yield Trial; 37EDUYT-37th Elite Durum Unreplicated Yield Trial; DSP-MD-01-Durum Segregating Populations – Mediterranean Dryland (season 2000-2001); Kolekcija 792- prethodno je izvršena selekcija na bordo i tamno plavu boju zrna

Kako bi se utvrdio uticaj spoljnih faktora na karakteristike proteina pšenice i tehnološki kvalitet brašna, korišćeno je zrno genotipova pšenice gajene tokom dve godine (žetva 2010 i 2011) na oglednom polju Instituta za kukuruz.

Vrednosti klimatskih parametara su merene u blizini lokaliteta gde su izvođeni ogledi (meteorološka stanica Surčin) i dobijene su od Republičkog Hidrometeorološkog zavoda Srbije (Grafik 3.1.).



Grafik 3.1. Meteorološki podaci za dve vegetacione sezone 2009/2010. i 2010/2011. godine, meteorološka stanica Surčin.

Na osnovu dominantnih mikroklimatskih odlika ispitivanih godina u istraživanju će se koristiti skraćeni nazivi koji ukazuju na razlike koje postoje između ispitivanih godina:

Sezona 2009/2010	Kišna godina
Sezona 2010/2011	Sušna godina

3.2. Metode rada

3.2.1. Procesne metode

3.2.1.1. Laboratorijsko mlevenje pšenice

Nakon žetve, uzorak svake sorte hlebne i durum pšenice očišćen od stranih primesa i čuvan je na -18°C do korišćenja. Neposredno pred mlevenje, uzorci su temperirani stajanjem 12 h na sobnoj temperaturi, a potom je vlaga uzoraka podešena do 15% kvašenjem zrna i odležavanjem 24 h. Mlevenje zrna pšenice se vršilo na laboratorijskom mlinu Bühler MLU-202 (Bühler, Uzwil, Switzerland) koji daje tri brašna sa prolazišta krupljenja i tri brašna sa prolazišta mlevenja. Veličine otvora na presvlakama sita iznose: 175-150 μm na situ koje prihvata brašno prvog krupača, 150-130 μm na situ koje prihvata brašno drugog i trećeg krupača i prvog i drugog meljača, 130-120 μm na situ koje prihvata brašno trećeg meljača (Kaluderski i Filipović, 1998). Ispitivanja su izvedena sa brašnom koje je dobijeno spajanjem brašna 1 i 2 prolazišta krupljenja i 1 i 2 prolazišta mlevenja, nakon čega je izmerena masa ove mešavine.

Celo zrno pšenice mleveno je na laboratorijskom mlinu Perten 120 sa promerom sita 0,5 mm i korišćeno je za analizu osnovnog hemijskog sastava kao kontrola.

Kukuruzno brašno koje je dodavano u hlebne smeše dobijeno je mlevenjem celog zrna na laboratorijskom mlinu Perten 120 sa promerom sita 0,5mm.

3.2.1.2. Priprema hleba

3.2.1.2.1. Recepture

U cilju ispitivanja uticaja proteinskih frakcija i njihovih subjedinica na tehnološke karakteristike pšeničnog brašna izvršeno je laboratorijsko probno pečenje hleba pripremljenog od brašna sledećih genotipova hlebne i durum pšenice:

Tabela 3.2. Genotipovi hlebne i durum pšenice korišćeni za laboratorijsko probno pečenje

Hlebna pšenica	Godina	Durum pšenica	Godina
ZP 87/I	2010	Cimmyt 7817	2010
ZP Zemunska rosa	2010	DSP/01	2010
ZP 87/I	2011	Cimmyt 7817	2011
ZP Zemunska rosa	2011	120/I	2011

U cilju ispitivanja uticaja brašna kukuruza kokičara bordo i plave boje zrna na ispoljavanje funkcionalnosti pšeničnih proteina i obogaćenja finalnog proizvoda fenolnim jedinjenjima visokog antioksidativnog kapaciteta, izvršeno je laboratorijsko probno pečenje kukuruznog hleba prema recepturama smeša prikazanim u Tabeli 7. Belo pšenično brašno koje je korišćeno kao kontrola i koje je mešano sa kukuruznim brašnom je dobijeno mlevenjem genotipa hlebne pšenice ZP 87/I roda 2013.

Tabela 3.3. Recepture hlebnih smeša korišćenih za laboratorijsko probno pečenje

	Pšenično brašno (%)	Kukuruzno brašno plavog kokičara (%)	Kukuruzno brašno bordo kokičara (%)	Askorbinska kiselina (%)	Šećer (%)
Uzorak 1	100	-	-	-	-
Uzorak 2	100	-	-	0.025	5.0
Uzorak 3	70	30	-	-	-
Uzorak 4	70	30	-	0.025	5.0
Uzorak 5	70	-	30	-	-
Uzorak 6	70	-	30	0.025	5.0

3.2.1.2.2. Laboratorijsko probno pečenje

Za laboratorijsko probno pečenje upotrebljeno je testo pripremljeno u brzohodnoj mesilici Diosna (Dierks & Söhne Maschinenfabrik, Osnabrück, Germany). Masi od 300 g pšeničnog brašna ili mešavini pšeničnog i kukuruznog brašna, koja je prenetu u sud brzohodne mesilice, dodat je kvasac 2.5%, kuhinjska so 2.0% i biljna mast 1.0%, i u slučaju smeša sa kukuruzom askorbinska kiselina i šećer prema recepturi datoj u Tabeli 3.3., računato na masu brašna. Količina vode za zames (za konzistenciju testa od 400 FJ) izračunata je na osnovu farinografskih podataka, moći upijanja vode i stepena omekšanja, a tako dobijena vrednost umanjena je za 1,4% za sadržaj vode u kvascu:

Količina vode za zames = MUV (realna) + korekcija za konzistenciju - korekcija za kvasac

gde je: MUV (realna) - nekorigovana farinografska moć upijanja vode (%); korekcija za konzistenciju - % vode iz Tiborove tabele do 400 FJ; korekcija za kvasac - u našem slučaju 1.7% pošto se koristi 2.5% kvasca, jer u proseku kvasac sadrži 70% vode.

Podešavanje temperature vode za zames radi se prema sledećoj formuli:

$$T_{H_2O} = 2 * T_t - T_{br} + 5$$

gde je:

T_{H_2O} - temperatura vode za zames (°C); T_t - željena temperatura testa (°C); T_{br} - temperatura brašna (°C); 5 - korekcija zbog hlađenja pri mešenju

Testo je mešano 5 minuta, potom oblikovano rukom u loptu i prenešeno u plastičnu posudu. Fermentacija testa u masi odvijala se u termostatu na temperaturi od 30°C i trajala je 40 minuta. Nakon fermentacije u masi, testo je nožem podeljeno i na tehničkoj vagi je odmereno 4 x 115 g testa. Završna fermentacija trajala je 43 minuta i odvijala se u kalupima pri temperaturi od $30 \pm 1,0^\circ\text{C}$ i relativnoj vlazi od najmanje 75%. Dimenzije kalupa bile su: gornji obim - 9,5 x 7,5 cm; dno - 7,5 x 5,5 cm i visina 5,5 cm. Hleb je pečen 20 minuta na temperaturi od 230°C u Miwe condo, D-97450 pećnici (Arnstein, Germany). Posle pečenja hleb je hlađen i čuvan u prostoriji na temperaturi od 24°C i relativnoj vlazi od 34% u trajanju od 23 časa.

Kora i sredina hleba su ručno razdvojene i liofilizovane. Liofilizovani uzorci samleveni su do veličine čestica od 0,5 mm.

3.2.2. Hemijske metode

3.2.2.1. Analiza osnovnog hemijskog sastava zrna i brašna

3.2.2.1.1. Određivanje sadržaja pepela

Sadržaj pepela određen je standardnom metodom (AACC, 2000a) žarenjem uzoraka na 580°C i izražen je u %.

3.2.2.1.2. Određivanje sadržaja celuloze

Sadržaj celuloze određen je metodom po Weende-u (AACC, 2000b) korišćenjem sumporne kiseline i kalijum-hidroksida, na aparatu Fibertec 2010 Heat Extractor (Foss Tecator, Švedska). Sadržaj je izražen u % na s.m.

3.2.2.1.3. Određivanje sadržaja ukupnih proteina

Sadržaj ukupnog azota određen je standardnom metodom po Kjeldal-u (AACC, 2000c). Sadržaj ukupnih proteina dobijen je množenjem procentualnog sadržaja azota sa faktorom 5,7 i izražen je u % na s.m.

3.2.2.1.4. Određivanje sadržaja lipida

Sadržaj lipida određen je standardnom metodom po Soxhlet-u (AOAC, 1990) enstrakcijom na vodenom kupatilu tokom 48 h korišćenjem dietiletra kao rastvarača. Sadržaj ukupnih lipida izražen je u % na s.m.

3.2.2.1.5. Određivanje sadržaja skroba

Sadržaj skroba određen je metodom po Ewers-u (Ewers, 1908) kojom se meri ugao skretanja polarizovane svetlosti pomocu polarimetra. Merenje se vrši na talasnoj dužini živine lampe $\lambda_{\text{Hg}}=546,1$ nm i na temperaturi od 20°C. Sadržaj skroba izražen je u % na s.m.

3.2.2.2. Analiza sadržaja, sastava i strukture proteina brašna

3.2.2.2.1. Određivanje rastvorljivih proteinskih frakcija po Osborn-u

Ekstrakcija proteinskih frakcija belog brašna hlebne i durum pšenice izvršena je modifikovanom Osbornovom metodom (Lookhart i Bean, 1995).

- Ekstrakcija Albumina-Globulina

Na 0,5g uzoraka odmašćenog pšeničnog brašna dodato je 8 ml je 0.5 M NaCl i smeša je mućkana 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon centrifugiranja 5 minuta na 12000 obrt/min supernatant je dekantovan u normalni sud zapremine 25 ml. Ekstakcija je ponovljena tri puta. Normalni sud sa smešom sva tri supernatanta, dopunjen je do konačne zapremine sa 0.5 M NaCl. Zaostali pelet je ispran sa 10 ml dejonizovane vode, mućkanjem u trajanju od 30minuta. Nakon centrifugiranja pelet je korišćen za ekstrakciju ostalih proteinskih subjedinica.

- Ekstrakcija glijadina

Ekstrakcija je vršena sa 8 ml 70% rastvora etil alkohola u trajanju od 30 minuta. Nakon centrifugiranja 5 minuta na 12000 obrt/min, supernatant je dekantovan u normalni sud zapremine 25 ml, a posle treće ekstrakcije normalan sud je dopunjen do konačne zapremine sa 70% rastvorom etanola. Pelet ispran dejonizovanom vodom.

- Ekstrakcija rastvorljivih glutenina

Glutenini su ekstrahovani iz peleta glijadina tri puta, istim postupkom kao i glijadini, ali sa 8ml 50% rastvora 1-propanol sa 1% dithiothreitol (DTT). Dobijeni supernatanti (ekstrakti rastvorljivog glutenina) su prenešeni u normalan sud i dopunjeni do 25 ml sa 50% rastvorom 1-propanol + 1% dithiothreitol (DTT).

Sadržaj proteina u svakoj frakciji dobijen je metodom po Kjeldal-u nakon uparavanja 10 ml ekstrakta tokom 12 h u sušnici na 100°C. Sadržaj proteina svake frakcije izražen je kao procenat na s.m. i preko indeksa rastvorljivosti, odnosno kao udeo ekstrahovanih proteina u sadržaju ukupnih proteina.

Dobijeni ekstrakti svake proteinske frakcije korišćeni su takođe i za određivanje polipeptidnog sastava primenom elektroforeze.

- Nerastvorljivi glutenini

Sadržaj nerastvorljivih glutenina je izračunat kao razlika između sadržaja ukupnih proteina i sume albumina-globulina, glijadina i rastvorljivih glutenina.

3.2.2.2.2. SDS - Poliakrilamidna gel elektroforeza (SDS-PAGE) i denzitometrijska analiza

Polipeptidni sastav proteinskih ekstrakata određen je natrijum dodecil sulfat – poliakrilamid gel elektroforezom (SDS-PAGE) metodom po *Fling i Gregerson-u (1986)*, na 12,5% razdvajajućem gelu i 5% gelu za koncentrisanje postavljenim u vertikalnoj elektroforetskoj jedinici (LKB, Sweden). Pre elektroforeze, ekstrahovani proteini su rastvoreni u odnosu 1 : 2 (v/v) u puferu (0,055 M Tris-HCl, pH 6,8, 2% (w/v) natrijum dodecil sulfat (SDS), 20% (v/v) glicerol, 4,3% (v/v) β -merkaptioetanol, 0,0025% (w/v) bromofenol plavo), zagrevani na 90°C u trajanju od 5 minuta i ohlađeni na sobnoj temperaturi. 25 μ l rastvorene frakcije albumina-globulina i po 50 μ l glijadina i glutenina

naliveno je u "bazenčice" gela za razdvajanje. Gelovi su pušteni na 50 mA u trajanju od 5 sati. Fiksirani i obojeni su sa 0.23% (w/v) Coomassie Blue R-250 rastvorenom u 3.9% (w/v) trihlorsirćetnoj kiselini (TCA), 6% (v/v) sirćetnoj kiselini i 17% (v/v) metanolu, 45 minuta. Za obezbojavanje je korišćena 8% sirćetna kiselina i 18% (v/v) etanol. Molekulske mase polipeptida su određene korišćenjem standarda niske molekulske mase (Amersham Biosciences, Sweden): fosforilaza B (94,0 kDa), goveđi albumin (66,0 kDa), ovalbumin (45,0 kDa), karbonatna anhidraza (30,0 kDa), sojin tripsin inhibitor (20,1 kDa) i α -laktalbumin (14,4 kDa). Proteinske trake na obezbojenom gelu, odnosno koncentracije polipeptida su kvantifikovane denzitometrijski. Gelovi su skenirani PC-skenerom tipa Mustec 12000 SP (Mustac, Germany) i kompjuterski denzitometrirani primenom SigmaGel™ (Jandel Sci. Corporation, Germany) softvera koji je omogućavao automatsku integraciju. Sadržaj pojedinačnih polipeptida izražen je u odnosu na ukupnu površinu pikova detektovanih u uzorku, odnosno kao procentualni udeo sadržaja polipeptida u sadržaju ukupno izekstrahovanih proteina jednog uzorka dobijenih gel elektroforezom.

Koncentracije proteinskih podjedinica ili grupa određene proteinske frakcije (albumina+globulina, glijadina, rastvorljivih glutenina) izračunate su kao zbir koncentracija polipeptida definisanih molekulskih masa.

3.2.2.2.3. Određivanje sadržaja vlažnog glutena

Sadržaj vlažnog glutena se određuje ispiranjem testa napravljenog od pšeničnog brašna (10 g), sa 2% rastvorom NaCl, a zatim tekućom vodom, kako bi se uklonio škrob i ostale rastvorljive komponente u uzorku (AACC, 2000d). Nakon izvdavanja, masa glutena je izmerena. Sadržaj vlažnog glutena izražen je kao procenat izdvojenog proteina u odnosu na s.m.

Izdvojeni vlažan gluten vazdušno je sušen u ventilacionoj sušnici na sobnoj temperaturi (max 20°C) u trajanju od 10 h. Ovako osušen gluten samleven je na laboratorijskom mlinu Cyclone Sample Mill 3383N90 (UDY Corporation, Fort Collins, USA) sa promerom sita 0,5 mm i korišćen je za analize koncentracije sulfhidrilnih grupa, disulfidnih veza, sadržaja triptofana i antioksidativnog kapaciteta.

3.2.2.2.4. Određivanje sadržaja slobodnih i ukupnih sulfhidrilnih grupa (-SH) i disulfidnih veza (-S-S)

Za određivanje sadržaja slobodnih -SH grupa 15 mg uzorka brašna i glutena rastvoreno je u 1,0 ml reakcionog pufera napravljenog od 8 M uree, 10 mM 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoeva kiselina) (Elmanov reagens-DTNB), 3 mM etilen-diamin tetra sirćetne kiseline (EDTA), 1% natrijum dodecil sulfata (SDS) i 0,2 M Tris-HCl pH 8,0 (Puffer A). Uzorci su mučkani u mraku dva sata na temperaturi od 4°C, a zatim centrifugirani na 11000 obrt/min 5 minuta na temperaturi od 10°C. 70 µl alikvota je rastvoreno sa 0,93 ml 8 M uree, 1% SDS, 3 mM EDTA, i 0,2 M Tris-HCl, pH 8,0 (Puffer B). Ova smeša je centrifugirana na 10000 obrt/min i njegova apsorbanca je čitana na 412 nm naspram slepe probe koja se sastojala od 0,93 ml pufera A i 70 µl pufera B.

Za određivanje sadržaja ukupnih -SH grupa, uzorci brašna i glutena (15mg) su rastvoreni u 1,0 ml reakcionog pufera napravljenog od 8 M uree, 3 mM etilen-diamin tetra sirćetne kiseline (EDTA), 1% natrijum dodecil sulfata (SDS), 0,2 M Tris-HCl pH 8,0 i 10 mM dinatrijum 2-nitro-5-tio sulfobenzoat (NTSB²⁻) (Puffer A). NTSB²⁻ dobijen je od DTNB-a u prisustvu Na₂CO₃ i O₂ kao što su opisali *Thannhauser i sar. (1987)*. Uzorci su mučkani u mraku 1h i 30 minuta na temperaturi od 4°C i nakon toga centrifugirani na 11000 obrt/min tokom 5 min na temperaturi od 10°C. 20 µl alikvota je rastvoreno sa 2,98ml 8 M uree, 1% SDS, 3 mM EDTA i 0,2 M Tris-HCl, pH 8,0 (Puffer B). Ova smeša je snažno promešana i njegova apsorbanca je čitana na 412 nm naspram slepe probe koja se sastojala od 20 µl pufera A i 2,98 ml pufera B (*Chan i Wasserman, 1993*).

Sadržaj slobodnih i ukupnih sulfhidrilnih grupa (-SH) je izračunat na osnovu očitanih vrednosti apsorbanca i molarog apsorpcionog koeficijenta $1.36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ na 412 nm (*Anderson i Ng, 2000*). Sadržaj disulfidnih veza je izračunat kao polovina razlike sadržaja ukupnih i slobodnih -SH grupa. Sadržaj -SH i -S-S izražen je kao nmol/mg s.m.

3.2.2.2.5. Određivanje sadržaja triptofana

Sadržaj triptofana je određivan iz odmašćenih uzoraka brašna i osušenog glutena. Hidrolizat brašna i glutena (dobijen digestijom papainom na 65 °C preko noći) je dodat u 3 ml reagensa koji sadrži Fe³⁺ (1 g FeCl₃ rastvorenog u 50 ml 3,5 M H₂SO₄), 15M H₂SO₄ i 0,1 M glioksilnu kiselinu. Posle inkubacije na 65°C tokom 30 minuta, očitana je apsorpcija na 560 nm. Sadržaj triptofana je računat korišćenjem standardne (kalibracione) krive formirane analizom standarda triptofana koncentracija u rasponu od 0 to 30 µg mL⁻¹ (*Nurit i sar., 2009*). Sadržaj triptofana izražen je kao % sadržaja u s.m.

3.2.2.2.6. Određivanje aktivnost lipoksigenaze

Ekstrakcija lipoksigenaze u brašnu izvršena je mućkanjem 0,5 g uzorka u 5 ml destilovane vode u trajanju od 120 min na 4°C. Supernatant dobijen nakon centrifugiranja na 11000 obrt/min tokom 10 minuta je korišćen za merenje aktivnosti prema *Surrey (1964)* metodi sa manjim modifikacijama. Kao supstrat korišćen je rastvor linolne kiseline. Aktivnost enzima ispitivana je u smeši koja se sastojala od 3,75 mM linolne kiseline, 67 mM natrijum fosfatnog pufera pH 6,5 i rastvora enzima (supernatanta). Pri određivanju aktivnosti praćena je promena apsorbanca na 234nm tokom 5 min na 25°C. Kako bi se eliminisale promene koje nisu rezultat katalitičke aktivnosti lipoksigenaze određene se promene apsorbanca referentnog rastvora koji sadrži smešu rastvora linolne kiseline i fosfatnog pufera. Aktivnost lipoksigenaze je izražena kao promena apsorbanca u minutu po gramu s.m.

3.2.2.2.7. Određivanje aktivnost peroksidaze

Analiza aktivnosti peroksidaze u 0,5 g brašna izvršena je nakon ekstrakcije u 5 ml destilovane vode tokom mućkanja 120 min na 4°C. Nakon centrifugiranja od 10 minuta na 11000 obrt/min dobijeni supernatanti su korišćeni za dalju analizu aktivnosti metodom po *Sheu i Chen (1991)*. Aktivnost enzima ispitivana je u smeši koja se sastojala od 67 mM natrijum fosfatnog pufera pH 6,0, 30 mM gvajakola, rastvora enzima (supernatant) i 3 mM vodonik peroksida koji se uvek dodaje poslednji. Promena apsorbanca je praćena na

talasnoj dužini od 420 nm u trajanju od 5 minuta. Aktivnost peroksidaze je prikazana kao promena apsorbance u minuti po g s.m.

3.2.2.3. Analiza sadržaja fitohemikalija pšeničnog i kukuruznog brašna i hleba

Fenolne komponenta ekstrahovane su po proceduri koju je opisao *Antoine i sar. (2004)*. Ukupni fenoli u 0,5 g uzorka oslobođeni su alkalnom hidrolizom tokom 4 h kolišćenjem 4 M NaOH. Posle podešavanja pH vrednosti do 2,0 sa 6 M HCl, svi hidrolizati su ekstrahovani sa dietil-etrom i etil-acetatom (1:1, v/v) četiri puta. 5 ml kombinacije ekstrakata uparavano je u atmosferi azota do suva. Ostatak nakon uparavanja rastvoren je u 1,5 ml metanola. Pripremljeni ekstrakti korišćeni su za analizu ukupnih fenola, flavonoida i fenolnih kiselina.

3.2.2.3.1. Određivanje sadržaj ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja je određen metodom po *Singleton i sar. (1999)* korišćenjem Folin-Ciocalteu reagensa. Dobijene vrednosti izražene su kao mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) po kg s.m.

3.2.2.3.2. Određivanje sadržaj ukupnih flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida je određen metodom po *Eberhardt i sar. (2000)*, a dobijene vrednosti izražene su kao mg ekvivalenta katehina (CE) po kg s.m.

3.2.2.3.3. Određivanje sadržaj fenolnih kiselina

Tečna hromatografija sa UV/Vis detektorom visoke rezolucije (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) primenjena je za razdvajanje i kvantifikaciju fenolnih kiselina u pripremljenim uzorcima (UltiMate 3000 System, Thermo Scientific Dionex, Massachusetts, USA). Hromatografsko razdvajanje izvršeno je na HypersilGold C18 koloni (4,6 mm x 150 mm; 3 µm) uz sistem rastvarača: A – (1% HCOOH) i B - (100% CH₃OH). Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearnog gradijenta: 0 - 15

minuta, 10 - 60% B; 15 - 20 minuta, 60% B; 20 - 25 minuta, 60 - 10% B; 25 - 30 minuta, 10% B. Protok mobilne faze je iznosio 0,8 ml/min. Injektovano je 10 μ l rastvora uzorka, automatski, korišćenjem autosamplera-a. Kolona je termostatorirana na temperaturi od 25°C. Hromatografi komponentata su snimljeni na talasnoj dužini od 280 nm, a snimanje spektara vršeno je na talasnim dužinama opsega 190-400 nm.

Fenolne kiseline prisutne u uzorcima su identifikovane poređenjem njihovog retencionog vremena i podacima spektara sa spektrom standarda za svaku komponentu. Korišćeni su standardi: hlorogene kiseline, galne kiseline, dehidroksi benzoeve kiseline, kafeinske, *p*-kumarinske kiseline, ferulinske kiseline, katehina, kvercetina, rutina, epikatehina. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen osnovni rastvor koncentracije 1,0 mg/ml rastvaranjem u metanolu. Kvantifikacija je izvršena na osnovu podataka o standardima korišćenjem Thermo Scientific Dionex Chromeleon 7.2. hromatografskog softvera. Sadržaj fenolnih kiselina izražen je u μ g po g s.m.

3.2.2.3.4. Određivanje sadržaja ukupnih antocijana

Sadržaj ukupnih antocijana metodom po *Abdel-Aal i Hucl (2003)*. Antocijani u uzorcima (0,3 g) ekstrahovani su sa 10 ml zakišljenim rastvorom metanola (metanol : 1 M HCl, 85:15, v/v) u trajanju od 30 minuta. Nakon toga, uzorci su centrifugirani na 12000 obrt/min tokom 5 minuta, a apsorbancija je merena na talasnim dužinama od 535 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat na osnovu ekstinkcionog koeficijenta 25965 Abs/M \times cm i molekulske mase cijanidin 3-glukozida od 449.2 g/mol, a izražen je kao mg ekvivalent cijanidin 3-glukozid (CGE) po kg s.m.

3.2.2.3.5. Određivanje sadržaja ukupnog žutog pigmenta

Uzorci brašna (4 g) su ekstrahovani sa 40 ml u vodi zasićenog rastvora 1-butanola. Uzorci su homogenizovani 60 sekundi, držani na sobnoj temperaturi 20 minuta i ponovo homogenizovani u trajanju od 30 sekundi. Nakon centrifugiranja, apsorbancija je merena na 435 nm. Sadržaj žutog pigmenta je izračunat korišćenjem konverzionog faktora 1.6632 i izražen kao mg ekvivalenta β -karotena (β CE) po g na s.m. (*AACC, 1995*).

3.2.2.3.6. Određivanje antioksidativnog kapaciteta

Merenje ukupnog antioksidativnog kapaciteta brašna, glutena i hleba je izvršeno po direktnoj ili QUENCHER metodi opisanoj od strane *Serpen i sar. (2008)* korišćenjem ABTS (2,2-azo-bis/3-etil-benotiazolin-6-sulfonska kiselina) reagensa. U fino samleven uzorak (10 mg) dodato je 20 ml radnog rastvora ABTS^{•+} i smeša je intenzivno mučkana 25 minuta. Nakon centrifugiranja na 10000 obrt/min u trajanju od 5min, očitana je apsorbanca supernatanta na 734 nm. Ukupan antioksidativni kapacitet svakog uzorka je određen pomoću kalibracione krive konstruisane za standard troloks. Antioksidativni kapacitet predstavljen je kao ekvivalent antioksidativnog kapaciteta troloksa i izražen u mmol Troloxa po kg s.m.

3.2.3. Analize reoloških svojstava testa

3.2.3.1. Farinografska analiza

Formiranje testa mešenjem brašna i vode, i registrovanje promena fizičkih svojstava testa u toku određenog vremena mešanja (15 minuta) mereno je na uređaju farinograf (C.W. Brabender, Duisburg, Germany) sa mesilicom za 300 g. Farinograf preko dinamometra meri snagu koja je potrebna za kretanje lopatica kroz testo. Na dobijenom farinogramu očitani su sledeći parametri: moć upijanja vode (%), razvoj testa (min), stabilnost testa (min), kvalitetni broj i stepen omekšanja testa (BJ) (*AACC, 2000e*).

3.2.3.2. Ekstenzografska analiza

Fizička svojstva testa tokom uzastopnog odmaranja (45, 90, 135 minuta) i uniaksijalnog rastezanja mereni su na uređaju ekstenzografu (C.W. Brabender, Duisburg, Germany). Primenom sile konstantne veličine, pri istoj brzini i smeru dejstva, testo se deformiše preko granice rastegljivosti i kida se. Otpor koji testo pruža dejstvu sile, registruje se u vidu ekstenzograma sa kojeg su očitani: otpor (BJ), rastegljivost (mm), energija (cm²) i odnos otpora prema rastegljivosti (O/R) (*AACC, 2000f*).

3.2.3.3. Amilografska analiza

Merenje viskoziteta izvršeno je na amilografu (C.W. Brabender, Duisburg, Germany). Princip amilografske analize zasniva se na kontinuiranom praćenju viskoziteta suspenzije voda–brašno uz stalan porast temperature od 25 do 95°C uz temperaturni gradijent od 1,5°C/min. Sa amilografske krive određen je maksimalni viskozitet i izražen je u brabender jedinicama (BJ) (AACC, 2000g).

3.2.4. Ocenjivanje kvaliteta hleba

3.2.4.1. Instrumentalni pokazatelji kvaliteta hleba

3.2.4.1.1. Određivanje zapremine vekne

Zapremina vekne hleba određena je laserskim skenerom VolScan profiler (Stable Microsystem, Surrey, UK) koji meri obim hleba i pekarskih proizvoda sa maksimalnim dimenzijama 600 mm dužine i 380 mm prečnika, za vreme manje od 60 sekundi. Nakon kalibracije i tariranja uređaja, hleb se postavlja u komoru tako što se nabode na trozubac. Dobijaju se podaci o zapremini vekne (ml) i specifičnoj zapremini (ml/g). Merenja su izvršena u četiri ponavljanja.

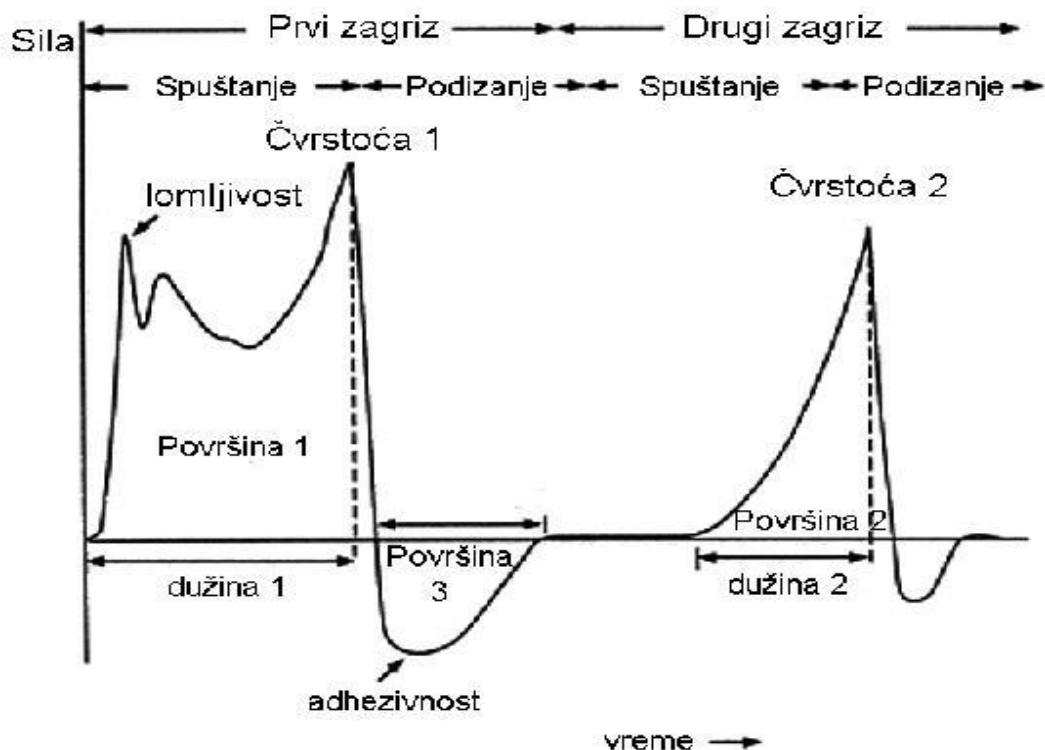
3.2.4.1.2. Određivanje teksturnih svojstava sredine hleba

Analiza teksturnih svojstava sredine hleba određena je primenom TPA testa (Texture Profile Analysis) na uređaju Texture Analyzer TA.XT2 (Stable Microsystems, Surrey, UK) opremljenog mernom ćelijom od 5kg i mernim priborom P/75 (aluminijumska ploča prečnika 75mm). Merenja tekture sredine hleba rađena su u 4 ponavljanja 24h nakon pečenja hleba, na kriškama debljine 20 mm iz kojih je potom iz sredine izvađen komad prečnika 35 mm koji je potom sabijan. Merenje teksturnih svojstava sredine hleba izvršeno je u vremenu od najviše 30 minuta nakon formiranja komada hleba, kako bi se izbegao gubitak vlage i uticaj okruženja na teksturna svojstva. Podešavanja teksturometra su bila sledeća: brzina kretanja mernog dela pre analize-10mm/s; brzina kretanja tokom testa-0.5mm/s; brzina kretanja mernog dela nakon analize-10mm/s; iznos deformacije-60%;

vreme čekanja između prvog i drugog ciklusa kompresije-15s. Na Slici 3.1. dat je primer TPA profila.

Sa TPA profila očitani su sledeći parametri:

- čvrstoća - maksimalna vrednost sile tokom prve kompresije (prvog zagriz);
- kohezivnost - odnos površina 2 i 1;
- naknadna elastičnost - dužina 1;
- žvakljivost - predstavlja proizvod gumastost x naknadna elastičnost;
- inicijalna elastičnost - opisuje koliko se dobro uzorak "bori da povрати svoj prvobitni oblik" (*Bourne, 2002; Köksel, 2009*).



Slika 3.1. Primer TPA profila

3.2.4.1.3. Određivanje boje gornje kore i sredine hleba

Boja gornje površine kore i sredine hleba određena je hromametrom (MINOLTA, Chroma Meter CR-400, MinoltaCo., Ltd., Osaka, Japan) sa D-65 osvetljenjem. Pre merenja izvršena je kalibracija standardom bele boje. Rezultati su izraženi prema CIELab sistemu boja (CIE, 1976) kao: (L^*) svetloća boje (0 - crna; 100 - bela), (a^*) udeo crvene/zelene boje ($a^*>0$ označava crvenu boju; $a^*<0$ označava zelenu boju) i (b^*) udeo žute/plave boje ($b^*>0$ označava žutu boju; $b^*<0$ označava plavu boju). Merenje je vršeno 24 časa nakon pečenja. Na svakom od četiri dobijena hleba urađeno je po pet merenja.

3.2.4.2. Određivanje senzornih svojstava hleba

Senzorna analiza hleba je rađena 24h nakon pečenja, jer se nakon tog vremena najbolje uočavaju razlike u kvalitetu. Ocena senzornih svojstava hleba 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 četiri ocenjivača a rezultati su dati kao prosečne vrednosti.

3.2.5. Statistička analiza

Sve hemijske analize vršene su u najmanje tri ponavljanja, analize reoloških svojstava u dva ponavljanja, a teksturnih i senzornih svojstava hleba u četiri do pet ponavljanja. Vrednosti merenja su predstavljene kao srednje vrednosti. Značajnost razlika srednjih vrednosti između uzoraka određene su t-testom i Tuckey testom, na nivou $p < 0,05$. Za analizu uticaja sredine, genotipa i njihove interakcije na posmatrano obeležje korišćena je ANOVA. t-test, Tuckey test i obrada rezultata ispitivanih uticaja sredine, genotipa i njihove interakcije metodom analize varijanse urađeni su u statističkom programu MINITAB (Portable v16.1). U cilju što boljeg razumevanja odnosa između svih ispitivanih promenljivih primenjena je analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis-PCA*) koja omogućava jednostavnu interpretaciju korelativnih odnosa.

4. Rezultati i diskusija

4.1. Sastav i struktura proteina pšenice

Kvalitet pšenice se generalno ocenjuje na osnovu njene pogodnosti za određenu krajnju upotrebu. Postoji veliki broj genotipova pšenice sa različitim karakteristikama u pogledu prinosa, otpornosti na različite klimatske uslove i bolesti, ali i u pogledu kvaliteta zrna pogodnog za mlevenje i pripremu pekarskih proizvoda (*Halverson i Lawrence, 1988*).

Kvalitet brašna i reološka i funkcionalna svojstva testa najviše zavise od proteina pšenice, čiji značaj leži u sposobnosti glutena da formira testo određenih reoloških karakteristika. Međutim, sadržaj glijadina i glutenina, njihovih subjedinica, kao i međusobnog odnosa ovih proteinskih frakcija, je od ključnog značaja za reološka svojstva testa i svojstva gotovog proizvoda. Sadržaj i svojstva proteinskih frakcija su sortna karakteristika, ali u velikoj meri zavise od faktora spoljne sredine koja svojim dejstvom utiče na sadržaj proteinskih podjedinica i proteinskih grupa, udeo i strukturu polimernih proteina, sadržaj specifičnih proteina, polimerizaciju, ali i proteolizu (*DuPont i Altenbach, 2003*).

Poznavanje sadržaja, sastava i strukture proteina pšenice i uspostavljanje veze sa tehnološkim svojstvima brašna moglo bi omogućiti modeliranje adekvatnog tehnološkog postupka proizvodnje pekarskih proizvoda radi postizanja njihovih povoljnih senzornih karakteristika.

4.1.1. Hemijski sastav zrna i brašna hlebne i durum pšenice

Analiza hemijskog sastava zrna pšenice, kao pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšenice je veoma bitna kako bi se dobila potpuna slika o sortnim karakteristikama i informacija o pšenici kao sirovini za peradu. Kvalitet brašna u najvećoj meri zavisi od tehnološkog kvaliteta pšenice kao polazne sirovine. U tabeli 4.1. i 4.2. su prikazani rezultati ispitivanja osnovnog hemijskog sastava zrna i brašna hlebne i durum pšenice korišćenih u eksperimentima.

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 4.1. prosečan sadržaj proteina u zrnu hlebne pšenice gajene u kišnoj godini (2010) iznosio je 12,44% i bio je 1,27 puta veći nego u pšenici gajene u narednoj sezoni. Visokim sadržajem proteina istakli su se genotipovi hlebne pšenice ZP Zemunska rosa (12,91%) u kišnoj godini i genotip Cimmyt 226 (10,17%) u sušnoj godini (2011) (Tabela 4.1.). Varijacije sadržaja proteina u okviru genotipova durum pšenice tokom obe godine istraživanja bile su znatno više u odnosu na varijacije u okviru hlebne pšenice. Genotip ZP DSP/01 je imao najviši sadržaj proteina (13,72% i 14,57%). Dobijene vrednosti su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja *Žilić i sar. (2010)* i *Hadži-Tašković Šukalović i sar. (2013)*. Primenom dvofaktorijalne analize varijanse utvrđena je značajnost efekta genotipa, sredine i njihove interakcije na sadržaj proteina, a rezultati su prikazani u tabeli 4.3. U genotipovima hlebne pšenice, sadržaj proteina je bio pod velikim uticajem faktora sredine (93,66 %), dok je uticaj genotipa i interakcije genotipa i sredine bio praktično zanemarljiv (3,64% i 2,70%). Međutim, suprotno ovim navodima, *Denčić i sar. (2011)* su u istraživanju rađenom na hlebnoj pšenici ustanovili da je uticaj genotipa na varijacije u kvalitetu bio generalno viši u poređenju sa uticajem faktora sredine. Sa druge strane, ovi navodi su u saglasnosti za durum genotipove pšenice kod kojih je uticaj faktora genotip iznosio 51,05%, a uticaj sredine 39,08%.

Tabela 4.1. Hemijski sastav celog zrna hlebne i durum pšenice (% na s.m.)

Genotip	Sadržaj proteina	Sadržaj skroba	Sadržaj lipida	Sadržaj celuloze	Sadržaj pepela
Hlebna pšenica 2010					
ZP 87/I	11,90 ^{b6}	66,25 ^{abc BCD}	2,34 ^{g 1}	2,51 ^{abc 345}	1,78 ^{cd 1234}
ZP 7/I	12,74 ^{a5}	65,65 ^{bc CDE}	3,27 ^{cd 4567}	2,31 ^{cd 45}	1,84 ^{b 1234}
ZP 3/I	11,97 ^{b6}	65,56 ^{bc CDEF}	4,66 ^{a 1}	2,44 ^{abcd 345}	1,90 ^{a 1234}
Cimmyt 226	12,70 ^{a5}	65,22 ^{c DEF}	3,59 ^{bc 2345}	2,19 ^{d 5}	1,69 ^{ef 34}
ZP Zemunska rosa	12,91 ^{a5}	65,79 ^{bc CD}	3,76 ^{b 23}	2,64 ^{ab 234}	1,91 ^{a 123}
CV (%)	3,79	0,57	23,81	7,22	5,00
Hlebna pšenica 2011					
ZP 87/I	9,85 ^{d9}	66,84 ^{ab 123}	2,55 ^{fg 89}	2,53 ^{abc 345}	1,72 ^{e 234}
ZP 7/I	9,82 ^{d9}	66,97 ^{ab 123}	2,56 ^{fg 89}	2,39 ^{bcd 345}	1,65 ^{f 4}
ZP 3/I	9,48 ^{e10}	65,72 ^{bc 34}	2,85 ^{ef 78}	2,70 ^{a 23}	1,73 ^{de 234}
Cimmyt 226	10,17 ^{c8}	65,05 ^{c 456}	2,62 ^{fg 89}	2,29 ^{cd 45}	1,69 ^{ef 34}
ZP Zemunska rosa	9,52 ^{e10}	67,50 ^{a 12}	3,17 ^{de 567}	2,45 ^{abcd 345}	1,80 ^{bc 1234}
CV (%)	2,88	1,51	9,61	6,26	3,23
Durum pšenica 2010					
ZP 120/I	11,39 ^{F7}	64,05 ^{C567}	4,78 ^{A1}	2,73 ^{BC23}	1,81 ^{A1234}
Cimmyt 7879	11,78 ^{E 6}	62,56 ^{CD78}	2,94 ^{C678}	2,32 ^{D45}	1,89 ^{A1234}
Cimmyt 7817	11,94 ^{E6}	63,98 ^{C67}	3,59 ^{B2345}	2,96 ^{AB12}	1,91 ^{A123}
ZP 34/I	11,97 ^{E6}	61,53 ^{D8}	3,40 ^{BC23456}	3,25 ^{A1}	1,99 ^{A1}
ZP DSP/01	13,72 ^{CD34}	61,86 ^{D8}	3,86 ^{B2}	3,21 ^{A1}	1,95 ^{A12}
CV (%)	7,42	1,87	18,41	13,24	3,55
Durum pšenica 2011					
ZP 120/I	11,80 ^{E6}	65,81 ^{B34}	3,33 ^{BC3456}	2,65 ^{BCD234}	1,68 ^{A34}
Cimmyt 7879	14,21 ^{B2}	68,14 ^{A1}	3,64 ^{B234}	2,31 ^{D45}	1,69 ^{A34}
Cimmyt 7817	13,51 ^{D4}	58,52 ^{E9}	3,69 ^{B234}	2,63 ^{BCD234}	1,76 ^{A1234}
ZP 34/I	13,82 ^{C3}	59,01 ^{E9}	3,81 ^{B2}	2,50 ^{CD345}	1,88 ^{A1234}
ZP DSP/01	14,57 ^{A 1}	58,54 ^{E9}	3,73 ^{B23}	2,94 ^{AB12}	1,85 ^{A1234}
CV (%)	7,90	7,45	5,06	8,85	5,13
Prosek					
Hlebna pšenica 2010	12,44 ^{I II}	65,69 ^I	3,52 ^I	2,42 ^{II}	1,82 ^{I II}
Hlebna pšenica 2011	9,77 ^{III}	66,42 ^I	2,75 ^I	2,47 ^{I II}	1,72 ^{II}
Durum pšenica 2010	12,16 ^{II}	62,80 ^I	3,71 ^I	2,89 ^I	1,91 ^I
Durum pšenica 2011	13,58 ^I	62,00 ^I	3,64 ^I	2,61 ^{I II}	1,77 ^{I II}

Vrednosti sa istim slovom (malo slovo/veliko slovo) i istim brojem (arapski/rimski brojevi) unutar iste kolone nisu statistički različiti ($p > 0.05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Kako se mlevenjem pšenice uklanja najveći deo omotača i aleurona, pa delom i klice, za očekivati je da belo brašno poseduje niži sadržaj pepela, celuloze, lipida i proteina, a znatno viši sadržaj skroba (Tabela 4.2.).

Ispitivanjem hemijskog sastava brašna hlebne i durum pšenice (Tabela 4.2.) utvrđeno je da su se vrednosti sadržaja proteina u toku dve ispitivane sezone kretale u opsegu od 8,91 do 11,14%, odnosno od 8,75 do 13,88% u hleboj i durum pšenici, što je u

saglasnosti sa podacima *Khan i sar. (2013)*. U kišnoj godini sadržaj ukupnih proteina u brašnu kretao se u rasponu od 10,26 do 11,14% kod hlebne pšenice, odnosno od 8,75 do 10,91% kod durum pšenice. Kako sredina ima značajan uticaj na kvalitet brašna, sadržaj proteina u brašnu se značajno povećava u uslovima smanjene količine vode, uglavnom zbog visokih stopa akumulacije azota i niskih stopa akumulacije ugljenih hidrata (*Ozturk i Aydin, 2004*). Obzirom da je 2010. godina bila kišovita, sa srednjom količinom padavina od 93,25 mm u periodu od novembra do juna, dobijene statistički značajno niže vrednosti sadržaja ukupnih proteina u durum pšenici su opravdane. Među genotipovima hlebne i durum pšenice sadržaj ukupnih proteina u okviru iste sezone bio je statistički različit ($p > 0.05$), ali su ove razlike bile znatno veće poređenjem dve sezone. Ovo ukazuje da faktor sredine ima veliki uticaj na varijacije u sadržaju proteina u brašnu hlebnih (70,40%) i durum (69,64%) genotipova pšenice, što je potvrđeno dvofaktorijalnom analizom varijanse (Tabela 4.4.), a dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjem *Taghouti i sar. (2010)*. Najveći sadržaj ukupnih proteina u kišnoj i sušnoj godini utvrđen je u brašnu hlebne pšenice genotipa ZP Zemunska rosa sa 11,14%, odnosno Cimmyt 226 sa 10,45% sadržaja ukupnih proteina, dok se kod brašna durum pšenica istakao genotip ZP DSP/01 sa 10,91%, odnosno 13,88% sadržaja ukupnih proteina.

Dobijene vrednosti za sadržaj skroba u brašnu hlebnih i durum genotipova pšenice tokom dve godine istraživanja koje su se u proseku kretale od 73,36 do 78,87%, odnosno od 68,39 do 72,41%, su u skladu sa rezultatima istraživanjima *Goesaert i sar. (2005)*.

Najniži sadržaj pepela je ustanovljen u kišnoj godini u brašnu genotipa ZP 3/I (0,53%), dok je u okviru iste godine najviša vrednost sadržaja pepela uočena kod genotipa ZP Zemunska rosa (0,65%) (Tabela 4.2.). Prema *Peterson i sar. (1983)* sadržaj mineralnih materija u zrnu pšenice ima visoku pozitivnu korelaciju sa sadržajem proteina čime se postiže hranljiva prednost visokoproteinskih sorti. Međutim, na sadržaj mineralnih materija takođe utiču i posle-žetveni tretmani, kao što su mlevenje i prerada. Sadržaj pepela u zrnu hlebne pšenice gajene u kišnoj godini bio oko 3,08 puta veći u poređenju sa brašnom hlebne pšenice. Slične rezultate su objavili *Dornez i sar. (2006)* koji su analizirali proces industrijskog mlevenja i ustanovili da je sadržaj pepela u zrnu pšenice oko 3,3 puta veći od sadržaja pepela u belom brašnu.

Tabela 4.2. Hemijski sastav brašna hlebne i durum pšenice (% na s.m.)

Genotip	Sadržaj proteina	Sadržaj skroba	Sadržaj lipida	Sadržaj celuloze	Sadržaj pepela
Hlebna pšenica 2010					
ZP 87/I	10,57 ^{b 56}	79,12 ^{a 1}	2,33 ^{e 9 10 11}	0,49 ^{ab 23456}	0,59 ^{e 6}
ZP 7/I	11,03 ^{a 4}	76,23 ^{b 2}	2,18 ^{e 11}	0,14 ^{d 8}	0,60 ^{de 6}
ZP 3/I	10,26 ^{c 7}	80,69 ^{a 1}	2,78 ^{de 789}	0,22 ^{bcd 78}	0,53 ^{f 6}
Cimmyt 226	11,09 ^{a 4}	79,18 ^{a 1}	3,31 ^{bcd 4567}	0,19 ^{cd 8}	0,59 ^{e 6}
ZP Zemunska rosa	11,14 ^{a 4}	79,13 ^{a 1}	3,40 ^{abcd 78}	0,24 ^{bcd 78}	0,65 ^{d 6}
CV(%)	3,57	2,06	19,87	53,89	6,98
Hlebna pšenica 2011					
ZP 87/I	9,18 ^{e 9}	73,76 ^{cd 45}	3,19 ^{bcd 5678}	0,62 ^{a 123}	0,86 ^{bc 45}
ZP 7/I	8,91 ^{e 9}	74,24 ^{c 3}	2,99 ^{cd 678}	0,54 ^{a 2345}	0,82 ^{c 5}
ZP 3/I	9,72 ^{d 8}	72,39 ^{de 567}	3,44 ^{abc 456}	0,70 ^{a 12}	0,83 ^{c 5}
Cimmyt 226	10,45 ^{bc 67}	71,83 ^{e 67}	3,78 ^{ab 234}	0,55 ^{a 2345}	0,90 ^{b 45}
ZP Zemunska rosa	9,06 ^{e 9}	74,58 ^{bc 234}	4,00 ^{a 123}	0,46 ^{abc 34567}	0,96 ^{a 45}
CV(%)	7,35	1,63	11,84	16,06	6,41
Durum pšenica 2010					
ZP 120/I	9,12 ^{G 9}	73,24 ^{B 456}	2,74 ^{D 89 10}	0,24 ^{FG 78}	0,87 ^{E 45}
Cimmyt 7879	9,59 ^{F 8}	71,30 ^{C 7}	3,57 ^{BC 345}	0,29 ^{EFG 678}	1,19 ^{BCD 3}
Cimmyt 7817	9,49 ^{F 8}	75,70 ^{A 23}	2,20 ^{E 10 11}	0,18 ^{G 8}	0,98 ^{DE 45}
ZP 34/I	8,75 ^{G 9}	72,33 ^{BC 567}	3,72 ^{B 345}	0,31 ^{EFG 5678}	0,95 ^{E 45}
ZP DSP/01	10,91 ^{D 45}	69,49 ^{D 8}	2,38 ^{DE 9 10 11}	0,38 ^{DEF 45678}	1,34 ^{AB 123}
CV(%)	11,47	3,19	23,56	27,09	18,03
Durum pšenica 2011					
ZP 120/I	10,67 ^{E 7}	71,75 ^{BC 67}	3,34 ^{BC 456}	0,52 ^{BCD 23456}	1,02 ^{CDE 4}
Cimmyt 7879	13,56 ^{B 2}	65,71 ^{F 10}	3,37 ^{BC 456}	0,59 ^{BC 1234}	1,50 ^{A 1}
Cimmyt 7817	12,88 ^{C 3}	67,96 ^{DE 89}	4,32 ^{A 12}	0,65 ^{AB 123}	1,37 ^{AB 12}
ZP 34/I	12,78 ^{C 3}	69,34 ^{D 8}	3,24 ^{C 45678}	0,45 ^{CDE 34567}	1,35 ^{AB 123}
ZP DSP/01	13,88 ^{A 1}	67,21 ^{EF 9 10}	4,38 ^{A 1}	0,81 ^{A 1}	1,22 ^{BC 23}
CV(%)	4,77	3,35	15,23	22,81	14,09
Prosek					
Hlebna pšenica 2010	10,82 ^{II}	78,87 ^I	2,80 ^I	0,25 ^{II}	0,59 ^{III}
Hlebna pšenica 2011	9,46 ^{II}	73,36 ^{II}	3,48 ^I	0,57 ^I	0,87 ^{II}
Durum pšenica 2010	9,57 ^{II}	72,41 ^{II}	2,92 ^I	0,28 ^{II}	1,06 ^{III}
Durum pšenica 2011	12,75 ^I	68,39 ^{III}	3,73 ^I	0,60 ^I	1,29 ^I

Vrednosti sa istim slovom (malo slovo/veliko slovo) i istim brojem (arapski/rimski brojevi) unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Lipidi, iako minorne komponente koje čine svega 2-4% pšeničnog zrna, imaju značajan uticaj na kvalitet i teksturu gotovih proizvoda zbog njihove sposobnosti formiranja kompleksnih formi sa proteinima i skrobom. Sadržaj lipida je u kišnoj godini u proseku iznosio 3,52% odnosno 3,71% u znu hlebne i durum pšenice, dok je u narednoj ispitivanoj godini hlebna pšenica imala 1,3 puta niže prosečne vrednosti sadržaja lipida od durum pšenice (Tabela 4.1.). Ispitivanjem sadržaja lipida u brašnu genotipova hlebne

pšenice, ustanovljeno je da je najniži sadržaj lipida u kišnoj i sušnoj godini imao genotip ZP 7/I (2,18%, odnosno 2,99%) dok je najviši sadržaj imao genotip ZP Zemunska rosa (3,40%, odnosno 4,00%) (Tabela 4.2.). Kao što je i bilo očekivano, sadržaj lipida u genotipovima durum pšenice je bio viši nego u genotipovima hlebne pšenice, što je u skladu sa rezultatima *Pomeranz i sar. (1996)*. Dobijeni rezultati potvrđuju ranija istraživanja u kojima je utvrđeno da sadržaj lipida zavisi od genetskih i ekoloških faktora i njihove interakcije (Tabela 4.3. i 4.4.), ali znatno i od procesa mlevenja (*Prabhasankar i sar., 2000*).

Tabela 4.3. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na hemijski sastav zrna genotipova hlebne i durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Hlebna pšenica						
Protein	91,90**	3,64	9451,79**	93,66	67,76**	2,70
Skrob	10,47**	56,94	16,32**	22,21	3,83	20,85
Lipidi	155,25**	44,34	456,30**	32,57	80,89**	23,09
Celuloza	13,13**	74,02	2,17	3,06	4,09**	22,93
Pepeo	150,50**	46,31	497,78**	38,25	50,72**	15,43
Durum pšenica						
Protein	548,59**	51,05	1680,60**	39,08	106,22**	9,88
Skrob	116,94**	55,92	14,19**	1,70	88,63**	42,39
Lipidi	14,67**	31,02	1,29	0,74	32,37**	68,24
Celuloza	32,17**	62,87	42,36**	20,79	8,47**	16,34
Pepeo	2,99	49,06	11,60**	47,59	0,20	3,35

** značajnost za $p < 0,05$

Tabela 4.4. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na hemijski sastav brašna genotipova hlebne i durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Hlebna pšenica						
Protein	242,92**	15,31	4467,43**	70,40	226,65**	14,29
Skrob	12,88**	4,31	985,59**	82,37	39,86**	13,33
Lipidi	36,40**	60,63	90,40**	37,65	1,04	1,72
Celuloza	7,14**	18,92	108,01**	70,27	4,14**	10,81
Pepeo	68,44**	7,55	3313,50**	91,08	11,73**	1,37
Durum pšenica						
Protein	1318,66**	22,87	16062,83**	69,64	432,38**	7,49
Skrob	64,03**	34,92	358,15**	48,83	29,80**	16,25
Lipidi	12,57**	5,61	304,82**	33,89	136,27**	60,50
Celuloza	11,91**	16,91	203,05**	73,24	6,99**	9,86
Pepeo	26,56**	45,68	73,17**	30,86	13,40**	23,46

** značajnost za $p < 0,05$

Dobijene vrednosti hemijskog sastava zrna i brašna hlebne i durum pšenice ukazuju na raznovrsne mogućnosti njihove tehnološke prerade i njihovu podobnost za različite prehrambene proizvode.

4.1.2. Rastvorljive proteinske frakcije ubrašnu hlebne i durum pšenice

Proteini se smatraju najvažnijim komponentama koje utiču na pecivna svojstva brašna. Međutim, visok sadržaj ukupnih proteina ne znači nužno i dobar kvalitet gotovog proizvoda. Same varijacije u sadržaju ukupnih proteina ne mogu adekvatno predstaviti sorte razlike u kvalitetu karakteristika koje određuju krajnji proizvod. Prema istraživanju *Gafurova i sar. (2002)* sadržaj i kvalitativni odnos rastvorljivih frakcija pšeničnih proteina daje važnu informaciju za određivanje funkcionalne vrednosti hrane. Sadržaj rastvorljivih proteina u brašnu hlebne i durum pšenice prikazan je u tabelama 4.5. i 4.6.

Tabela 4.5. Sadržaj ukupnih proteina (% na s.m.) i proteinskih frakcija (% od ukupnog sadržaja proteina) u brašnu genotipova hlebne pšenice

Genotip	Ukupan protein	Albumini + Globulini	Glijadini	Rastvorljivi glutenini	Nerastvorljivi glutenini	Suma Gli+Glu	Odnos Gli/Glu
Hlebna pšenica 2010							
ZP 87/I	10,57 ^b	26,68 ^{fg}	25,98 ^b	18,55 ^{ab}	28,78 ^{ab}	73,31 ^{ab}	0,55 ^{bc}
ZP 7/I	11,03 ^a	25,84 ^g	31,45 ^a	16,86 ^{abc}	25,90 ^{abc}	74,21 ^a	0,74 ^a
ZP 3/I	10,26 ^b	29,04 ^{ef}	30,75 ^a	20,22 ^a	19,98 ^c	70,95 ^{bc}	0,76 ^a
Cimmyt 226	11,09 ^a	29,67 ^{de}	22,99 ^c	16,46 ^c	30,88 ^a	70,33 ^{cd}	0,49 ^c
ZP Zemunska rosa	11,14 ^a	31,78 ^{cde}	22,36 ^c	16,61 ^c	29,28 ^{ab}	68,25 ^{cde}	0,49 ^c
CV (%)	3,57	8,34	15,89	9,13	15,94	3,35	22,48
Hlebna pšenica 2011							
ZP 87/I	9,18 ^d	35,62 ^b	23,53 ^{bc}	15,47 ^{cd}	25,38 ^{abc}	64,38 ^f	0,58 ^{bc}
ZP 7/I	8,91 ^d	34,68 ^{bc}	24,13 ^{bc}	17,17 ^{bc}	24,02 ^{bc}	65,32 ^{ef}	0,59 ^{bc}
ZP 3/I	9,72 ^c	32,61 ^{cd}	26,23 ^b	16,36 ^c	24,79 ^{abc}	67,39 ^{de}	0,64 ^{ab}
Cimmyt 226	10,45 ^b	36,56 ^{ab}	22,97 ^c	15,69 ^{cd}	24,78 ^{bc}	63,44 ^{fg}	0,57 ^{bc}
ZP Zemunska rosa	9,06 ^d	38,96 ^a	19,43 ^d	13,80 ^d	27,81 ^{ab}	61,04 ^g	0,47
CV (%)	7,35	8,98	14,64	8,47	6,89	4,98	15,14
Prosek							
Hlebna pšenica 2010	10,82 ^A	28,60 ^A	26,71 ^A	17,74 ^A	26,96 ^A	71,41 ^A	0,60 ^A
Hlebna pšenica 2011	9,46 ^B	35,69 ^A	23,26 ^A	15,70 ^A	25,36 ^A	64,31 ^B	0,57 ^A

Vrednosti sa istim slovom (malo/veliko) unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti između genotipova određena je Tuckey testom. Razlika srednjih vrednosti proseka po godinama određena je t testom.

Tabela 4.6. Sadržaj ukupnih proteina (% na s.m.) i proteinskih frakcija (% od ukupnog sadržaja proteina) u brašnu genotipova durum pšenice

Genotip	Ukupan protein	Albumini + Globulini	Glijadini	Rastvorljivi glutenini	Nerastvorljivi glutenini	Suma Gli+Glu	Odnos Gli/Glu
Durum pšenica 2010							
ZP 120/I	9,12 ^{ef}	33,13 ^{ab}	26,27 ^c	14,21 ^{ab}	26,39 ^{ab}	66,87 ^{bc}	0,65 ^c
Cimmyt 7879	9,59 ^d	35,14 ^a	23,51 ^c	13,71 ^{ab}	27,64 ^{ab}	64,86 ^c	0,57 ^c
Cimmyt 7817	9,49 ^{de}	31,36 ^{bc}	25,25 ^c	16,18 ^a	27,21 ^{ab}	68,64 ^{ab}	0,58 ^c
ZP 34/I	8,75 ^f	34,55 ^{ab}	26,50 ^c	13,08 ^{bc}	25,87 ^{ab}	65,45 ^{bc}	0,68 ^c
ZP DSP/01	10,91 ^c	33,27 ^{ab}	24,70 ^c	10,95 ^{cd}	31,07 ^a	66,72 ^{bc}	0,59 ^c
CV (%)	11,47	4,79	3,65	19,30	9,77	2,41	9,00
Durum pšenica 2011							
ZP 120/I	10,67 ^c	34,96 ^a	30,08 ^b	9,65 ^{de}	25,30 ^{abc}	65,04 ^c	0,86 ^b
Cimmyt 7879	13,56 ^a	29,50 ^{ab}	36,73 ^a	9,88 ^d	23,89 ^{bc}	70,50 ^a	1,09 ^a
Cimmyt 7817	12,88 ^b	33,15 ^c	30,90 ^b	8,39 ^{de}	27,56 ^{ab}	66,85 ^{bc}	0,86 ^b
ZP 34/I	12,78 ^b	33,26 ^{ab}	36,70 ^a	10,49 ^{cd}	19,56 ^c	66,74 ^{bc}	1,22 ^a
ZP DSP/01	13,88 ^a	33,14 ^{ab}	31,99 ^b	7,06 ^e	27,81 ^{ab}	66,86 ^{bc}	0,92 ^b
CV (%)	4,77	0,19	9,26	18,99	18,90	0,09	19,65
Prosek							
Durum pšenica 2010	9,57 ^A	33,49 ^A	25,25 ^A	13,63 ^A	27,64 ^A	66,51 ^A	0,61 ^A
Durum pšenica 2011	12,75 ^A	32,80 ^A	33,28 ^A	9,09 ^B	24,83 ^B	67,20 ^A	0,99 ^A

Vrednosti sa istim slovom (malo/veliko) unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti između genotipova određena je Tuckey testom. Razlika srednjih vrednosti proseka po godinama određena je t testom.

Brašna hlebnih i durum genotipova pšenice odlikuju se različitim sadržajem proteinskih frakcija. Sadržaj albumina+globulina tokom dve ispitivane godine se kretao od 25,84 do 31,78% (kišna godina) i 32,61 do 38,96% (sušna godina) u brašnu hlebne pšenice (Tabela 4.5.), dok je brašno durum genotipova pšenice imalo od 31,36 do 35,14%, odnosno od 29,50 do 34,96% albumina+globulina u kišnoj i sušnoj godini. Najveći sadržaj albumina+globulina u obe sezone u okviru genotipova hlebnih pšenica je imao genotip ZP Zemunska rosa (31,78 i 38,96% od ukupnih proteina) (Tabela 4.5.), dok se među durum genotipovima sa najvećim sadržajem albumina+globulina istakao genotip Cimmyt 7879 sa 35,17% (kišna) i genotip ZP 120/I sa 34,96% (sušna) od ukupnih proteina (Tabela 4.6.). Naime, sadržaj albumina+globulina u pšeničnom brašnu se kreće oko 25% od ukupnih proteina prema navodima *Belderok i sar. (2000)*, dok su *Žilić i sar. (2011a)* registrovali sadržaj od 40%. Kako naše sorte imaju sadržaj albumina+globulina do 38,96% od ukupnih proteina, a u skladu sa ranijim istraživanjima (*Lasztity, 1984*), postoji mogućnost njihovog korišćenja u selekciji sorti sa visokom nutritivnom vrednošću.

Razlike između hlebne i durum pšenice u velikoj meri se mogu pripisati karakteristikama njihovih glutenskih proteina, glijadina i glutenina. Suma glijadina+glutenina u uzorcima hlebne pšenice kretala se od 68,25% (ZP Zemunska rosa) do 74,21% (ZP 7/I) i od 61,04% (ZP Zemunska rosa) do 67,39% (ZP 3/I) ukupnih proteina u toku dve ispitivane godine (Tabela 4.5.). Dobijene vrednosti sadržaja glutenskih proteina u hlebnjoj pšenici su u saglasnosti sa navodima *Stehno i sar. (2008)* i *Abdelrahman i sar. (2004)*, koji su ustanovili da glijadini i glutenini čine od 69,12% do 77,71%, odnosno od 65,83 do 66,36% od ukupnih proteina u sortama uzgajanim u Češkoj i Sudanu. U okviru genotipova durum pšenice, genotip Cimmyt 7817 je imao najviši sadržaj glijadina+glutenina (68,64% od ukupnih proteina) u kišnoj godini, dok se u sušnoj istakao genotip Cimmyt 7879 sa 70,50% od ukupnih proteina (Tabela 4.6.). Međutim, treba imati u vidu da pored uticaja genotipa na procentualni udeo glijadina i glutenina, i uticaj sredine ima značajnu ulogu, pa su varijacije u kvalitetu glutena nastale pod uticajem sredine, genotipa, ili njihovom zajedničkom uticaju objavljene u mnogim istraživanjima (*Mikhaylenko i sar. 2000; Panozzo i Eagles 2000; Preston i sar. 2001; Zhang i sar. 2004; Finlay i sar., 2007; Dodig et al., 2007*). Ova istraživanja su pokazala da uticaj sredine na sadržaj glutena u genotipovima hlebne pšenice ima dominantnu ulogu, dok je zajednički uticaj sredine i genotipa znatno manji (Tabela 4.7.). Međutim, kod durum genotipova slučaj je bio obrnut, pa je interakcija sredine i genotipa sa 73,24% pokazala najveći uticaj na sadržaj glutena (Tabela 4.8.).

Najniži sadržaj glijadina u obe ispitivane godine uočen je kod genotipa ZP Zemunska rosa (22,36 i 19,43%), što ukazuje na dominantan uticaj genotipa, kako je potvrđeno i dvofaktorijalnom analizom varijanse (Tabela 4.7.). Uticaj sredine od 23,74% kod hlebne pšenice bio je tri puta manji nego kod genotipova durum pšenice. Veliki uticaj sredine (77,28%) na glijadinsku frakciju kod durum genotipova (Tabela 4.8.) se jasno uočava na primeru genotipa Cymmit 7879, koji je u kišnoj godini imao najniži, a u sušnoj najviši sadržaj glijadina (Tabela 4.6.).

Uzimajući u prosek dve ispitivane godine može se uočiti da je hlebna pšenica imala veći sadržaj rastvorljivih glutenina i niži sadržaj nerastvorljivih glutenina u poređenju sa durum genotipovima pšenice. Među analiziranim genotipovima hlebne pšenice u kišnoj

godini, najviši sadržaj rastvorljivih glutenina je imao genotip ZP 3/I (20,22% od ukupnog sadržaja proteina). Ovaj genotip je u istoj ispitivanoj godini imao i najveću vrednost odnosa glijadina/glutenina (0,76), dok je u narednoj godini ovaj odnos bio nešto niži i iznosio je 0,64. Dobijene vrednosti odnosa glijadina/glutenina u kišnoj i sušnoj godini su u skladu sa istraživanjima koje su objavili *Žilić i sar. (2011a)* i *Stehno i sar. (2008)*, i kretale su se od 0,49 do 0,76, odnosno od 0,47 do 0,64.

S obzirom da je odnos zastupljenosti pojedinih proteina jedan od bitnih faktora tehnološko funkcionalnih karakteristika (*Barać i sar., 2010*), razlike u njihovoj zastupljenosti mogu biti uzrok različite funkcionalnosti brašna.

Tabela 4.7. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na sadržaj ukupnih proteina i proteinskih frakcija u brašnu genotipova hlebne pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Ukupan protein	57,98**	15,16	1036,28**	67,83	64,95**	17,01
Albumini + Globulini	60,04**	20,91	843,12**	73,43	16,24**	5,66
Glijadini	85,02**	64,59	125,01**	23,74	15,35**	11,67
Rastvorljivi glutenini	25,06**	38,67	100,89**	38,92	14,52**	22,41
Nerastvorljivi glutenini	19,00**	55,67	9,03	6,62	12,87**	37,71
Suma Gli+Glu	60,04**	20,91	843,12**	73,43	16,24**	5,66
Odnos Gli/Glu	29,32**	28,67	0,95	0,23	72,73**	71,10

** značajnost za $p < 0,05$

Tabela 4.8. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na sadržaj ukupnih proteina i proteinskih frakcija u brašnu genotipova durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Ukupan protein	526,00**	20,15	7719,40**	73,93	154,40**	5,92
Albumini + Globulini	5,11**	21,78	4,68	4,99	17,19**	73,23
Glijadini	19,39**	9,29	645,58**	77,28	28,05**	13,43
Rastvorljivi glutenini	16,15**	19,17	237,51**	70,45	8,75**	10,38
Nerastvorljivi glutenini	26,88**	60,11	42,09**	23,53	7,31**	16,36
Suma Gli+Glu	5,11**	21,78	4,68	4,99	17,19**	73,24
Odnos Gli/Glu	23,50**	14,82	481,82**	75,91	14,71**	9,27

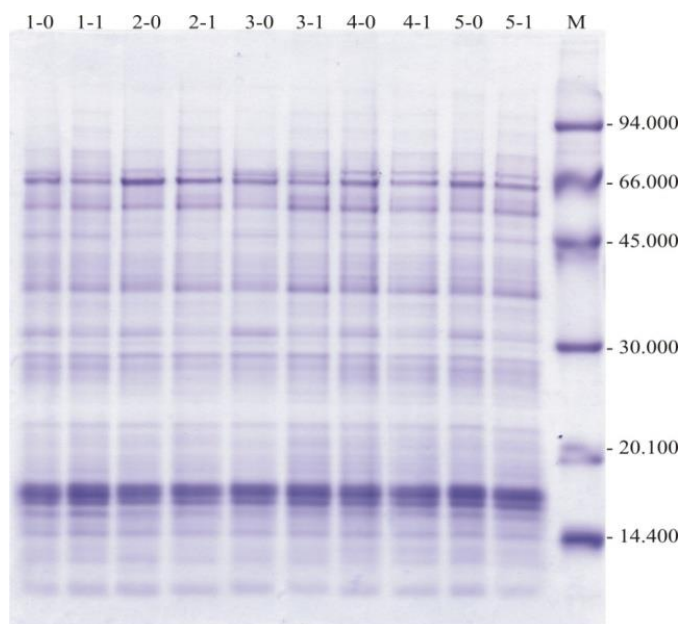
** značajnost za $p < 0,05$

4.1.3. Polipeptidni sastav rastvorljivih proteina brašna hlebne i durum pšenice

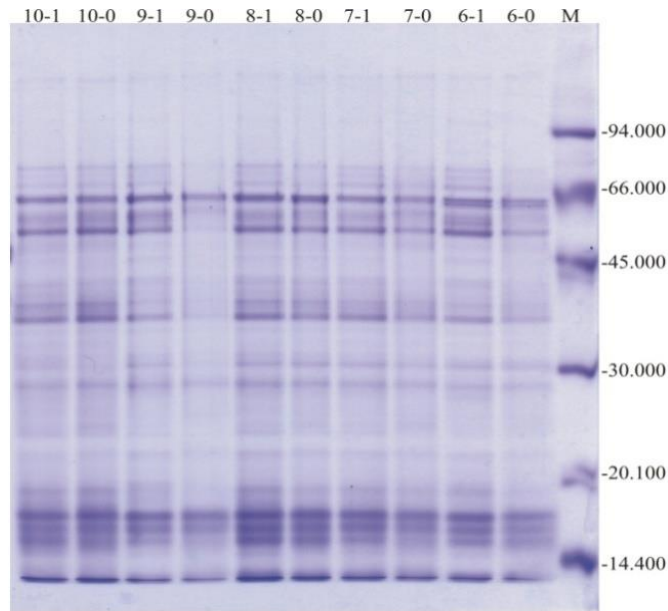
Polipeptidni sastav rastvorljivih proteina brašna hlebne i durum pšenice utvrđen je SDS-poliakrilamidnom gel elektroforezom (SDS-PAGE), a kvantifikacija je izvršena primenom denzitometrijske analize dobijenih elektroforegrama. Rezultati SDS-elektroforetske analize proteinskih frakcija brašna prikazani su na Slikama 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5. i 4.6., dok su rezultati denzitometrijske analize dati u Tabelama 4.9., 4.10., 4.12., 4.14., 4.16. i 4.18.

4.1.3.1. Polipeptidni sastav albuminsko-globulinske frakcije identifikovan SDS-PAGE

Albuminsko-globulinski elektroforegrami ispitivanih genotipova pokazali su visoku različitost (Slika 4.1. i 4.2.). Dobijene razlike utvrđene poređenjem genotipova pšenice gajene u kišnoj i sušnoj godini mogu se pripisati uticajem spoljnih faktora koji prema *Kim i Bushuk (1995)* mogu usloviti promene proteinskih šablona, kao i uticajem sorte.



Slika 4.1. SDS-Elektroforetska analiza albuminsko-globulinske frakcije proteina brašnahlebne pšenice; 1-ZP 87/I, 2-ZP 7/I, 3-ZP 3/I, 4-Cimmyt 226, 5- ZP Zemunska rosa. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard



Slika 4.2. SDS-Elektroforetska analiza albuminsko-globulinske frakcije proteina brašna durum pšenice; 1-ZP 120/I, 2-Cimmyt 7879, 3-Cimmyt 7817, 4-ZP 34/I, 5- ZP DSP. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard

Albuminsko-globulinska frakcija hlebne i durum pšenice se sastojala od 16 (ZP 120/I i ZP 34/I, sušna godina) do 24 (ZP 3/I i Cimmyt 226, sušna godina) dominantnih polipeptida sa molekulskim masama od 131,50 do 10,80 kDa (Slika 4.1., Slika 4.2.). Ovi rezultati su u skladu sa ranijim istraživanjima (*Žilić i sar., 2011b*), u kojima su pšenični albumini-globulini okarakterisani velikim brojem proteinskih traka, čiji se broj kretao od 19 do 23 i koji su bili definisani molekulskim masama od 76,4-12,4 kDa.

Proteinski šabloni albuminsko-globulinske frakcije hlebnih i durum genotipova pšenice mogu biti podeljeni u pet zona sa molekulskim masama od 131,50-116,05 kDa, 80,50-47,70 kDa, 45,70-30,80 kDa, 29,50-14,65 kDa i 13,06-10,80 kDa. Najznačajnije razlike između genotipova hlebne i durum pšenice su uočene u zoni molekulskih masa od 80,50-47,70 kDa. Međutim, takođe su uočljive značajne razlike i u zoni molekulskih masa između 10,80 i 30,80 kDa, u kojoj su genotipovi durum pšenice imali manji broj polipeptida (Tabele 4.9. i 4.10.). S druge strane, može se primetiti da genotipovi durum pšenice nisu posedovali polipeptide sa molekulskom masom ispod 13 kDa (Tabela 4.10., Slika 4.2.), pa se ove polipeptidne trake mogu koristiti za razlikovanje hlebnih od durum genotipova pšenice. Takođe se može uočiti da polipeptid sa molekulskom masom od 35,2

kDa koji se pojavljuje u svim analiziranim genotipovima hlebne pšenice u sušnoj godini, izuzev u genotipu ZP Zemunska rosa, nije bila prisutna u kišnoj godini. Ova činjenica se može objasniti time da sredina svojim dejstvom utiče na relativan sadržaj specifičnih proteina, proteinskih podjedinica i proteinskih grupa (*Dupont i Altenbach, 2003*), a kako su se dve ispitivane godine znatno razlikovale, dobijene razlike su razumljive.

Tabela 4.9. Polipeptidni sastav albuminsko-globulinske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu hlebne pšenice

Polipeptid molekulska masa (kDa)	Hlebna pšenica									
	2010					2011				
	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	Cim 226	ZP Z.rosa	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	Cim 226	ZP Z.rosa
127,30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,59	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
116,05	n.d.	0,57	0,43	0,58	0,40	0,24	0,43	0,28	0,28	n.d.
	0 ^d	0,57 ^b	0,43 ^{bc}	0,58 ^b	0,40 ^{bc}	0,83 ^a	0,43 ^{bc}	0,28 ^c	0,28 ^c	0 ^d
102,15	n.d.	0,43	0,29	0,69	0,23	0,47	0,49	0,59	0,29	0,55
93,6	n.d.	0,52	0,36	0,87	0,39	0,6	0,79	0,91	0,31	0,81
80,5	1,38	1,47	1,38	1,73	0,95	2,02	1,56	2,23	1,11	1,77
71,0 - 66,0	8,07	9,54	8,12	7,31	7,48	5,68	9,25	7,68	5,43	7,81
61,3 - 58,5	6,41	6,37	5,88	7,0	5,84	7,09	7,68	7,95	5,4	7,52
53,5	2,13	1,63	1,79	2,08	1,46	2,12	1,5	2,17	1,23	n.d.
47,7	4,08	2,46	2,49	2,39	3,07	3,18	2,42	1,87	2,57	2,71
	22,07 ^a	21,47 ^{ab}	19,66 ^{ab}	20,51 ^{ab}	18,80 ^b	20,09 ^{ab}	22,41 ^a	21,9 ^a	15,74 ^c	19,81 ^{ab}
42,8 – 38,3	12,24	12,21	11,22	11,45	11,19	11,6	11,17	12,05	11,18	12,03
36,5	1,84	2,2	1,66	2,31	2,23	1,3	1,59	1,14	1,77	1,64
35,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,78	0,94	0,95	0,75	n.d.
32,5	4,55	4,49	4,77	4,11	4,52	2,93	3,08	2,23	3,02	2,86
30,8	1,41	0,86	1,39	0,94	0,85	0,98	0,83	1,11	0,53	8,95
	20,04 ^b	19,76 ^{bc}	19,04 ^{bcd}	18,81 ^{bcd}	18,79 ^{bcd}	17,59 ^{cd}	17,61 ^{cd}	17,48 ^d	17,25 ^d	25,48 ^a
29,5 – 28,4	9,93	9,89	9,6	10,72	11,37	9,01	8,28	8,34	9,38	1,57
26,3	n.d.	n.d.	1,23	0,62	n.d.	n.d.	1,59	1,73	2,31	1,02
25,4	n.d.	n.d.	n.d.	1,77	1,67	n.d.	n.d.	0,97	2,36	1,49
23,2	1,9	1,51	2,0	3,43	4,11	1,61	1,96	1,92	4,45	3,97
21,6	2,89	3,33	2,9	5,95	4,92	3,17	3,09	3,68	6,45	6,31
20,5 – 18,8	4,86	5,03	4,72	17,63	19,4	5,64	5,81	5,99	20,28	20,9
18,2 – 16,9	19,04	17,73	20,71	4,67	4,89	20,03	19,37	19,73	5,37	4,29
16,25	5,71	5,48	4,72	4,16	5,48	4,68	4,34	4,13	4,58	5,99
14,65	5,19	5,23	5,06	5,2	5,74	6,19	4,67	3,55	5,97	5,06
	49,52 ^d	48,20 ^d	50,94 ^{cd}	54,15 ^c	57,58 ^b	50,33 ^d	49,11 ^d	50,04 ^d	61,15 ^a	50,60 ^d
13,04	4,87	4,62	5,49	0,99	n.d.	5,93	4,95	5,16	0,77	n.d.
10,80	3,45	4,4	4,26	3,37	3,79	4,16	4,19	3,62	4,18	3,54
	8,32 ^a	9,02 ^a	9,75 ^a	4,36 ^b	3,79 ^b	10,09 ^b	9,14 ^a	8,78 ^a	4,95 ^b	3,54 ^b

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Korisno je istaći da iako albumini-globulini nemaju ključnu ulogu u mešenju hleba, njihovo prisustvo, prvenstveno prisustvo proteina sa enzimskom aktivnošću, je ipak važno za dobra pecivna svojstva (*Peruffo i sar., 1996*).

Tabela 4.10. Polipeptidni sastav albuminsko-globulinske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu durum pšenice

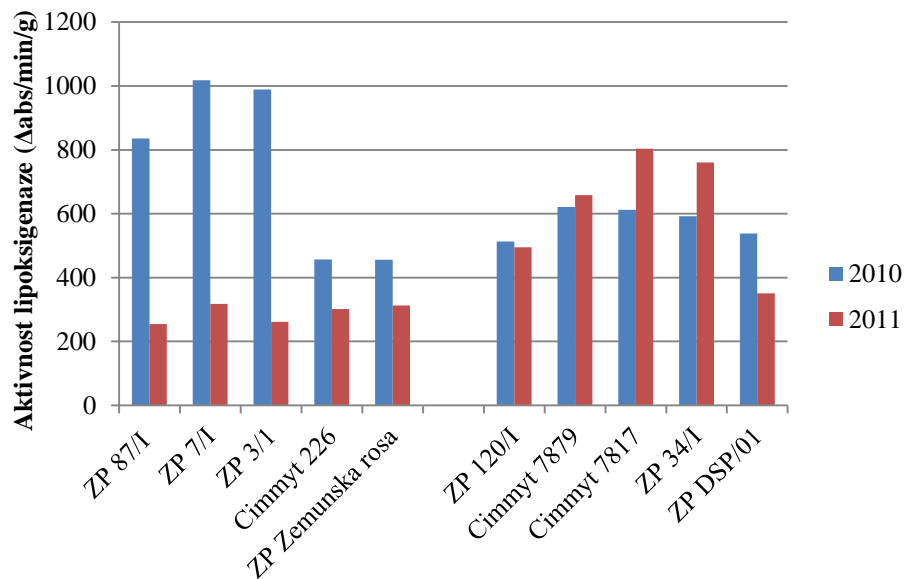
Polipeptid molekulska masa (kDa)	Durum pšenica									
	2010					2011				
	ZP 120/I	Cim 7879	Cim 7817	ZP 34/I	ZP DSP	ZP 120/I	Cim 7879	Cim 7817	ZP 34/I	ZP DSP
131,50	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,11
118,0	0,29	0,63	0,41	0,62	0,48	0,31	0,54	0,66	0,73	0,38
	0,29 ^c	0,63 ^{abc}	0,41 ^{abc}	0,62 ^{abc}	0,48 ^{abc}	0,31 ^{bc}	0,54 ^{abc}	0,66 ^{ab}	0,73 ^a	0,49 ^{abc}
110,0	n.d.	0,40	0,92	n.d.	n.d.	n.d.	0,53	0,38	0,40	0,24
	0,20	0,34	0,76	n.d.	0,31	0,43	0,56	0,67	n.d.	0,21
	n.d.	n.d.	n.d.	0,51	n.d.	n.d.	n.d.	0,88	n.d.	n.d.
78,0	0,76	0,83	1,19	0,81	0,57	1,58	1,22	1,14	0,56	0,35
77,65	0,65	0,67	n.d.	0,55	1,29	1,30	1,15	0,89	2,29	1,11
72,54	1,79	2,50	0,33	0,71	0,77	2,68	1,70	1,38	n.d.	0,97
68,5-63,6	17,84	15,12	12,28	15,27	7,08	19,89	13,87	15,98	8,31	5,97
58,4-54,8	2,36	3,22	2,18	1,28	10,60	1,80	1,64	1,39	11,20	9,17
50,18	1,61	1,99	1,20	0,74	2,64	1,54	0,92	1,05	1,58	2,68
	25,01 ^b	24,33 ^b	17,18 ^e	19,36 ^{de}	22,95 ^{bc}	28,79 ^a	20,50 ^{cde}	21,83 ^{bcd}	23,94 ^b	20,25 ^{cde}
45,7	n.d.	n.d.	n.d.	1,15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,40	1,76
42,05-37,0	11,32	12,40	13,22	9,93	15,66	11,75	13,18	13,47	11,78	13,41
35,4	0,93	0,55	1,06	1,05	1,37	0,92	1,39	1,31	0,99	1,09
33,5	1,14	1,26	0,90	0,91	2,39	n.d.	1,32	n.d.	n.d.	1,56
31,3	3,87	3,34	4,31	11,49	2,52	3,41	3,38	7,58	11,24	3,89
	17,26 ^d	17,55 ^{cd}	19,49 ^{bcd}	24,53 ^a	21,94 ^{ab}	16,08 ^d	19,27 ^{bcd}	22,36 ^{ab}	25,41 ^a	21,71 ^{abc}
28,6	3,73	4,67	5,53	3,00	3,87	5,13	5,74	1,34	1,61	5,76
26,16-24,6	4,00	5,82	4,92	0,83	6,10	3,26	5,31	2,80	2,69	4,75
21,89	2,47	2,99	2,53	2,86	2,35	2,38	1,73	2,50	2,15	2,43
19,06-14,7	37,27	32,89	37,64	37,91	34,11	35,00	35,64	36,90	34,84	34,61
	47,47 ^{abc}	46,37 ^{bcd}	50,62 ^a	44,60 ^{cde}	46,43 ^{bcd}	45,77 ^{bcd}	48,42 ^{ab}	43,54 ^{de}	41,29 ^e	47,55 ^{abc}
13,06	9,76	10,38	10,63	10,38	7,78	8,62	10,17	9,68	8,22	9,67
	9,76 ^a	10,38 ^a	10,63 ^a	10,38 ^a	7,78 ^a	8,62 ^a	10,17 ^a	9,68 ^a	8,22 ^a	9,67 ^a

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

4.1.3.1.1. Aktivnost lipoksigenaze i peroksidaze u brašnu hlebne i durum pšenice

Delovanje enzima lipoksigenaze i peroksidaze u pšeničnom brašnu je veoma bitna hemijska aktivnost sa tehnološke tačke gledišta. Lipoksigenaza ima nekoliko korisnih efekata tokom pečenja hleba, a njeno delovanje dovodi do poboljšane tolerancije na mešenje, ojačavanje testa i povećanje zapremine vekne. Kiseonik ili vodonik peroksid stvoreni katalitičkom aktivnošću lipoksigenaze i drugih oksidativnih enzima, mogu imati ulogu u redoks reakcijama proteina i arabinoksilana tokom mešenja. S druge strane visoka aktivnost lipoksigenaze može negativno uticati na nutritivna svojstva gotovih proizvoda. Katališući oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina, lipoksigenaza uslovljava formiranje nestabilnih hidroperoksida odgovornih za dalju oksidaciju karotenoida (*Serpen i Gokmen, 2006*).

U skladu sa istraživanjima *Leenhardt i sar. (2006b)*, *Žilić i sar. (2010, 2012a)*, aktivnost lipoksigenaze je u uzorcima hlebne pšenice gajene u kišnoj godini u proseku bila viša za 1,3 puta od aktivnosti u uzorcima durum pšenice. U brašnu ispitivanih genotipova hlebne i durum pšenice aktivnost lipoksigenaze se kretala od 456-1019 Δ aps/min/g, odnosno od 514-621 Δ aps/min/g (Grafik 4.1.). Kako lipoksigenaza indirektno katališe procese oksidacije slobodnih sulfhidrilnih grupa, a samim tim i intezivnije formiranje disulfidnih veza (*Fraizer, 1977*), njen viši sadržaj u brašnu genotipova hlebne pšenice ukazuje da će testo dobijeno od ovih genotipova pšenice imati povoljnije reološke karakteristike. Vrednosti aktivnosti lipoksigenaze su se naredne godine znatno razlikovale i kod genotipova hlebne pšenice su u proseku bile 2,6 puta niže. Ova činjenica ukazuje na značajan uticaj sredine na aktivnost lipoksigenaze u brašnu genotipova hlebne pšenice (63,02%), dok su faktor genotip i interakcija genotipa i sredine učestvovali sa 16,98% i 19,99% na ukupno variranje (Tabela 4.11.). Kod durum genotipova pšenice ustanovljen je obrnut trend, pa je faktor genotip sa 67,30% imao dominantan uticaj na aktivnost lipoksigenaze.



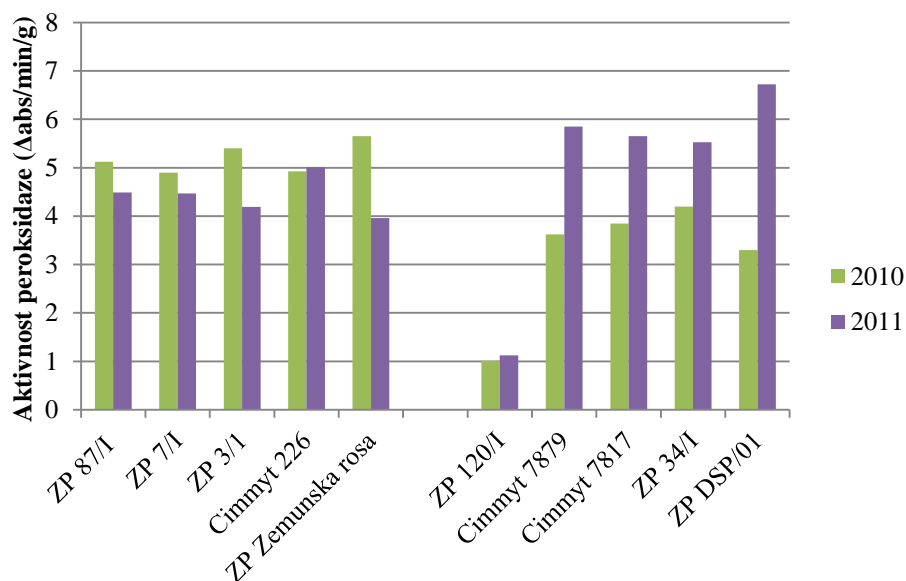
Grafik 4.1. Aktivnost lipoksigenaze u brašnu hlebne i durum pšenice

Pored izoenzima lipoksigenaza, peroksidaze su takođe enzimi koji se prirodno nalaze u pšeničnom brašnu. Prema rezultatima *Žilić i sar. (2012a)*, prosečna aktivnost peroksidaza u mekinjama durum pšenice bila je za 3,7 puta viša u odnosu na aktivnost u belom brašnu, što nije bio slučaj kod hlebne pšenice. Ovi rezultati ukazuju na postojanje više izoformi peroksidaze u zrnju durum pšenice koje su tkivno specifične, a smatra se da svaka od njih ima i specifičnu funkciju. Aktivnost peroksidaze se u ispitivanim uzorcima brašna hlebne pšenice kretala od 4,90 do 5,65 $\Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$, odnosno od 3,96 do 5,01 $\Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$ u kišnoj i sušnoj godini (Grafik 4.2.). Kod brašna durum genotipova pšenice je uočena znatno niža aktivnost peroksidaze u kišnoj godini (u proseku 3,20 $\Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$), dok su u sušnoj godini vrednosti bile 1,6 puta više (u proseku 4,98 $\Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$). Dominantan uticaj genotipa koji su u svom istraživanju ustanovili *Žilić i sar. (2010)*, je potvrđen i u ovom istraživanju (Tabela 4.11.).

U ranijim istraživanjima je potvrđeno da peroksidaze, kao enzim koji katališe oksidaciju fenolnih jedinjenja, utiču na poboljšanje obrade testa, njegovu stabilnost, strukturu sredine i volumen hleba (*Hilhorst i sar., 1999*), pa se može očekivati da će genotip ZP Zemunska rosa, koji je imao najvišu vrednost aktivnosti peroksidaze (5,65 $\Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$) imati dobre reološke karakteristike testa koje će rezultovati dobrim kvalitetom

gotovog proizvoda. Pozitivan uticaj peroksidaza se ogleda u unakrsnom povezivanju arabinoksilana u velike molekule, a one takođe katalizuju umrežavanje proteina putem disulfidnih veza (Manu i Prasada Rao, 2011). Međutim, treba imati u vidu da ove reakcije umrežavanja mogu uticati na svarljivost proteina i glikemijski indeks gotovih proizvoda.

Poznavanje uticaja lipoksigenaza i peroksidaza na reološke karakteristike testa i gotovog proizvoda, može biti korisna u selekcionerskim programima razvoja novih genotipova pšenice.



Grafik 4.2. Aktivnost peroksidaze u brašnu hlebne i durum pšenice

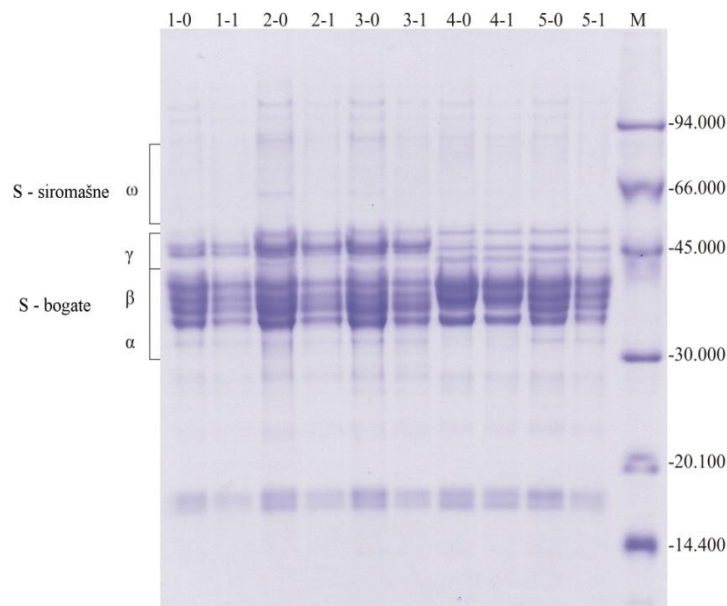
Tabela 4.11. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na aktivnost lipoksigenaze i peroksidaze u brašnu genotipova hlebne i durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Hlebna pšenica						
LOX	48,86**	16,98	725,28**	63,02	57,52**	19,99
POD	1,22	3,17	91,17**	59,40	14,37**	37,43
Durum pšenica						
LOX	11,49**	67,30	1,59	2,33	5,19**	30,37
POD	451,58**	67,83	624,10**	23,43	58,19**	8,74

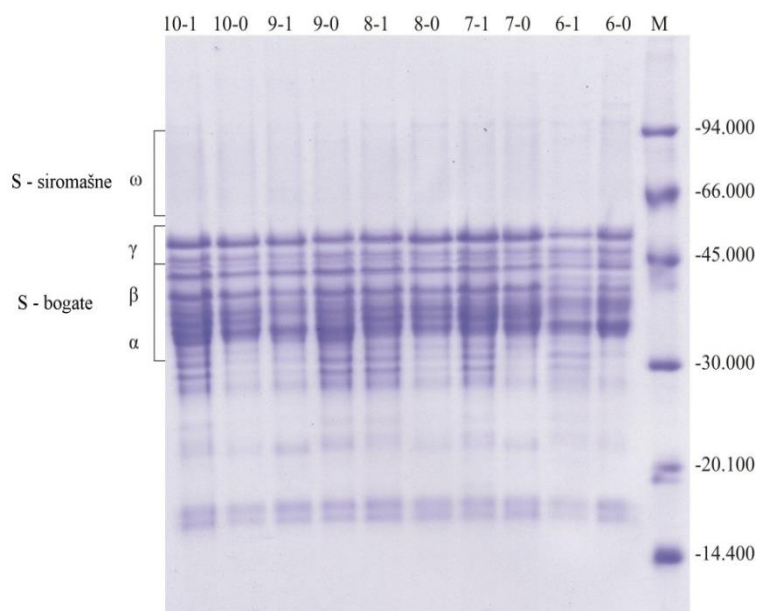
** značajnost za $p < 0,05$

4.1.3.2. Polipeptidni sastav glijadinske frakcije identifikovan SDS-PAGE

Primenjenom SDS-elektroforetskom analizom glijadinske frakcije proteina brašna hlebne i durum pšenice uočene su tri dominantne proteinske zone: zona polipeptida sa molekulskim masama od 76,20-65,65 kDa (ω -glijadini), zona sa molekulskim masama od 50,80-44,10 kDa (γ -glijadini) i zona sa molekulskim masama od 41,70-32,0 kDa (α/β -glijadini) (Slika 4.3. i 4.4.). Međutim, na elektroforegramima glijadinske frakcije proteina durum pšenice može se uočiti odsustvo proteinske zone sa molekulskim masama od 76,20-65,65 kDa (Slika 4.4.). Razlika između hlebnih i durum sorti pšenice se može uočiti i u zoni molekulskih masa između 32,0-17,10 kDa, u kojoj su genotipovi durum pšenice imali veći broj polipeptida. Polipeptid molekulske mase od 44,10 kDa bio je prisutan kod svih durum genotipova, dok kod većine hlebnih genotipova ovaj protein nije detektovan. Odsustvo nekih polipeptida koji pripadaju γ -glijadinima hlebne pšenice i spelte iz USDA, Kanadske i Švajcarske kolekcije su potvrđene u rezultatima *Abdel-Aal i sar. (1996)*.



Slika 4.3. SDS-Elektroforetska analiza glijadinske frakcije proteina brašna hlebne pšenice; 1-ZP 87/I, 2-ZP 7/I, 3-ZP 3/I, 4-Cimmyt 226, 5- ZP Zemunska rosa. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard



Slika 4.4. SDS-Elektroforetska analiza glijadinske frakcije proteina brašna durum pšenice; 1-ZP 120/I, 2-Cimmyt 7879, 3-Cimmyt 7817, 4-ZP 34/I, 5- ZP DSP. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard

Denzitometrijskom analizom je utvrđeno da su sumporom bogate subjedinice glijadina dominantne kako kod hlebnih tako i kod durum sorti pšenice (Tabela 4.12. i 4.14.). Ove proteinske subjedinice čine, u zavisnosti od sorte hlebne pšenice, od 66,95-73,66% (kišna godina) i od 65,55-77,6% (sušna godina) ekstrahovanih proteina (Tabela 4.12.). U saglasnosti sa *Žilić i sar. (2011a)*, genotipovi hlebne pšenice su imali visoku koncentraciju α/β i γ -glijadina i nisku koncentraciju ω -glijadina. Odnos α/β - i γ -glijadina u odnosu sa ω -glijadinima utiče na sadržaj aminokiselina sa sumporom, kvalitet proteina, strukturu i funkcionalnost glutena.

U okviru sumporom bogatih subjedinica, α/β -glijadini su bili zastupljenija grupa u odnosu na γ -glijadine i njihov sadržaj se kretao od 49,25 do 57,79%, odnosno od 47,57 do 59,12%, u brašnu hlebne pšenice gajene u kišnoj i sušnoj godini. Kako ova grupa glijadina ima velikog uticaja na povećanje volumena hleba (*Khatkar i sar., 2002*), genotip sa najvišim sadržajem α/β -glijadina u obe ispitivane godine ZP 87/I (sa 78,46% i 76,19% od ukupnih sumporom bogatih proteina) se može koristiti kao poboljšivač u selekcionerskom programu.

Sumporom siromašne subjedinice (ω -glijadini) su se, u zavisnosti od genotipa hlebne pšenice, sastojale od jednog ili dva polipeptida i prema dobijenim rezultatima ove glijadinske subjedinice su se odlikovale visokom heterogenošću sa koeficijentom varijacije od 25,46% (kišna godina) i 21,0% (sušna godina). Treba napomenuti da prema istraživanju *Fido i sar.* (1997) ω -glijadini imaju najnepovoljniji uticaj na jačinu testa, pa je njihov nizak prosečan sadržaj od 4,69%, odnosno 3,68% u kišnoj i sušnoj godini, povoljan za reološke karakteristike testa.

Na sadržaj i kompoziciju glijadina sredina utiče na više različitih načina (*Horvath, 2014*), pa tako više temperature i veća količina azota povećavaju odnos proteina i glijadina u brašnu, dok u isto vreme viša temperatura ima štetan uticaj na kvalitet proteina i glijadina. Oba faktora utiču na povećanje sadržaja ω -glijadina, dok sadržaj α/β -glijadina raste sa povećanjem temperature ili smanjenjem dodatka azota, a sadržaj γ -glijadina se smanjuje sa povećanjem temperature, a raste sa povećanjem dodatka azota. U ovom istraživanju uticaj sredine nije bio dominantan, za razliku od faktora genotipa koji je imao veliki uticaj na ω -, γ -, α/β -glijadinske grupe u brašnu hlebne pšenice i iznosio je 50,06%, 91,51%, odnosno 93,82% (Tabela 4.13.).

Tabela 4.12. Polipeptidni sastav glijadinske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu hlebne pšenice

		Hlebna pšenica												
		2010						2011						
Subjedinice	Grupe	Polipeptid molekulska masa (kDa)	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	CIM 226	ZP Z.rosa	CV	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	CIM 226	ZP Z.rosa	CV
		102,10	1,67	1,56	1,71	0,36	1,33		2,00	3,07	2,06	2,18	2,33	
		96,05	1,57	1,93	4,13	2,07	2,25		1,93	3,25	2,93	1,60	3,97	
		87,58	3,23	2,11	2,62	1,37	1,99		3,02	2,33	3,24	1,80	3,31	
S-siromašne	ω - Gli	76,20	n.d.	3,33	1,89	2,64	2,60		n.d.	n.d.	n.d.	2,97	2,42	
		65,65	3,80	2,03	2,21	3,84	1,13		3,14	2,70	3,81	1,76	1,62	
		Suma ω - Gli	3,80^{bcd}	5,36^{ab}	4,10^{bcd}	6,48^a	3,73^{cd}	25,46	3,14^{cd}	2,70^d	3,81^{bcd}	4,73^{bc}	4,04^{bcd}	21,5
S-bogate	γ - Gli	50,80	2,74	5,39	4,95	5,99	5,00		3,50	6,10	4,20	4,97	4,24	
		47,10 - 44,80	13,13	15,48	14,84	5,41	6,45		14,98	15,52	16,18	6,05	6,73	
		44,10	n.d.	n.d.	n.d.	4,54	5,04		n.d.	n.d.	n.d.	5,32	5,38	
		Suma γ - Gli	15,87^d	20,87^a	19,79^{ab}	15,94^d	16,49^{cd}	13,27	18,48^{bc}	21,62^a	20,38^{ab}	16,34^{cd}	16,35^{cd}	17,7
	α/β-Gli	41,70 - 34,50	52,37	43,93	45,45	51,44	46,68		53,57	44,51	46,33	48,81	45,22	
		32,00	5,42	5,62	3,80	3,12	3,78		5,55	3,06	3,89	2,79	3,98	
		Suma α/β - Gli	57,79^a	49,55^{cd}	49,25^{cd}	54,56^b	50,46^{cd}	7,12	59,12^a	47,57^d	50,22^{cd}	51,60^{bc}	49,20^{cd}	8,7
		28,30	4,02	4,13	4,22	3,37	6,88		5,74	3,27	4,44	4,47	2,52	
		23,10	2,51	3,26	1,92	2,54	3,55		5,91	3,67	2,99	2,80	3,53	
		17,90 - 17,10	9,53	11,22	12,20	13,29	13,31		0,65	12,49	9,92	14,47	14,74	
Ukupno														
S-siromašne subjedinice	Suma ω-Gli		3,80 ^{bcd}	5,36 ^{ab}	4,10 ^{bcd}	6,48 ^a	3,73 ^{cd}		3,14 ^{cd}	2,70 ^d	3,81 ^{bcd}	4,73 ^{bc}	4,04 ^{bcd}	
S-bogate subjedinice	Suma γ+α/β-li		73,66 ^{ab}	70,42 ^{bcd}	69,04 ^{cd}	70,50 ^{bc}	66,95 ^{cd}		77,6 ^a	69,19 ^{cd}	70,6 ^{bc}	67,94 ^{cd}	65,55 ^d	
S-siromašne + S-bogate			77,46 ^{ab}	75,78 ^{bcd}	73,14 ^{bcd}	76,98 ^{abc}	70,68 ^{ef}		80,74 ^a	71,89 ^{def}	74,41 ^{bcde}	72,67 ^{cdef}	69,59 ^f	
S-siromašne/S-bogate odnos			0,05 ^{cd}	0,08 ^{ab}	0,06 ^{bcd}	0,09 ^a	0,06 ^{bcd}		0,040 ^d	0,039 ^d	0,054 ^{bcd}	0,070 ^{abc}	0,062 ^{bcd}	

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Tabela 4.13. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na grupe glijadina u brašnu genotipova hlebne pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
ω - Gli	14,09**	50,06	26,68**	23,69	7,39**	26,26
γ - Gli	102,25**	91,51	17,03**	3,81	5,23**	4,68
α/β -Gli	233,59**	93,82	11,02**	1,11	12,62**	5,07
Suma $\gamma+\alpha/\beta$ -Gli	82,09**	86,88	0,03	0,01	12,39**	13,11
S-siromašne + S-bogate	47,19**	77,69	5,15	2,12	12,26**	20,19
S-siromašne/S-bogate odnos	15,97**	55,61	24,20**	21,07	6,69**	23,32

** značajnost za $p < 0,05$

Kod durum genotipova ω -glijadini nisu detektovani, a prema *Nizar (2002)* oni se mogu detektovati korišćenjem poliakrilamid gel elektroforezom u kiselim uslovima (A-PAGE). Rezultati denzitometrijske analize pokazuju, da su sumporom bogate subjediniice, kao dominantne subjediniice glijadina (Tabela 4.14.), bile statistički značajno više u kišnoj nego u sušnoj godini. Njihov sadržaj u kišnoj i sušnoj godini bio je najviši kod genotipa ZP 120/I sa 79,47%, odnosno 68,57%. U okviru sumporom bogatih glijadina, γ -glijadini 45 i 42, su prema *Kudryavtsev i sar. (1996)* neprocenjivi za identifikaciju polimorfizma glijadina i njihovih genetskih razlika, dok prema *Oak i sar. (2004)*, na jačinu glutena kod durum pšenica najveći uticaj ima γ -glijadin 43, pa γ -glijadin 44 i na kraju γ -glijadin 45. Udeo ovih polipeptida je bio ujednačen u obe godine, što ukazuje da je genotip (30,30%) imao značajniji uticaj na ove grupe glijadina u poređenju sa sredinom (3,69%) (Tabela 4.15). Polipeptidi u okviru α/β -glijadina sa molekulskim masama od 41,70 do 34,50 kDa, kao najzastupljeniji polipeptidi, bili su dominantniji u kišnoj u poređenju sa sušnom godinom, što ukazuje na promene na pojedinačnim glijadinskim polipeptidima. U okviru ove grupe glijadina utvrđen je nizak stepen heterogenosti sa koeficijentom varijacije od 12,14%, odnosno 4,22% u kišnoj i sušnoj godini.

Tabela 4.14. Polipeptidni sastav glijadinske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu durum pšenice

		Durum pšenica												
		2010						2011						
Subjedinice	Grupe	Polipeptid molekulska masa (kDa)	ZP 120/I	CIM 7879	CIM 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01	CV	ZP 120/I	CIM 7879	CIM 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01	CV
		96,05	1,30	1,43	1,12	0,48	0,91		2,13	1,44	1,09	0,50	0,65	
S-siromašne	ω -Gli		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	Suma ω -Gli		-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	0
		50,80	11,14	12,10	11,56	8,66	11,74		9,57	10,60	8,45	11,42	8,93	
	γ - Gli	47,10 - 44,80	n.d.	7,53	6,88	6,95	8,62		7,42	7,75	6,00	7,31	7,21	
		44,10	13,85	6,71	6,61	7,34	7,40		7,42	7,10	6,96	7,10	7,31	
S-bogate	Suma γ - Gli		24,99^{abc}	26,34^{ab}	25,05^{abc}	22,95^{bc}	27,76^a	7,02	24,41^{abc}	25,45^{ab}	21,41^c	25,83^{ab}	23,45^{bc}	7,35
	α/β -Gli	41,70 - 34,50	50,60	43,99	38,49	38,17	43,10		40,46	37,34	35,04	40,99	37,13	
		31,40	3,88	3,70	3,55	1,94	2,91		3,70	4,70	4,29	n.d.	4,29	
	Suma α/β-Gli		54,48^a	47,69^b	42,04^d	40,11^{ef}	46,01^{bc}	12,14	44,16^c	42,04^d	39,33^f	40,99^{def}	41,42^{de}	4,22
		30,05	5,67	2,78	2,96	5,40	3,56		4,96	5,04	5,30	4,19	5,12	
		28,90	1,66	2,03	3,05	5,20	2,46		5,11	4,35	5,19	3,28	4,54	
		27,60	1,60	4,56	5,65	7,56	4,74		3,83	5,36	7,23	6,19	6,57	
		24,05	n.d.	n.d.	1,78	2,09	n.d.		1,50	2,29	2,52	n.d.	2,42	
		21,40	2,78	3,61	4,88	6,33	3,15		4,43	4,08	4,80	6,49	5,27	
		17,90 - 17,10	12,44	11,53	13,44	9,88	11,40		8,82	9,96	13,11	12,54	10,56	
Ukupno														
S-siromašne subjedinice	Suma ω -Gli		-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	
S-bogate subjedinice	Suma $\gamma+\alpha/\beta$ -Gli		79,47 ^a	74,03 ^{ab}	67,09 ^c	63,06 ^{cd}	73,77 ^b		68,57 ^{bc}	67,49 ^c	60,74 ^d	66,82 ^c	64,87 ^{cd}	
S-siromašne + S-bogate			79,47 ^a	74,03 ^{ab}	67,09 ^c	63,06 ^{cd}	73,77 ^b		68,57 ^{bc}	67,49 ^c	60,74 ^d	66,82 ^c	64,87 ^{cd}	
S-siromašne/S-bogate odnos			-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Kao i kod genotipova hlebne pšenice, i kod genotipova durum pšenice genotip je bio dominantan faktor u slučaju α/β -grupe glijadina (55,32%) i ukupnih sumporom bogatih glijadina (48,66%), dok je kod γ -glijadina najviše uticaja imala interakcija genotipa i sredine sa 55,24% (Tabela 4.15.). Uticaj sredine na glijadine se prema *Panozzo i Eagles (2000)* kretao od 40,3-48,6%, dok je u ovom istraživanju faktor sredine na različite subjedinice glijadina uticao sa 14,45-29,11%.

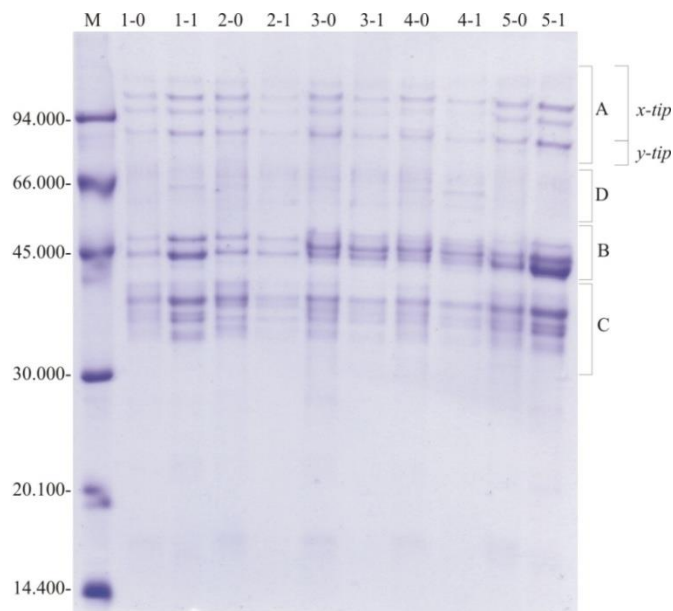
Tabela 4.15. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na grupe glijadina u brašnu genotipova durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
ω - Gli	0	0	0	0	0	0
γ - Gli	4,70**	30,30	8,97**	14,45	8,57**	55,24
α/β -Gli	927,24**	55,32	1790,72**	26,71	301,25**	17,97
Suma $\gamma+\alpha/\beta$ -Gli	59,07**	48,66	141,35**	29,11	27,00**	22,24
S-siromašne + S-bogate	59,07**	48,66	141,35**	29,11	27,00**	22,24
S-siromašne/S-bogate odnos	0	0	0	0	0	0

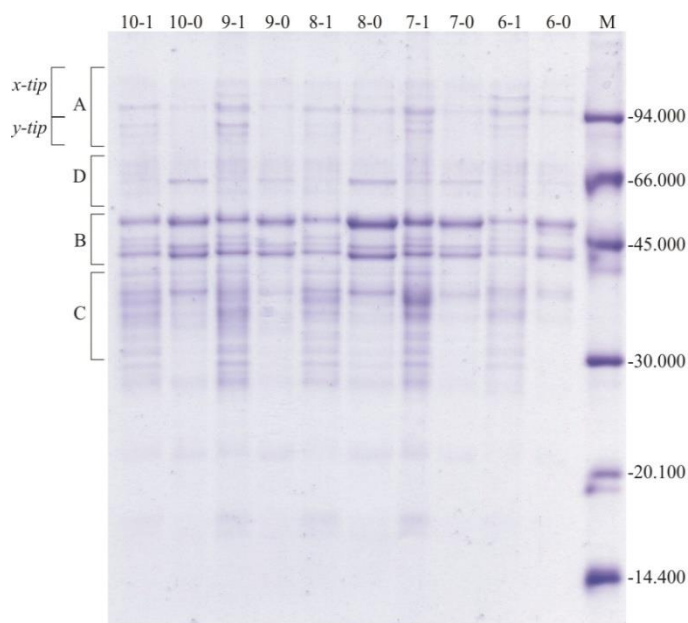
** značajnost za $p < 0,05$

4.1.3.3. Polipeptidni sastav gluteninske frakcije identifikovan SDS-PAGE

S obzirom na nerastvorljivu prirodu i izuzetno veliku molekulsku masu, proteinske polimere glutenina je jako teško kvantifikovati. Za njihovu identifikaciju korišćena je elektroforetska analiza uz prethodnu ekstrakciju sa alkoholnim rastvorom DTT-a (Slika 4.5. i 4.6.). U saglasnosti sa istraživanjem *Bietz i Wall (1972)*, elektroforegramima proteina glutenina dominiraju dva tipa subjedinica, subjedinice niskih molekulskih masa (LMW) (30,70 do 74,80 kDa) i subjedinice visokih molekulskih masa (HMW) (80,60 do 110 kDa). Na dobijenim elektroforegramima hlebne i durum pšenice, može se uočiti velika razlika u broju polipeptidnih traka, na kojima genotipovi hlebne pšenice imaju 8 proteinskih traka dok genotipovi durum pšenice imaju i do 17 proteinskih traka. Poređenjem dve ispitivane godine, razlike u zoni malih molekulskih masa (< 30 kDa) su bile izražajne kod genotipova hlebne pšenice, koji većinom nisu posedovali ove polipeptide u sušnoj godini.



Slika 4.5. SDS-Elektroforetska analiza gluteninske frakcije proteina brašna hlebne pšenice; 1-ZP 87/I, 2-ZP 7/I, 3-ZP 3/I, 4-Cimmyt 226, 5- ZP Zemunska rosa. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard



Slika 4.6. SDS-Elektroforetska analiza gluteninske frakcije proteina brašna durum pšenice; 1-ZP 120/I, 2-Cimmyt 7879, 3-Cimmyt 7817, 4-ZP 34/I, 5- ZP DSP. (-0=2010 godina), (-1=2011 godina), M-standard

Denzitometrijskom analizom je utvrđeno da su HMW subjedinice glutenina bile kvantitativno minorne u odnosu na LMW subjedinice glutenina u obe ispitivane godine u hlebnj i u durum pšenici (Tabele 4.16. i 4.18.).

Prosečna vrednost ukupne koncentracije LMW glutenina (B + C + D-grupa) je bila za oko 5,6 puta, odnosno 5,8 puta veća od koncentracije HMW glutenina u kišnoj i sušnoj godini (Tabela 4.16.). Prema *Gianibelli i sar.* (2001) LMW glutenini u glutenu imaju oko tri puta veći udeo u odnosu na HMW glutenine, ali ih je zbog distribucije molekulskih masa teško proučavati, zato što se mešaju sa mnogim drugim polipeptidima u SDS-elektroforegramu brašna. Obzirom da LMW glutenini imaju sekvence koje su homologe sa sekvencama α/β -, γ - i ω -glijadina, elektroforetskom analizom je utvrđeno da su glijadinski i gluteninski elektroforegrami bili slični u ovim oblastima. Sadržaj dominantne C-grupe u okviru LMW glutenina se statistički značajno razlikovao kod svih genotipova hlebne pšenice, sa izuzetkom genotipa Cimmyt 226, koji je imao i najniži sadržaj grupe A-glutenina (HMW glutenini) od svega 4,4% (kišna godina). U okviru HMW subjedinica glutenina (87,80 do 110 kDa), u kišnoj godini je utvrđen izuzetno visok stepen heterogenosti sa koeficijentom varijacije od 53,6%, a genotip ZP 7/I se pokazao kao najbolji izvor istih (25,6% od ukupnih eksahovanih proteina). Prema istraživanju *Payne i sar.* (1987), varijacije specifičnih sekvenci HMW subjedinica glutenina su u snažnoj koleraciji sa razlikama u pecivnim svojstvima između različitih genotipova evropske pšenice. Njihovi rezultati ukazuju da varijacije u okviru HMW subjedinica glutenina čine između 47 i 60% varijacija u pecivnim svojstvima u okviru 84 genotipa pšenice uzgajanih u Britaniji. S obzirom na ograničen stepen varijacija u sastavu HMW gluteninskih subjedinica kod evropskih pšenica (*Shewry i sar., 2001*), ispitivani genotipovi hlebne pšenice se mogu koristiti u programu oplemenjivanja, kako bi se uvele dodatne varijacije i utvrdio efekat HMW subjedinica na funkcionalna svojstva brašna.

Tabela 4.16. Polipeptidni sastav gluteninske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu hlebne pšenice

		Hlebna pšenica													
		2010						2011							
Subjedinice	Grupe	Polipeptid molekulska masa (kDa)	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	CIM 226	ZP Z.rosa	CV	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	CIM 226	ZP Z.rosa	CV	
HMW	A-Glu	108,70	1,50	2,14	2,08	0,86	0,44		1,12	4,05	3,91	0,44	0,46		
		102,80	4,69	5,14	4,65	3,48	4,23		3,96	5,96	4,37	1,53	4,29		
		96,20	4,02	4,85	4,51	1,30	2,99		2,63	7,58	3,73	0,44	2,70		
		87,80	4,95	4,80	7,60	5,34	3,61		4,36	7,99	5,91	2,00	5,49		
	Suma A - Glu		15,15^d	16,93^c	18,84^b	10,98^f	11,27^f	22,39	12,07^{ef}	25,58^a	17,91^{bc}	4,40^g	12,94^e	53,60	
	D-Glu	71,05-65,00	16,97	10,36	8,18	16,69	9,19		7,75	24,02	13,98	16,20	7,17		
	Suma D - Glu		16,97^b	10,36^d	8,18^{de}	16,69^b	9,19^{de}	34,43	7,75^{de}	24,02^a	13,98^c	16,20^{bc}	7,17^e	49,96	
LMW	B-Glu	50,25-43,00	19,29	22,17	31,51	32,11	30,02		28,36	19,90	44,95	42,22	38,06		
		Suma B - Glu	19,29^g	22,17^f	31,51^d	32,11^d	30,02^{de}	21,77	28,36^e	19,90^g	44,95^a	42,22^b	38,06^b	29,95	
		C-Glu	40,90-34,95	45,26	44,50	37,50	35,83	47,45		48,06	30,50	23,16	37,18	41,83	
		Suma C - Glu	45,26^{bc}	44,50^c	37,50^e	35,83^e	47,45^{ab}	12,16	48,06^a	30,50^f	23,16^g	37,18^e	41,83^d	26,82	
		16,20	3,33	6,03	3,97	4,40	2,06		3,77	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
Ukupno															
HMW	A-Glu		15,15 ^d	16,93 ^c	18,84 ^b	10,98 ^f	11,27 ^f		12,07 ^{ef}	25,58 ^a	17,91 ^{bc}	4,40 ^g	12,94 ^e		
LMW	D+B+C-Glu		81,52 ^c	77,03 ^d	77,19 ^d	84,63 ^{bc}	86,66 ^b		84,17 ^{bc}	74,42 ^d	82,09 ^c	95,60 ^a	87,06 ^b		
HMW+LMW			96,67 ^{bc}	93,96 ^c	95,19 ^{bc}	95,61 ^{bc}	97,93 ^{ab}		96,24 ^{bc}	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a		
HMW/LMW			0,19 ^d	0,22 ^c	0,24 ^b	0,13 ^e	0,13 ^e		0,14 ^e	0,34 ^a	0,22 ^c	0,05 ^f	0,14 ^e		

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Sredina i genotip pšenice imaju uticaja na procentualni udeo glijadina i glutenina, međutim treba imati u vidu da su glutenini manje osetljivi na klimatske uslove (*Graybosch i sar., 1995*). Sinteza glutenina je manje osetljiva na uticaj sredine jer nastupa u kasnijoj fazi razvoja zrna i manje zavisi od translokacije azotnih komponenata iz listova i drugih biohemijskih procesa unutar zrna (*Panozzo i Eagles, 2000*). Na osnovu dobijenih rezultata, faktor genotip je bio značajan izvor varijacija za HMW glutenine, B-LMW, C-LMW, ukupne LMW i odnos HMW/LMW (Tabela 4.17.). Ovi rezultati u saglasnosti su sa *Daaloul Bouacha i sar. (2015)* i *Luo i sar. (2000)* koji su utvrdili da je sadržaj HMW i LMW glutenina genetski kontrolisan i da je taj faktor jedini značajan izvor kvantitativnih varijacija HMW i LMW glutenina. Pored ovoga, *Fuertes-Mendiz i sar. (2010)* su ustanovili da je relativan odnos HMW gluteninskih subjedinica u snažnoj vezi sa genetičkim odrednicama. Odnos HMW/LMW glutenina je bio pod velikim uticajem genotipa sa 78,76% i pokazao je veliku međugenotipsku varijaciju. Interakcija genotipa i sredine je imala dominantan uticaj kod D-glutenina i iznosila je 55,47%, faktor genotip je učestvovao sa 42,30% a sredina sa 2,23% (Tabela 4.17.).

Generalno, na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je mali uticaj sredine na glutenine izuzetno povoljan, jer se samim odabirom genotipa sa dobrim kvalitativnim i kvantitativnim odnosom ovih grupa proteina može uticati povoljno na tehnološka svojstva brašna. U oplemenjivačkim programima selekcija na određeni sadržaj i sastav glutenina je izuzetno poželjna, zbog uticaja ovih proteina na snagu i rastegljivost glutena koji su neophodni za dobre karakteristike pekarskih proizvoda.

Tabela 4.17. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na grupe glutenina u brašnu genotipova hlebne pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
A-Glu	1125,38**	77,59	0,12	0,002	325,08**	22,41
D-Glu	110,94**	42,30	23,37**	2,23	145,48**	55,47
B-Glu	757,57**	69,71	892,48**	20,53	106,08**	9,76
C-Glu	710,90**	61,12	725,92**	15,60	270,75**	23,28
LMW (D+B+C-Glu)	176,83**	76,64	72,51**	7,83	35,82**	15,53
HMW + LMW	6,91**	16,52	94,65**	56,55	11,27**	26,93
HMW/LMW	818,16**	78,76	0,62**	0,015	220,38**	21,22

** značajnost za $p < 0,05$

Genotipovi durum pšenice su imali znatno veći broj dominantnih polipeptida glutenina od genotipova hlebne pšenice, pogotovo u oblasti od 30,70 do 74,80 kDa u poređenju sa genotipovima hlebne pšenice. Sadržaj LMW glutenina se u genotipovima durum pšenice kretao od 74,76% do 88,44%, odnosno od 70,67% do 74,98% ukupnih ekstrahovanih proteina u kišnoj i sušnoj godini (Tabela 4.18.). LMW glutenini utiču mnogo manje na tehnološke karakteristike hleba od HMW glutenina, ali su one glavne determinante za tehnološke karakteristike i pripremu testenina od durum pšenice (*Autran i sar., 1987*). Relativan sadržaj LMW glutenina je povišen kod visoko kvalitetnih genotipova durum pšenice (*Masci i sar., 1995*). Najviši sadržaj LMW glutenina u kišnoj i sušnoj godini od 88,44%, odnosno 75,98% od ukupnih ekstrahovanih proteina, imao je genotip ZP 120/I (Tabela 4.17.). U okviru ove subjedinice glutenina, može se uočiti da se sadržaj D-, B- i C-grupe statistički značajno razlikovao u dve ispitivane godine i da je ustanovljen visok stepen varijacija (34,41%, 35,45% i 36,98%) u pšenici gajenoj u sušnoj godini. Ovako visok stepen varijacija prisutan u gluteninima LMW, ukazuje na mogući izvor poželjnih gena u selekciji pšenice za poboljšanje tehnoloških karakteristika brašna za različite gotove proizvode.

Udeo A-grupe proteina koji odgovara HMW gluteninima je u proseku iznosio 9,51% odnosno 12,62% u kišnoj i sušnoj godini, a genotip sa najvišim sadržajem ove grupe glutenina u dve ispitivane godine bio je ZP 120/I (11,55% i 17,82%). Dobijen niži sadržaj glutenina visokih molekulskih masa kod uzoraka durum pšenice u kišnoj godini može imati negativan uticaj na tehnološka svojstva glutena, čineći ga čvrstim i neelastičnim.

Za razliku od hlebnih genotipova pšenice gde je genotip bio glavni izvor varijacija, kod durum genotipova je faktor sredine dominantan izvor varijacija za D-LMW, ukupne LMW-glutenine i HMW/LMW (48,56%, 50,43% i 42,27%) (Tabela 4.19.). Uticaj interakcije faktora (36,53%) u slučaju B-LMW glutenina je bio neznatno veći od uticaja faktora genotipa (33,46%). Iako su prema *Graybosch i sar. (1995)* glutenini manje osetljivi na uticaj sredine, *Spiertz i sar. (2006)* su ustanovili da temperaturene promene, kao što je „toplotni stres“ u kontrolisanim uslovima, imaju pozitivan uticaj na relativan sadržaj glutenskih makropolimera i veličinu njihovih agregata.

Tabela 4.18. Polipeptidni sastav gluteninske frakcije identifikovan SDS-PAGE i sadržaj identifikovanih polipeptida u brašnu durum pšenice

		Durum pšenica													
		2010					2011								
Subjedinice	Grupe	Polipeptid molekulska masa (kDa)	ZP 120/I	CIM 7879	CIM 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01	CV	ZP 120/I	CIM 7879	CIM 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01	CV	
HMW	A-Glu	110,00	3,23	5,08	1,99	2,92	1,75		2,08	1,30	1,71	2,15	1,42		
		102,80	6,53	n.d.	3,58	3,03	1,18		3,74	1,43	1,07	1,40	3,12		
		96,20	1,79	4,94	2,72	1,36	1,44		5,22	4,34	2,70	3,61	1,74		
		87,80	n.d.	n.d.	2,06	n.d.	1,16		4,42	2,03	1,83	3,24	2,57		
		80,60	n.d.	n.d.	0,90	n.d.	1,87		2,36	2,55	2,35	2,59	2,14		
Suma A - Glu			11,55^{bc}	10,02^{cd}	11,25^{bc}	7,31^e	7,40^{de}	39,42	17,82^a	11,65^{bc}	9,66^{cde}	12,99^b	10,99^{bc}	24,91	
LMW	D-Glu	74,80	n.d.	7,94	5,08	19,75	6,45		12,75	5,62	n.d.	13,02	12,60		
		60,20	20,25	6,87	6,29	n.d.	6,09		4,33	2,12	13,16	n.d.	n.d.		
		52,60	27,80	26,68	20,83	17,74	17,96		22,10	10,49	8,75	7,67	9,43		
	Suma D - Glu			48,05^a	41,49^b	32,20^d	37,49^c	30,50^d	18,79	39,18^c	18,23^f	21,91^e	20,69^e	22,03^e	34,41
	B-Glu	47,20-43,50	19,73	19,55	17,74	21,55	20,77		24,89	13,18	12,95	12,48	12,69		
Suma B - Glu			19,73^c	19,55^c	17,74^d	21,55^b	20,77^{bc}	7,25	24,89^a	13,18^e	12,95^e	12,48^e	12,69^e	35,45	
C-Glu	41,50	15,69	14,24	4,44	4,42	5,31		3,87	5,11	4,93	4,46	4,76			
	40,90-34,95	4,38	3,93	13,52	9,07	25,53		8,04	30,07	30,35	34,13	31,28			
	30,70	0,59	1,45	4,38	4,34	n.d.		n.d.	4,08	4,83	4,05	4,34			
Suma C - Glu			20,66^e	19,62^e	24,82^d	21,63^e	30,84^c	19,28	11,91^f	39,26^b	40,11^b	42,64^a	40,38^{ab}	36,98	
		29,50	n.d.	n.d.	2,48	3,80	n.d.		n.d.	4,05	4,18	1,80	3,76		
		28,00	n.d.	n.d.	5,18	n.d.	n.d.		2,63	5,69	5,86	5,08	4,26		
		21,90	n.d.	3,96	4,77	2,61	4,68		1,94	1,08	2,36	1,36	3,27		
		17,80	n.d.	3,04	2,75	5,16	3,61		1,59	1,93	2,16	2,44	2,62		
		16,20	n.d.	2,29	1,22	4,24	1,80		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
Ukupno															
HMW	A-Glu		11,55 ^{bc}	10,02 ^{cd}	11,25 ^{bc}	7,31 ^e	7,40 ^{de}		17,82 ^a	11,65 ^{bc}	9,66 ^{cde}	12,99 ^b	10,99 ^{bc}		
LMW	D+B+C-Glu		88,44 ^a	80,66 ^b	74,76 ^c	80,67 ^b	82,11 ^b		75,98 ^c	70,67 ^d	74,97 ^c	75,81 ^c	75,10 ^c		
HMW+LMW			99,99 ^a	90,68 ^{bc}	86,01 ^{def}	87,89 ^{cde}	89,51 ^{cd}		93,80 ^b	82,32 ^f	84,63 ^{ef}	88,80 ^{cde}	86,09 ^{def}		
HMW/LMW			0,13 ^c	0,12 ^c	0,15 ^{bc}	0,09 ^d	0,09 ^{bc}		0,23 ^a	0,16 ^b	0,13 ^c	0,17 ^b	0,15 ^{bc}		

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Tabela 4.19. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na grupe glutenina u brašnu genotipova durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
A-Glu	39,91**	44,35	108,46**	30,13	22,96**	25,51
D-Glu	1171,12**	42,80	5315,16**	48,56	236,62**	8,65
B-Glu	286,94**	33,46	1029,23**	30,00	313,31**	36,53
C-Glu	606,38**	42,52	1717,75**	30,11	390,20**	27,36
LMW (D+B+C-Glu)	126,38**	28,95	880,67**	50,43	90,03**	20,62
HMW + LMW	92,26**	73,27	75,49**	14,99	14,79**	11,74
HMW/LMW	34,68**	29,27	200,30**	42,27	33,71**	28,45

** značajnost za $p < 0,05$

4.1.4. Sadržaj triptofana, koncentracija cisteina, slobodnih SH grupa, disulfidnih veza i antioksidativni kapacitet glutena hlebne i durum pšenice

Prisustvo cisteina i disulfidnih veza ima prevashodno strukturnu ulogu u proteinima i determiniše tehnološka svojstva pšeničnog brašna. Formiranje mreže glutena tokom mešanja testa je omogućeno putem inter- i intramolekularnih disulfidnih veza, unakrsnim umrežavanjem glijadinske frakcije i unutar i između gluteninskih polimera, formiranih usled oksidacije sulfhidrilnih grupa i razmene -SH-SS (*Johanson i sar., 2013*). Rezultati dobijeni za koncentraciju ukupnog cisteina, disulfidnih veza i slobodnih sulfhidrilnih grupa u glutenu hlebne i durum pšenice su prikazani u tabelama 4.20. i 4.22. Može se uočiti da godina sa manjim varijacijama u koncentraciji cisteina i disulfidnih veza ima veća variranja u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa, i obrnuto (Tabela 4.20.). Koncentracija ukupnog cisteina se u uzorcima glutena genotipova hlebne pšenice u kišnoj i sušnoj godini kretala od 74,31 nmol/mg do 91,84 nmol/mg, odnosno od 42,20 nmol/mg do 61,88 nmol/mg (Tabela 4.20.). Kako cistein poseduje jedinstveno svojstvo da proteinske lance povezuje disulfidnim mostovima, može se zaključiti da genotip sa najnižim sadržajem cisteina u obe ispitivane godine Cimmyt 226 ima najslabiju glutensku mrežu. Viša prosečna koncentracija disulfidnih veza u kišnoj (39,23 nmol/mg) nego u sušnoj godini (25,93 nmol/mg), ukazuje na isti zaključak: genotipovi hlebne pšenice imali su jaču glutensku mrežu u kišnoj nego u sušnoj godini. S obzirom na niži sadržaj sadržaj sumporom bogatih glutenina (B+C-LMW) (Tabela 4.16), genotipovi durum pšenice gajeni

tokom kišne sezone imali su značajno višu koncentraciju cisteina i disulfidnih veza po jedinici sumporom bogatih proteina.

Pored cisteina, u uzorcima je utvrđen i sadržaj ukupnog triptofana koji može reagovati kao oksidaciono sredstvo utičući na formiranje novih disulfidnih veza između pojedinačnih glutenskih proteina (*Indrani i Rao, 2006*). Prema rezultatima prikazanim u Tabeli 4.20. može se uočiti značajna razlika u sadržaju triptofana u dve ispitivane godine. Triptofan je činio od 0,24 do 0,56%, odnosno od 0,50 do 0,69% proteina glutena u kišnoj i sušnoj godini. U proseku, sadržaj triptofana u kišnoj godini bio je 1,5 puta niži od sadržaja triptofana u sušnoj godini. Ova činjenica se može objasniti većom količinom padavina koja uzrokuje manju asimilaciju azota, a kako je prema *Landry i Delhaye (1993)* između triptofana i azota postoji linearna zavisnost, dobijena razlika u sadržaju triptofana je opravdana.

Tabela 4.20. Sadržaj triptofana (%), koncentracija cisteina (nmol/mg s.m.), slobodnih SH grupa (nmol/mg s.m.), disulfidnih veza (nmol/mg s.m.), kao i antioksidativan kapacitet (mmol TroloxEq/kg s.m) u glutenu hlebne pšenice

Genotip	Triptofan	Cistein	Slobodne SH grupe	Disulfidne veze	Antioksidativni kapacitet
Gluten hlebne pšenice 2010					
ZP 87/I	0,56 ^{bc}	82,79 ^{ad}	4,20 ^a	39,29 ^{ab}	86,97 ^{bcde}
ZP 7/I	0,24 ^f	83,56 ^{ab}	3,50 ^a	40,03 ^{ab}	103,09 ^a
ZP 3/I	0,29 ^f	78,11 ^{ab}	3,87 ^a	37,12 ^{ab}	91,54 ^{bcd}
Cimmyt 226	0,45 ^{de}	74,31 ^{ab}	3,84 ^a	35,24 ^{abc}	92,59 ^{bc}
ZP Zemunska rosa	0,39 ^e	91,84 ^a	2,88 ^a	44,48 ^a	94,23 ^b
CV (%)	32,67	8,03	13,68	8,88	6,31
Gluten hlebne pšenice 2011					
ZP 87/I	0,69 ^a	61,88 ^{bc}	0,91 ^b	30,48 ^{abc}	83,35 ^e
ZP 7/I	0,56 ^{bc}	57,83 ^{bc}	1,02 ^b	28,40 ^{bc}	84,26 ^{de}
ZP 3/I	0,50 ^{cd}	44,22 ^c	1,03 ^b	21,59 ^c	85,91 ^{cde}
Cimmyt 226	0,62 ^b	42,20 ^c	0,95 ^b	20,62 ^c	93,88 ^b
ZP Zemunska rosa	0,61 ^b	58,22 ^{bc}	1,12 ^b	28,55 ^{bc}	82,00 ^e
CV (%)	12,02	17,00	8,00	17,32	5,46
Prosek					
Hlebna pšenica 2010	0,39 ^A	82,12 ^A	3,66 ^A	39,23 ^A	93,68 ^A
Hlebna pšenica 2011	0,59 ^A	52,87 ^B	1,01 ^B	25,93 ^B	85,88 ^B

Vrednosti sa istim slovom (malo/veliko) unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti između genotipova određena je Tuckey testom. Razlika srednjih vrednosti proseka po godinama određena je t-testom.

Sadržaj slobodnih -SH grupa je u toku dve ispitivane godine bio znatno različit. Vrednost koncentracije slobodnih -SH grupa se u kišnoj godini kretala od 2,88 do 4,20 nmol/mg s.m. glutena, dok je prosečna vrednost u sušnoj godini bila 3,6 puta niža nego u kišnoj godini. Povišen sadržaj -SH grupa u kišnoj godini ukazuje da je došlo do raskidanja disulfidnih veza neophodnih za formiranje glutena optimalnih tehnoloških karakteristika. Dobijene vrednosti su delimično u skladu sa rezultatima *Rakita i sar. (2014)* u čijem je istraživanju srednja vrednost koncentracije slobodnih -SH grupa u uzorcima pšeničnog glutena iznosila 2,10 $\mu\text{mol/g}$. Dobijene razlike u koncentraciji slobodnih -SH grupa između autora se mogu objasniti različitim poreklom genotipova i/ili različitim načinom gajenja istih.

Johansson i sar. (2013) su ispitivali uticaj genotipa i sredine, kao i njihove interakcije na strukturu glutena i pećivost, i ustanovili su da sadržaj -SH grupa može biti pod uticajem biotičkih i abiotičkih faktora kao što su “toplotni stres” i zaraženost insektima. Rezultati prikazani u Tabeli 4.21. jasno pokazuju da je faktor sredine imao dominantan uticaj na koncentraciju ukupnog cisteina sa 81,14%, slobodnih sulfhidrilnih grupa sa 94,43% i disulfidnih veza sa 77,38%. Uticaj faktora genotip je bio nizak, a u slučaju slobodnih sulfhidrilnih grupa skoro zanemarljiv i iznosio je svega 1,99%. Pored toga, različiti faktori kao što su uslovi tokom razvoja zrna i pre-žetveni uslovi, posledetveno sazrevanje i konvencionalno mlevenje pšeničnog zrna u brašno, mogu uticati na sadržaj slobodnih -SH grupa i disulfidnih veza. Takođe, tokom razvoja zrna, sadržaj sulfhidrilnih grupa se menja i može biti pod uticajem enzimske aktivnosti *Rhazi et al. (2003)*.

Tabela 4.21. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na sadržaj triptofana, koncentraciju cisteina, slobodnih SH grupa, disulfidnih veza, kao i antioksidativan kapacitet glutena hlebne pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Triptofan	158,54**	38,70	920,45**	56,10	20,90**	5,19
Cistein	3,56	16,38	70,52**	81,14	0,54	2,48
Slobodne -SH grupe	1,54	1,99	292,83**	94,43	2,76	3,58
Disulfidne veze	3,87	19,43	61,72**	77,38	0,64	3,20
Antioksidativni kapacitet	12,31**	27,43	71,83**	40,02	14,61**	32,55

** značajnost za $p < 0,05$

Prema rezultatima prikazanim u Tabeli 4.22. sadržaj ukupnog cisteina se u glutenu genotipova durum pšenice kretao od 61,22 do 92,29 nmol/mg, odnosno od 50,78 do 82,38 nmol/mg u kišnoj i sušnoj godini. Dobijene vrednosti su u saglasnosti sa istraživanjem *Žilić i sar. (2012b)* koji su za uzorak glutena genotipa durum pšenice dobili koncentraciju ukupnog cisteina i disulfidnih veza 93,88, odnosno 45,37 nmol/mg. Poređenjem dve ispitivane godine, uočene su niže prosečne vrednosti koncentracije cisteina i disulfidnih veza, kao i viši sadržaj sumporom bogatih glutenina (B+C-LMW) u sušnoj godini, a dobijene vrednosti ukazuju na velike razlike u proteinskoj strukturi i sastavu genotipova durum pšenice u dve ispitivane godine. Genotipovi durum pšenice gajeni tokom kišne sezone imali su značajno višu koncentraciju cisteina i disulfidnih veza po jedinici sumporom bogatih proteina.

Na sadržaj cisteina i disulfidnih veza faktor genotip je pokazao dominantan uticaj (62,83% odnosno 70,97%) dok su faktori sredina (25,87% odnosno 15,84%) i interakcija sredine i genotipa (11,30 i 13,19%) imali manjeg uticaja (Tabela 4.23.). Sadržaj slobodnih -SH grupa, je bio pod snažnim uticajem sredine (96,13%), što pokazuje njihov značajno viši sadržaj u kišnoj u odnosu na sušnu godinu. Viši sadržaj slobodnih -SH grupa takođe ukazuje da su genotipovi u kišnoj godini mogli imati veći potencijal za -SH-SS izmene tokom mešenja testa. Sa najvišom koncentracijom slobodnih sulfhidrilnih grupa u kišnoj godini, istakao se genotip Cimmyt 7879 (5,21 nmol/mg), dok je u narednoj ispitivanoj godini to bio genotip Cimmyt 7817 (0,91 nmol/mg). Prema *Tomić i sar. (2013)* sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa se može povećati odležavanjem pšenice i brašna, a isti trend je ustanovljen prilikom inkubacije glutena povećanjem temperature i vremena.

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 4.22. sadržaj triptofana u genotipovima durum pšenice se značajno razlikovao u dve ispitivane godine. Prosečne vrednost u kišnoj i sušnoj godini su iznosile 0,48%, odnosno 0,53% proteina glutena. Uticaj interakcije genotipa i sredine je bio dominantan sa 49,14%, dok je uticaj faktora genotipa bio 44,57% (Tabela 4.23.).

Tabela 4.22. Sadržaj triptofana (%), koncentracija cisteina (nmol/mg s.m.), slobodnih SH grupa (nmol/mg s.m.), disulfidnih veza (nmol/mg s.m.), kao i antioksidativan kapacitet (mmol TroloxEq/kg s.m) u glutenu durum pšenice

Genotip	Triptofan	Cistein	Slobodne SH grupe	Disulfidne veze	Antioksidativni kapacitet
Gluten durum pšenice 2010					
ZP 120/I	0,68 ^a	92,29 ^a	4,25 ^{bc}	44,02 ^a	88,21 ^{abc}
Cimmyt 7879	0,56 ^{bc}	61,22 ^{bc}	5,21 ^a	28,01 ^{bc}	92,59 ^{ab}
Cimmyt 7817	0,40 ^{de}	74,83 ^{abc}	4,84 ^{ab}	34,99 ^{abc}	93,68 ^a
ZP 34/I	0,38 ^c	84,19 ^{ab}	3,76 ^c	40,21 ^{ab}	88,88 ^{abc}
ZP DSP/01	0,40 ^{de}	61,25 ^{bc}	4,31 ^{bc}	28,47 ^{bc}	85,17 ^{bc}
CV (%)	27,39	18,46	12,57	20,12	3,85
Gluten durum pšenice 2011					
ZP 120/I	0,49 ^{cd}	82,38 ^{ab}	0,88 ^d	40,75 ^{ab}	91,76 ^{ab}
Cimmyt 7879	0,59 ^{ab}	50,78 ^c	0,91 ^d	24,93 ^c	95,26 ^a
Cimmyt 7817	0,60 ^{ab}	58,78 ^{bc}	1,00 ^d	28,89 ^{bc}	92,31 ^{ab}
ZP 34/I	0,48 ^{cd}	53,91 ^c	0,93 ^d	26,49 ^{bc}	81,78 ^c
ZP DSP/01	0,49 ^c	58,38 ^{bc}	0,90 ^d	28,74 ^{bc}	91,84 ^{ab}
CV (%)	11,24	20,52	5,02	20,87	5,66
Prosek					
Durum pšenica 2010	0,48 ^A	74,76 ^A	4,47 ^A	35,14 ^A	89,70 ^A
Durum pšenica 2011	0,53 ^A	60,84 ^A	0,92 ^B	29,96 ^A	90,59 ^A

Vrednosti sa istim slovom (malo/veliko) unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti između genotipova određena je Tuckey testom. Razlika srednjih vrednosti proseka po godinama određena je t-testom.

Tabela 4.23. Uticaj sredine, genotipa i njihove interakcije na sadržaj triptofana, koncentraciju cisteina, slobodnih SH grupa, disulfidnih veza, kao i antioksidativan kapacitet u glutenu durum pšenice

	Genotip		Sredina		G x S	
	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)	F	σ^2 (%)
Triptofan	38,32 ^{**}	44,57	21,71 ^{**}	6,29	41,96 ^{**}	49,14
Cistein	9,78 ^{**}	62,83	16,11 ^{**}	25,87	1,76	11,30
Slobodne -SH grupe	9,25 ^{**}	2,03	1753,31 ^{**}	96,13	8,44 ^{**}	1,84
Disulfidne veze	8,93 ^{**}	70,97	7,97 ^{**}	15,84	1,66	13,19
Antioksidativni kapacitet	10,96 ^{**}	63,07	0,50	0,72	6,29 ^{**}	36,20

** značajnost za $p < 0,05$

Pored velikog uticaja na reološka svojstva testa, treba napomenuti da se cisteinski ostaci ponašaju kao reverzibilni redoks okidači u proteinima utičući na njihov visok antioksidativni potencijal (*Reddie i Carroll, 2008*). Prema istraživanjima *Žilić i sar. (2012b)*, u poređenju sa ostalim aminokiselinama, cistein je imao daleko najvišu ABTS

antiradikalisku aktivnost koja je iznosila 6600,57 mmol Trolox Eq./kg. Antioksidativni potencijal proteina je odavno poznat i predstavlja njihovu važnu funkcionalnu karakteristiku. Vrednosti dobijene za antioksidativni kapacitet glutena genotipova hlebne i durum pšenice, prikazane su u Tabelama 4.20. i 4.22. Antiradikaliska aktivnost glutena genotipova hlebne pšenice je bila u opsegu od 86,97 do 103,09 mmol Trolox Eq./kg (kišna) i od 82,00 do 93,88 mmol Trolox Eq./kg (sušna), dok je kod durum genotipova pšenice ona imala vrednosti od 88,21 do 93,68 mmol Trolox Eq./kg (kišna) i od 81,78 do 95,26 mmol Trolox Eq./kg (sušna). Kako bi se uvidele visoke vrednosti antioksidativnog kapaciteta proteina glutena, dobijene vrednosti se mogu uporediti sa rezultatima *Žilić i sar. (2012b)* koji su dobili da se antioksidativni potencijal belog brašna ZP genotipova hlebne i durum pšenice kretao od 8,13 do 19,55 mmol Trolox Eq./kg. Za razliku od hlebne pšenice, poređenjem dobijenih srednjih vrednosti za antioksidativni potencijal glutena durum pšenice u dve ispitivane godine, može se uočiti da nije bilo značajnih razlika, što se može objasniti velikim uticajem faktora genotipa na antioksidativni kapacitet (63,07%).

Izuzev cistenina na antioksidativni potencijal glutena pšenice utiče aminokiselinski sastav, ali i njihovo okruženje unutar proteina. Prema rezultatima prikazanim u tabeli 4.20. može se uočiti da su uzorci glutena genotipova hlebne pšenice sa višim sadržajem disulfidnih veza imali i viši antioksidativni kapacitet. Upoređujući proteine različitog porekla *Žilić i sar. (2012b)* su istakli da je strukturni molekularni integritet najvažnije svojstvo proteina za ispoljavanje njihovog antioksidativnog potencijala. Prema istraživanjima *Cavazos i de Mejia (2013)*, antioksidativni potencijal pšeničnih proteina prvenstveno je uslovljen visokom frekvencijom bioaktivnih sekvenci HMW glutenina. Dobijene visoke vrednosti antioksidativne aktivnosti pokazuju da se gluten izolovan iz genotipova hlebne i durum pšenice, može koristiti kao odličan dodatak zdravstveno-bezbednoj hrani poboljšanih funkcionalnih svojstava.

Pored visokog antioksidativnog potencijala, treba imati u vidu da skladišni proteini pšenice sadrže raznovrsne bioaktivne sekeve koje mogu imati potencijalnu ulogu u prevenciji hroničnih bolesti. Pojedini bioaktivni peptidi pšenice mogu imati antikancerogenu, antitrombocidnu, antiarnjezijsku, antihipertenzijsku aktivnost, mogu uticati na regulaciju aktivnosti membrane stomadne mukoze ili imati stimulativnu ulogu u

oslobađanju i resorpciji glukoze. Međutim, proteini pšenice, posebno glijadini, imaju visoku frekvenciju sekvenci koje ispoljavaju celijačnu toksičnu aktivnost (*Cavazos i de Mejia, 2013*).

4.2. Reološka svojstva testa hlebne i durum pšenice

Za ispitivanje reoloških svojstava testa tokom zamesa korišćen je farinograf, tokom obrade testa ekstenzograf i za ispitivanje viskoziteta suspenzije voda–brašno amilograf, a dobijene vrednosti prikazane su u tabelama 4.24. i 4.25.

4.2.1. Reološka svojstva testa hlebne pšenice

Farinografska ispitivanja testa genotipova hlebnih pšenica su pokazala da se moć upijanja vode statistički razlikovala poređenjem istih genotipova u dve ispitivane godine. Moć upijanja vode, kao procenat vode koji može da apsorbuje brašno kako bi se dobilo testo željene konzistencije, se prema rezultatima prikazanim u tabeli 4.24. kretala od 59,7 do 66,4% odnosno od 72,7 do 73,8% u kišnoj i sušnoj godini. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima *Nurul Islam i Johansen (1987)*, *Shahzadi i sar. (2005)* i *Hadnađev i sar. (2011a)*, čije su se vrednosti za moć upijanja vode kretale od 60-76%. Veća moć upijanja vode u sušnoj godini se može objasniti prisustvom većeg udela omotača i prehrambenih vlakana u brašnu, koje su bile statistički značajno više u sušnoj nego u kišnoj godini (Tabela 4.2.). Do istog zaključka su dosli i *Hadnađev i sar. (2011a)*, koji su veću moć upijanja vode brašna pripisali prisustvu arabinoksilana, jedne od grupa prehrambenih vlakana. Međutim treba imati u vidu da moć upijanja vode raste i sa porastom sadržaja proteina (*Hefnawy i sar., 2012*), ali da ona zavisi i od procenta oštećenog skroba nastalog mlevenjem pšenice (*Finney et al., 1987; Simmonds, 1989*). S obzirom da je za proces pripreme hleba poželjna visoka moć upijanja vode, jer se tako povećava prinos testa a sa njim i randman hleba, može se zaključiti da genotipovi gajeni u sušnoj godini imaju veći potencijal za ispoljavanje ovih tehno-ekonomskih karakteristika.

Tabela 4.24. Reološki parametri testa hlebne pšenice

	Hlebna pšenica									
	2010					2011				
	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	Cim 226	ZP Z.rosa	ZP 87/I	ZP 7/I	ZP 3/I	Cim 226	ZP Z.rosa
Moć upijanja vode (%)	62,7 ^d	60,3 ^e	59,7 ^e	66,4 ^c	64,4 ^{cd}	72,8 ^b	73,0 ^b	73,8 ^{ab}	75,5 ^a	72,7 ^b
Razvoj (min)	1,5 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	2,0 ^a	1,0 ^a	1,5 ^a
Stabilnost (min)	0,5 ^a	0 ^a	0,5 ^a	1,0 ^a	0,5 ^a	1,0 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a
Stepen omekšanja (BJ)	145 ^c	215 ^a	165 ^{bc}	175 ^b	150 ^{bc}	115 ^d	150 ^{bc}	205 ^a	85 ^e	115 ^d
Kvalitetni broj	31,5 ^{de}	-	31,2 ^{de}	33,2 ^d	38,8 ^c	47,9 ^b	32,6 ^d	27,8 ^e	67,2 ^b	49,6 ^b
Kvalitetna grupa	C1	-	C1	C1	C1	B2	C1	C2	B1	B2
Otpor na rastezanje (BJ)	260 ^a	85 ^d	175 ^c	160 ^c	195 ^{bc}	235 ^{ab}	230 ^{ab}	172,5 ^c	102,5 ^d	230 ^{ab}
Rastegljivost (mm)	164,0 ^a	112,5 ^c	145,5 ^b	163,5 ^a	137,0 ^b	91,0 ^d	79,5 ^e	90,0 ^d	80,0 ^e	73,0 ^e
Koeficijent k	1,58 ^{cd}	0,75 ^g	1,20 ^{ef}	0,98 ^{fg}	1,42 ^{de}	2,58 ^b	2,91 ^{ab}	1,89 ^c	1,26 ^{def}	3,15 ^a
Energija (cm ²)	69,3 ^a	12,3 ^f	36,8 ^b	37,1 ^b	38,0 ^b	27,2 ^c	23,9 ^{cd}	18,0 ^e	13,1 ^f	22,6 ^d
Viskozitet (BJ)	50 ^d	50 ^d	55 ^d	85 ^d	90 ^d	250 ^b	240 ^b	170 ^c	370 ^a	275 ^b

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Razvoj i stabilnost testa se nisu značajno razlikovale poređenjem dve ispitivane godine. Vreme razvoja testa se u toku dve ispitivane godine kretalo u opsegu od 1,5 do 2,0 min, dok je stabilnost testa iznosila od 0 do 1,0 min (Tabela 4.24.), a dobijene vrednosti su u saglasnosti sa istraživanjem *Nikolić i sar. (2013)*, koji su takođe ustanovili da se dodatkom biljaka bogatih proteinima može produžiti vreme razvoja i stabilnost testa. Genotip ZP 7/I je u kišnoj godini imao stabilnost koja je iznosila 0 min i izuzetno veliki stepen omekšanja testa od 215 BJ, što ukazuje na enzimski aktivno brašno i nestabilno testo. Stepenn omekšanja u sušnoj godini je bio nešto niži, a genotipovi ZP , Cimmyt 226 i ZP Zemunska rosa se mogu svrstati u brašna srednjeg kvaliteta jer im je stepen omekšanja bio u granicama od 75-125 BJ. U skladu sa navodima *Đaković (1997)*, dobijene vrednosti stepena omekšanja (od 145 do 215 BJ) za brašno genotipova gajenih u kišnoj godini, ukazuju na brašno niskog kvaliteta, čije će testo tokom stajanja otpuštati vodu i omekšavati i samim tim biti osetljivo prilikom prerade.

Promene vrednosti kvalitetnog broja su vezane za promene vrednosti stepena omekšanja, tako da brašna sa višim vrednostima stepena omekšanja imaju niži kvalitetni broj. U skladu sa tim dobijene niže vrednosti kvalitetnog broja u kišnoj godini ukazuju na lošiji kvalitet brašna u poređenju sa sušnom godinom. Na osnovu kvalitetnog broja pšenično brašno se svrstava u tri kvalitetne grupe sa oznakama A, B i C. Brašno dobijeno

mlevenjem genotipova pšenica gajene u kišnoj godini spada u kvalitetnu grupu C₁, što prema *Daković (1997)* predstavlja slabo brašno, dok su u sušnoj godini genotipovi ZP 87/I, Cimmyt 226 i ZP Zemunska rosa pripadali B₁ i B₂ grupi koja je pogodna za pekarstvo.

Ekstenzografskom analizom je ispitivana reakcija testa na odmaranje i mehaničku obradu, a dobijene vrednosti upotpunjuju sliku o kvalitetu brašna. Rezultati koji su prikazani u tabeli 4.23. pokazuju da je u kišnoj godini gluten pšeničnog brašna bio jači, prosečna vrednost energije i rastegljivosti testa su bili viši, a otpor testa je bio niži nego u narednoj ispitivanoj godini. Rastegljivost testa koja predstavlja veoma važno svojstvo pšeničnog testa, omogućava formiranje specifične strukture i volumena pekarskih proizvoda (*Kieffer, 2006*). Istovremeno, otpor koji se javlja tokom istežanja testa daje podatke pogodne za procenu ponašanja testa tokom prerade i pečenja (*Nash i sar., 2006*). S obzirom na ove navode dolazi se do zaključka da genotip ZP koji je u kišnoj godini imao najvišu vrednost otpora na rastezanje (260 BJ) i rastegljivost (164mm), ima povoljne pecivne karakteristike brašna. To potvrđuje i visoka vrednost energije od 69,3 cm² koja ovo brašno, prema *Daković-u (1997)*, svrstava u grupu brašna zadovoljavajućeg kvaliteta. Isti genotip je u narednoj ispitivanoj godini imao energiju 2,5 puta nižu, što odlikuje brašno slabog kvaliteta. Generalno, dobijene vrednosti energije brašna u sušnoj godini koje su se kretale od 13,1 do 27,2 cm² su ispod onih poželjnih za pekarstvo. Slične vrednosti su dobili i *Torbica i sar., (2011)*. Takođe, u sušnoj godini su kod svih genotipova hlebne pšenice uočene niske vrednosti rastegljivosti (od 73,0 do 91,0 mm) koje ukazuju na krt i neelastičan gluten, a samim tim i na manji volumen vekne. Na osnovu svega navedenog mogu se očekivati loše performanse pečenja od brašna genotipova gajenih u sušnoj godini.

Promene vrednosti otpora na rastezanje i rastegljivosti rezultiraju promenom vrednosti koeficijenta k (O/R), koji je veoma bitan za dve važne karakteristike hleba, oblik i zapreminu. Njegove optimalne vrednosti za pekarstvo su od 1,5-2,5 i posedovale su ga samo genotipovi ZP 87/I (kišna godina) i ZP Cimmyt 226 (sušna godina).

Optimalne vrednosti maksimalnog viskoziteta u našim uslovima su 450-650 BJ (*Kaluderski i Filipovic, 1998*). Amilografskom analizom ustanovljene su niske vrednosti viskoziteta u kišnoj i sušnoj godini, koji se kretao od 50 do 90 BJ odnosno od 170 do 370 BJ. Ovo ukazuje na visoke vrednosti amilolitičke aktivnosti brašna, pa se u praksi očekuje

da takva brašna nemaju dovoljno redukujućih šecera nastalih hidrolizom skroba, koji su neophodnih za metaboličku aktivnost kvašcevih celija.

4.2.2. Reološka svojstva testa durum pšenice

U poređenju sa hlebnom pšenicom, durum pšenica poseduje lošije performanse pecivosti u pogledu zapremine vekne i izgleda sredine (*Peña i sar., 1994; Boggini i sar., 1995; Hareland i Pühr, 1999*). Međutim, u ranijim istraživanjima je ustanovljeno da hleb za čiju je pripremu korišćeno brašno durum pšenica, sporije stari i ima duži rok trajanja (*Quaglia, 1988*) zbog visoke moći upijanja vode (*Boyaçioğlu i D'Apollonia, 1994*). Moć upijanja vode kod genotipova durum pšenice se kretala od 58,0 do 70,6% odnosno od 77,2 do 89,7% (tabela 4.25.) u kišnoj i sušnoj godini. Kao što je ranije pomenuto, prehrambena vlakna omogućavaju veću moć upijanja vode i to uglavnom zbog prisustva velikog broja hidroksilnih grupa u njima i koje omogućavaju jače interakcije sa vodom putem vodoničnih veza (*Rosell i sar., 2001*). Velika moć upijanja vode koja je uočena kod genotipova durum pšenice gajenih u sušnoj godini, može biti posledica preteranog sitnjenja pšenice i dobijanja tzv. "ubijenog" brašna, od kojeg će se dobiti gotov proizvod smanjene zapremine i nepravilnog oblika.

Razvoj testa, kao vreme koje je potrebno da protekne od početka mešenja do postizanja maksimalne konzistencije testa, je imao optimalne prosečne vrednosti od 1,6 i od 1,8 min u dve ispitivane godine. Stabilnost testa je u obe ispitivane godine bila izuzetno niska, što ukazuje na malu tolerantnost glutena na prekomerno mešenje, kao i na nisku jačinu testa uopšte.

Stepen omekšanja je bio visok u obe ispitivane godine kod svih genotipova durum pšenice, a genotip ZP 120/I je u obe ispitivane godine imao najviše vrednosti (315 BJ i 197,5 BJ). Ovako visoke vrednosti stepena omekšanja ukazuju na postojanje enzimskih procesa u testu. Enzimska aktivnost uslovljava degradaciju glutenske mreže i/ili promene ugljenohidratnog kompleksa, što se odražava na smanjenje moći zadržavanja inicijalno vezane količine vode, a zbog čega testo omekšava. Zbog izuzetno visokih vrednosti stepena omekšanja u kišnoj godini, kod genotipova ZP 120/I i Cimmyt 7817 nije bilo

moguće izmeriti kvalitetni broj i odrediti kvalitetnu grupu brašna. Ostala brašna genotipova durum pšenice su po kvalitetu svrstana u grupu C₂, koja predstavlja kvalitetnu grupu brašna slabih pecivnih karakteristika.

Tabela 4.25. Reološki parametri testa durum pšenice

	Durum pšenica									
	2010					2011				
	ZP 120/I	Cim 7879	Cim 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01	ZP 120/I	Cim 7879	Cim 7817	ZP 34/I	ZP DSP/01
Moć upijanja vode (%)	58,0 ^f	63,1 ^e	61,9 ^e	59,0 ^f	70,6 ^d	76,7 ^c	89,7 ^a	88,7 ^a	77,2 ^c	83,2 ^b
Razvoj (min)	1,0 ^a	2,0 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	2,0 ^a	2,0 ^a	1,5 ^a	2,0 ^a	1,5 ^a	2,0 ^a
Stabilnost (min)	0 ^a	0 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a	1,5 ^a	0 ^a	0 ^a	0,5 ^a
Stepen omekšanja (BJ)	315 ^a	195 ^d	260 ^b	155 ^f	230 ^c	197,5 ^d	180 ^{de}	192,5 ^d	167,5 ^{ef}	152,5 ^f
Kvalitetni broj	-	23,5 ^e	-	8,0 ^g	20,8 ^f	33,8 ^c	36,2 ^b	28,7 ^d	33,4 ^c	40,3 ^a
Kvalitetna grupa	-	C2	-	C2	C2	C1	C1	C2	C1	C1
Otpor na rastezanje (BJ)	100 ^c	145 ^b	190 ^a	190 ^a	10 ^e	-	115,0 ^c	40,0 ^d	-	102,5 ^c
Rastegljivost (mm)	74 ^a	74 ^a	64 ^b	76 ^a	51 ^d	39 ^e	61 ^{bc}	54,0 ^{cd}	40,0 ^e	49,0 ^d
Koeficijent k	1,35 ^d	1,96 ^c	2,97 ^a	2,50 ^b	0,20 ^f	-	1,89 ^c	0,74 ^e	-	1,30 ^d
Energija (cm ²)	12,2 ^d	15,3 ^c	20,0 ^b	22,9 ^a	8,1 ^e	4 ^f	13,3 ^d	8,1 ^e	3,3 ^f	13,1 ^d
Viskozitet (BJ)	25 ^e	25 ^e	30 ^e	20 ^e	30 ^e	490 ^c	455 ^d	540 ^b	470 ^{cd}	710 ^a

Vrednosti sa istim slovom unutar istogreda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Kao što je i opšte prihvaćeno, ekstenzografske analize su pokazale da je gluten durum testa bio krt i neelastičan, u poređenju sa testom hlebne pšenice. Rastegljivost se statistički značajno razlikovala poređenjem genotipova u dve ispitivane godine. Vrednosti rastegljivosti suse kretale u opegu od 51 mm do 76 mm odnosno od 39 mm do 61 mm, u kišnoj i sušnoj godini, i u skladu su sa rezultatima *Boyaçioğlu i D'Apollonia* (1994). Dobijeni rezultati ukazuju da su vrednosti otpora na rastezanje bili viši i povoljniji u kišnoj godini, a maksimalne vrednosti su imali genotipovi Cimmyt 7817 i ZP 34/I (190 BJ). U narednoj ispitivanoj godini, zbog izuzetno male rastegljivosti i sveukupno slabog kvaliteta brašna, kod genotipova ZP 120/I i ZP 34/I nije bilo moguće izmeriti otpor testa na rastezanje.

Niske vrednosti energije testa durum genotipova pšenice od 8,1 do 22,9 cm² odnosno od 3,3 do 13,3 cm² u kišnoj i sušnoj godini, ukazuju na gluten lošeg kvaliteta i nisku toleranciju testa tokom fermentacije.

Amilografskom analizom ustanovljene su niske vrednosti maksimalnog viskoziteta testa genotipova hlebne pšenice u kišnoj godini (20 do 30 BJ), dok su u sušnoj godini vrednosti bile u okviru optimalnih. Niske vrednosti viskoziteta ukazuju na visoku aktivnost enzima brašna. Takva brašna imaju veliku sposobnost razvijanja, a malu moć zadržavanja gasa i obično su dobijena mlevenjem proklijale pšenice. Hleb od takvog brašna je ispucao, gnjecav i sa vodenastim prstenovima (*Đaković, 1997*). Svi genotipovi durum pšenice su u sušnoj godini imali optimalne vrednosti maksimalnog viskoziteta, sa izuzetkom genotipa ZP DSP/01 koji je imao višu vrednost maksimalnog viskoziteta od optimalnog (710 BJ), a koja ukazuje na nisku enzimsku aktivnost brašna i dobijanje hleba sa suvom, krtom i mrvljivom sredinom. Najniža vrednost maksimalnog viskoziteta u sušnoj godini je ustanovljena kod genotipa Cimmyt 7879 i iznosila je 455 BJ, dok je genotip Cimmyt 7817 imao maksimalnu vrednost viskoziteta u okviru optimalnih vrednosti koja je iznosila 540 BJ.

Na osnovu dobijenih rezultata reoloških ispitivanja testa durum pšenica, može se zaključiti da su svi genotipovi durum pšenice imali krt i neelastičan gluten, a velika enzimska aktivnost brašna je uzrokovala narušavanje glutenske mreže. Iako je opšte poznato da durum pšenica ima inferiornija pecivna svojstva od hlebne pšenice, selekcija u cilju poboljšanja istih bi bila veoma korisna, a takve sorte bi imale alternativna tržišta u godinama visokog prinosa korišćenjem umesto hlebne pšenice ili najčešće u kombinaciji sa njom.

4.3. Poređenje reoloških svojstava testa hlebnih i durum pšenica i njihova zavisnost sa sadržajem i strukturom proteina

Kako bi se odredio uticaj sadržaja pojedinih proteinskih frakcija, njihovih sujednica i grupa, kao i činioca njihove strukture, na reološka svojstva testa, izvršena je PC analiza. Određena je korelacija između reoloških svojstava testa genotipova hlebne pšenice gajenih tokom dve godine i sadržaja proteina brašna istih genotipova. Ista korelaciona analiza izvedena je i za genotipove durum pšenice gajene u kišnoj i sušnoj godini (Grafik 4.6.a,b). S obzirom da je uočena velika razlika kako u reološkim svojstvima testa, tako i proteinskom sadržaju brašna, njihovom sastavu i strukturi između genotipova hlebne i durum pšenice, pretpostavilo se da bi korišćenjem pomenutih korelacionih parametara hlebne i durum pšenice, bez njihovog razdvajanja, korelaciona analiza dala jasnije i pouzdanije podatke o uticaju proteina brašna na reološka svojstva testa (Grafik 4.6.c).

4.3.1. Uticaj proteina na farinografske pokazatelje reoloških svojstava testa

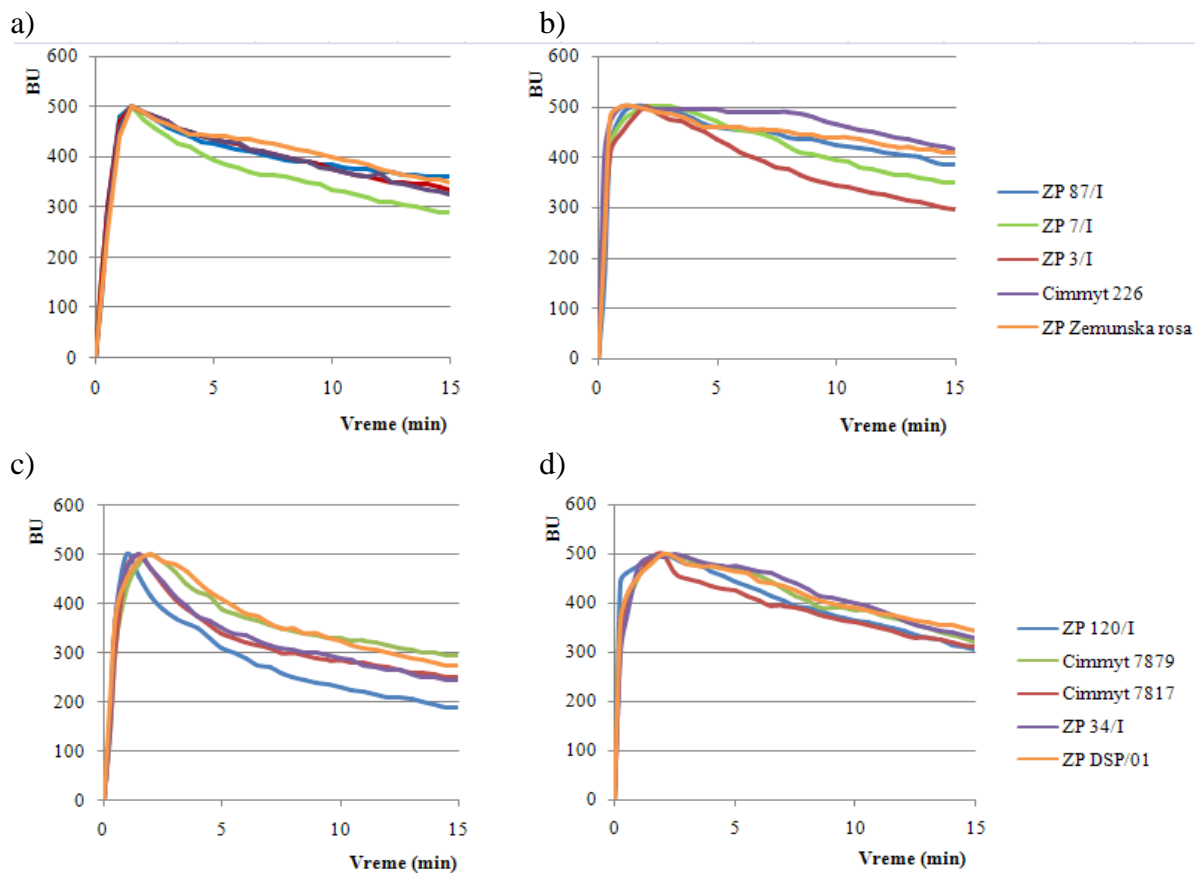
Na farinogramima se može uočiti da je testo od brašna genotipova durum pšenice u obe ispitivane godine imalo viši stepen omekšanja za u proseku 1,3 puta u poređenju sa testom hlebne pšenice (Grafik 4.3.). Pored toga, kako je već istaknuto, testo genotipova hlebne i durum pšenice gajene u kišnoj godini ima viši stepen omekšanja u poređenju sa sušnom godinom.

Kako stepen omekšanja i stabilnost testa opisuju viskoelastična svojstva formiranog glutenskog kompleksa (*Hadnađev i sar., 2011b*), dobijene vrednosti male stabilnosti i visokog stepena omekšanja ukazuju da testo neće biti sposobno da izdrži duge mehaničke manipulacije. *Mikos i Podolska (2012)* su ustanovili da povećanje stepena omekšanja smanjuje stabilnost, a rezultati dobijeni PC analizom i prikazani na Grafik 4.6. potvrđuju ovo kroz jaku negativnu korelaciju. PC analizom hlebne pšenice (Grafik 4.6 a) je takođe utvrđeno da na stepen omekšanja negativno utiče povećanje sadržaja HMW, γ -glijadina, D-LMW glutenina, kao i slobodnih -SH grupa i -S-S veza, a *Horvat i sar. (2012)* su dobili

iste rezultate, sa razlikom u negativnoj korelaciji sa HMW gluteninima. Kada se posmatraju durum genotipovi u dve ispitivane godine, na omekšanje nisu imali uticaja HMW glutenini, a pored korelacija sa γ -glijadinima, D-LMW gluteninima, slobodnim -SH grupama i -S-S vezama, javile su se i korelacije sa ukupnim LMW gluteninima i α/β -glijadinima (Grafik 4.6.b). Međutim, kada se u korelaciju postave i hlebna i durum pšenica u dve ispitivane godine, uočava se da na omekšanje negativno utiče povećanje sadržaja γ -glijadina i D-LMW glutenina, slobodnih -SH grupa i -S-S veza (Grafik 4.6.c). Dobijene pozitivne korelacije γ -glijadina sa stepenom omekšanja testa hlebnih i durum genotipova pšenice su u skladu sa ranijim istraživanjima *Khatkar i sar. (2002)*. Oni su ustanovili da glijadinska frakcija, uključujući γ -gliadine, utiče na omekšanje testa, dok su *Gil-Humanes i sar. (2012)* utvrdili da sadržaj γ -glijadina može uticati na snagu testa jer je u pozitivnoj korelaciji sa razvojem testa.

Dobijene visoke vrednosti stepena omekšanja testa (preko 125 BJ) genotipova hlebne i durum pšenice gajenih tokom dve godine (Grafik 4.3. a,b,c,d; Tabela 4.24. i 4.25.) i visoka pozitivna korelacija ovog svojstva sa koncentracijom slobodnih -SH grupa brašna (Grafik 4.6.) ukazuju i na proteolitičku razgranju proteina kako tokom sazrevanja zrna tako i tokom mešenja testa. Delimična hidroliza proteina glutena može dovesti do kidanja pojedinih veza, odgovornih za stabilizaciju njihove konformacije i eliminisanja beta konformacije proteina, koja je prema *Gianibelli i sar. (2001)* i *Shewry i sar. (2001)* uglavnom odgovorna za funkcionalna svojstva proteina glutena. Primera radi, genotipovi durum pšenice koji su imali viši sadržaj albumina-globulina u kišnoj godini (u proseku 33,49%) u poređenju sa sušnom godinom (u proseku 32,80%), a time i višu proteolitičku aktivnost koja je potvrđena povećanjem sadržaja glijadina niskih molekulskih masa (30-17 kDa), dali su testo povećanog stepena omekšanja (za 53 FJ), smanjenje moći upijanja vode (za 20,6%) i smanjenje stabilnosti testa. Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjem *Dojczew i sar. (2007)*. Uzimajući u obzir genotipove hlebne pšenice, dobijeni rezultati ne ukazuju na iste zakonitosti. Međutim pozitivna korelacija stepena omekšanja testa hlebne i durum pšenice, bez razdvajanja (Grafik 4.6.c), sa slobodnim -SH grupama i -S-S vezama je evidentna. Genotipovi hlebne i durum pšenice su u kišnoj godini imali značajno viši sadržaj slobodnih -SH grupa (u proseku 3,66 odnosno 4,47 nmol/mg s.m. glutena) i visoke

vrednosti stepena omekšanja (u proseku 170 odnosno 231 BJ) u odnosu na sušnu godinu koja je imala niži sadržaj -SH grupa (u proseku 1,01 odnosno 0,92 nmol/mg s.m. glutena) i niže vrednosti stepena omekšanja (u proseku 134 i 178 BJ). Svi dobijeni rezultati ukazuju da struktura proteina igra ključnu ulogu u ispoljavanju ovog farinografskog pokazatelja reoloških svojstava testa.



Grafik 4.3. Farinogrami uzoraka testa: a) hlebna pšenica 2010, b) hlebna pšenica 2011, c) durum pšenica 2010, d) durum pšenica 2011.

Moć upijanja vode brašna hlebne i durum pšenice se u proseku nije razlikovao u kišnoj godini, dok je u sušnoj godini brašno durum pšenica imalo za oko 10% veću moć upijanja vode od brašna hlebne pšenice. Generalno, moći upijanja vode brašna genotipova hlebne i durum pšenice su bile značajno niže u kišnoj nego u sušnoj godini (Tabela 4.24. i 4.25.). Kako je ranije pomenuto, moć upijanja vode brašna zavisi od velikog broja faktora,

a rezultati prikazani na Grafiku 4.6.c ukazuju da moć upijanja vode, za razliku od drugih reoloških svojstava, u manjoj meri zavisi od proteina. Međutim, prema *Finney i sar. (1987)*, *Graybosch i sar (1993)*, *Hefnawy i sar. (2012)* moć upijanja vode zavisi u velikoj meri od proteina, a u skladu sa tim utvrđena je pozitivna korelacija između B+C-LMW i LMW glutenina i moći upijanja vode kod genotipova hlebne pšenice (Grafik 4.6. a), dok je kod durum genotipova pšenice, uočena pozitivna korelacija prvenstveno sa B+C-LMW i HMW gluteninima (Grafik 4.6. b). Treba napomenuti da hidratacija ima veliku ulogu u modifikaciji strukture proteina u testu tokom mešenja, jer u interakciji vode sa brašnom dolazi do brzog formiranja vezane glutenske mreže testa (*Vaiciulyte-Funk i sar., 2015*).

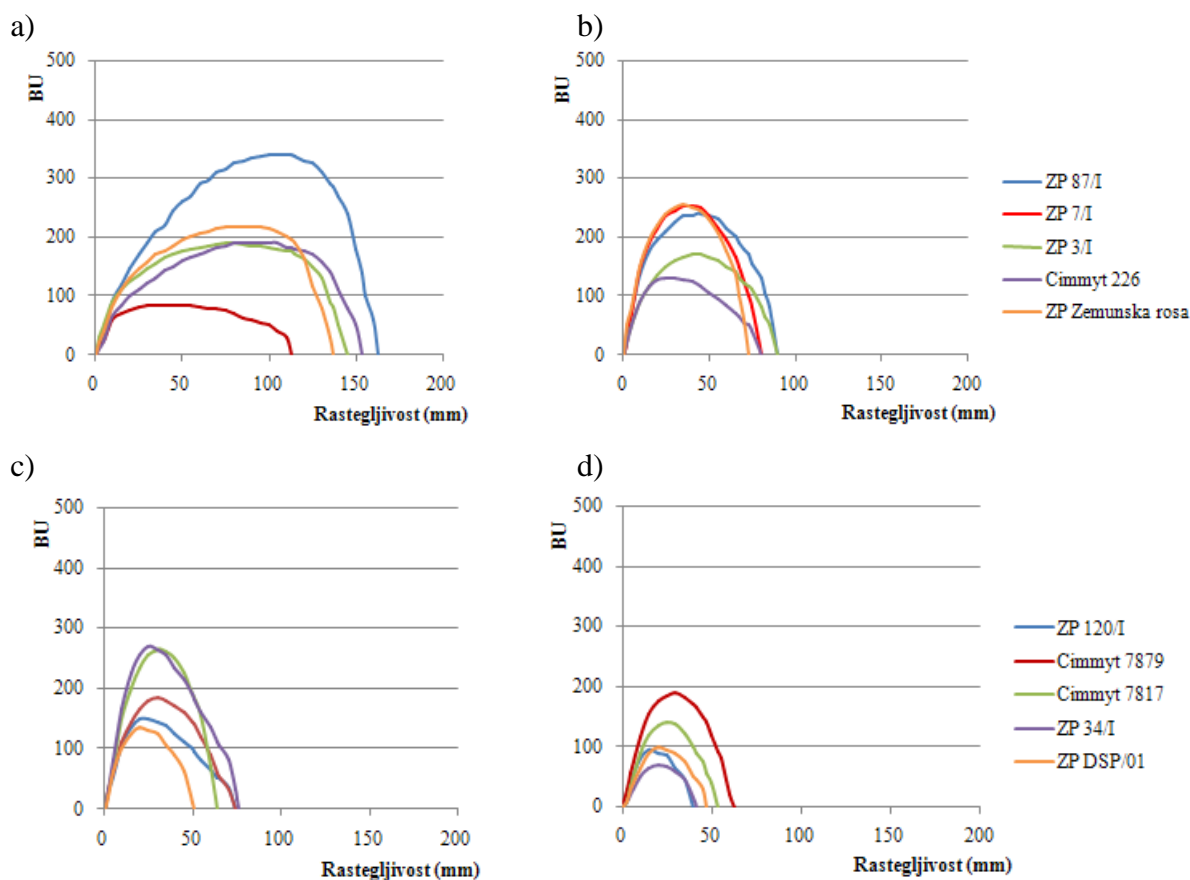
4.3.2. Uticaj proteina na ekstenzografske pokazatelje reoloških svojstava testa

Poređenjem ekstenzografskih parametara testa hlebne i durum pšenice u dve ispitivane godine uočene su velike razlike. U proseku, testo hlebne pšenice je u kišnoj godini imalo 1,4, 2,1 odnosno 2,5 puta više vrednosti otpora na rastezanje, rastegljivosti i energije od testa durum pšenice (Tabela 4.24. i 4.25.). Vrednosti rastegljivosti i energije testa dobijene ekstenzografskim ispitivanjem brašna hlebne pšenice bile su značajno više u kišnoj nego u sušnoj godini (Grafik 4.4.). Kod durum genotipova je ustanovljena ista zakonitost.

Rezultati ukazuju da se u kišnoj godini kod genotipova hlebne pšenice formirao elastičniji i mekši gluten koji je uslovio povoljnije pomenute reološke karakteristike testa, dok su klimatski uslovi u sušnoj godini uticali na formiranje čvrstog, neelastičnog i krtoog glutena. Međutim, treba imati u vidu da na elastičnost glutena prevashodno utiču glutenini. Posmatrajući sadržaj rastvorljivog glutenina u genotipovima hlebne i durum pšenice u kišnoj godini, može se uočiti da je bio 1,13 i 1,50 puta viši u poređenju sa sušnom godinom (Tabela 4.5. i 4.6.), pa se može pretpostaviti da je upravo viši sadržaj glutenina uslovio formiranje elastičnijeg glutena u kišnim uslovima gajenja. PC analizom je utvrđen pozitivan uticaj pojedinačnih subjedinica proteina glijadina (γ -gli, α/β -gli) na vrednosti otpora na rastezanje, rastegljivosti i energije testa hlebne pšenice (Grafik 4.6.a), što je ukazuje na uticaj ovih glijadinskih subjedinica na formiranje mekšeg glutena. Sa druge

strane dobijene pozitivne korelacije otpora na rastezanje, rastegljivosti i energije testa sa -S-S vezama i sadržajem HMW-glutenina (Grafik 4.6.a), ukazuje na njihov mogući uticaj na formiranje čvrstog glutena prvenstveno u testu od brašna genotipova gajenih u sušnoj godini. U prilog ovome idu dobijeni rezultati za genotip ZP Zemunska rosa, koji je u sušnoj godini imao najviši sadržaj -S-S veza (44,48 nmol/mg s.m. glutena) i najniži sadržaj -SH grupa (2,88 nmol/mg s.m. glutena), ali je dao testu sa najvišim otporom na rastezanje (230 BJ) i najnižom rastegljivošću (73 mm). Suprotno, genotip Cimmyt 226 je u obe ispitavane godine imao najniži sadržaj cisteina (Tabela 4.20.) i visoku rastegljivost testa (Grafik 4.4.a.b, Tabela 4.24.). Zbog nižeg sadržaja cisteina u poređenju sa ostalim genotipovima hlebne pšenice, nije došlo do raskidanja velikog broja disulfidnih veza između proteina, pa mreža testa nije bila oslabljena, a samim tim je i elastičnost testa bila povoljna. U kišnoj godini genotipovi hlebne pšenice su imali 3,62 odnosno 1,51 puta viši sadržaj disulfidnih veza i slobodnih -SH grupa, nego u sušnoj godini. Takođe njihov odnos je bio bolje izbalansiran, što daje veću mogućnost sulfhidril-disulfidnih reakcija razmene, a samim tim i veću polimerizaciju proteina i bolja viskoelastična svojstva. *Metakovsky i sar. (1990)* su ustanovili postojanje značajnih korelacija između prisustva LMW glutenina i otpora na rastezanje i rastegljivosti testa, a *Gupta i sar. (1991)* da je do 46% variranja vrednosti ekstenzografskog otpora i rastegljivosti testa objašnjeno prisustvom LMW glutenina.

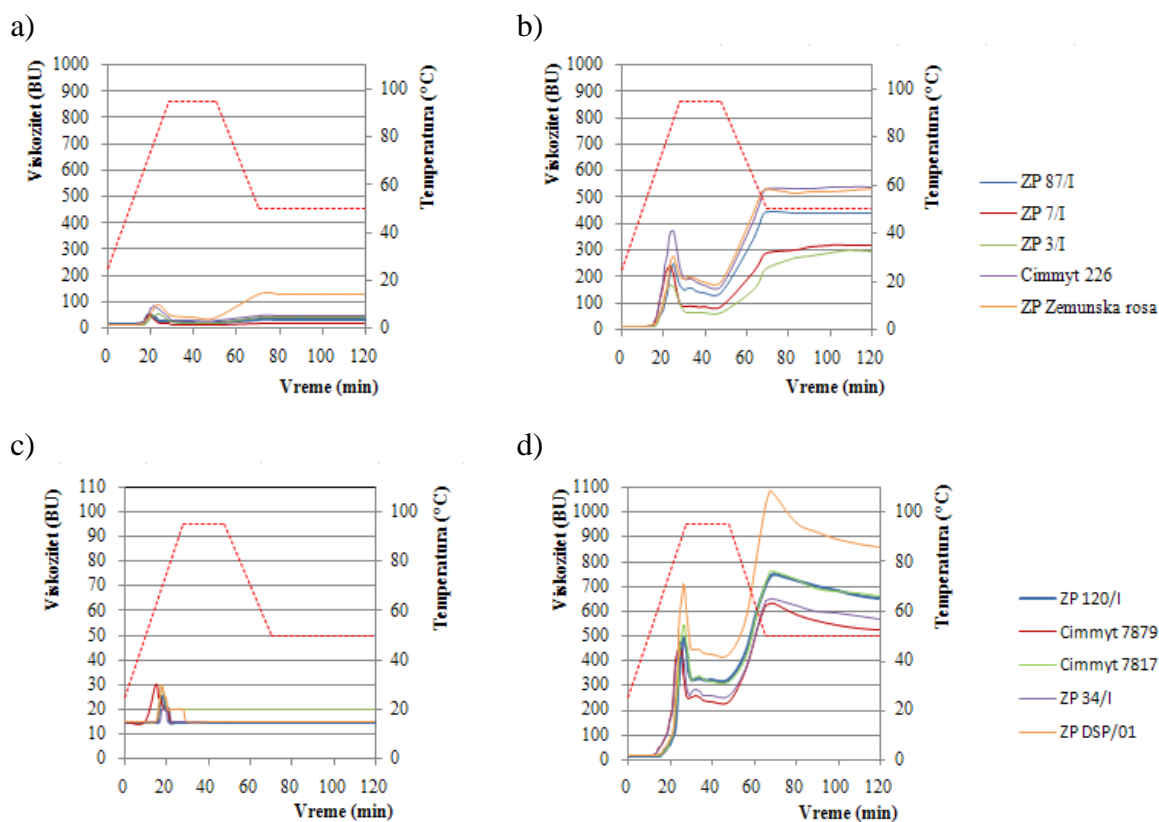
Za razliku od testa hlebnih genotipova pšenice, kod testa durum genotipova pšenice pojedinačne subjedinice glijadina nisu pokazale uticaj na vrednosti otpora na rastezanje, rastegljivosti i energije testa, što ukazuje da se formirao čvrst, neelastičan i krt gluten (Grafik 4.6.b). PC analiza je takođe pokazala da povećanje sadržaja -S-S veza i slobodnih -SH grupa ima pozitivan uticaj na pomenute reološke karakteristike testa, ali je uočena i slaba pozitivna korelacija sa D-LMW i LMW gluteninima, što je u skladu sa ranijim istraživanjem *Metakovsky i sar. (1990)* i *Gupta i sar. (1991)*.



Grafik 4.4. Ekstenzogrami uzoraka testa: a) hlebna pšenica 2010, b) hlebna pšenica 2011, c) durum pšenica 2010, d) durum pšenica 2011.

4.3.3. Uticaj proteina na amilografske pokazatelje reoloških svojstava testa

Amilografskom analizom primenjenom na brašna genotipova hlebne i durum pšenice u dve ispitivane godine, ustanovljene su velike razlike u viskozitetu, a dobijeni amilogrami su prikazani na grafiku 4.5. Dobijene niske vrednosti viskoziteta u kišnoj godini, koje se mogu uočiti kod brašna genotipova hlebne i durum pšenice, ukazuju na povećanje aktivnost α -amilaze. Povećana aktivnost α -amilaze posledica je klimatskih uslova. Naime, prema rezultatima *Mares i Mrva* (2008), povećana količina padavina i vlaga u zrnju uslovljavaju intenzivnije aktivnosti hidrolitičkih enzima.

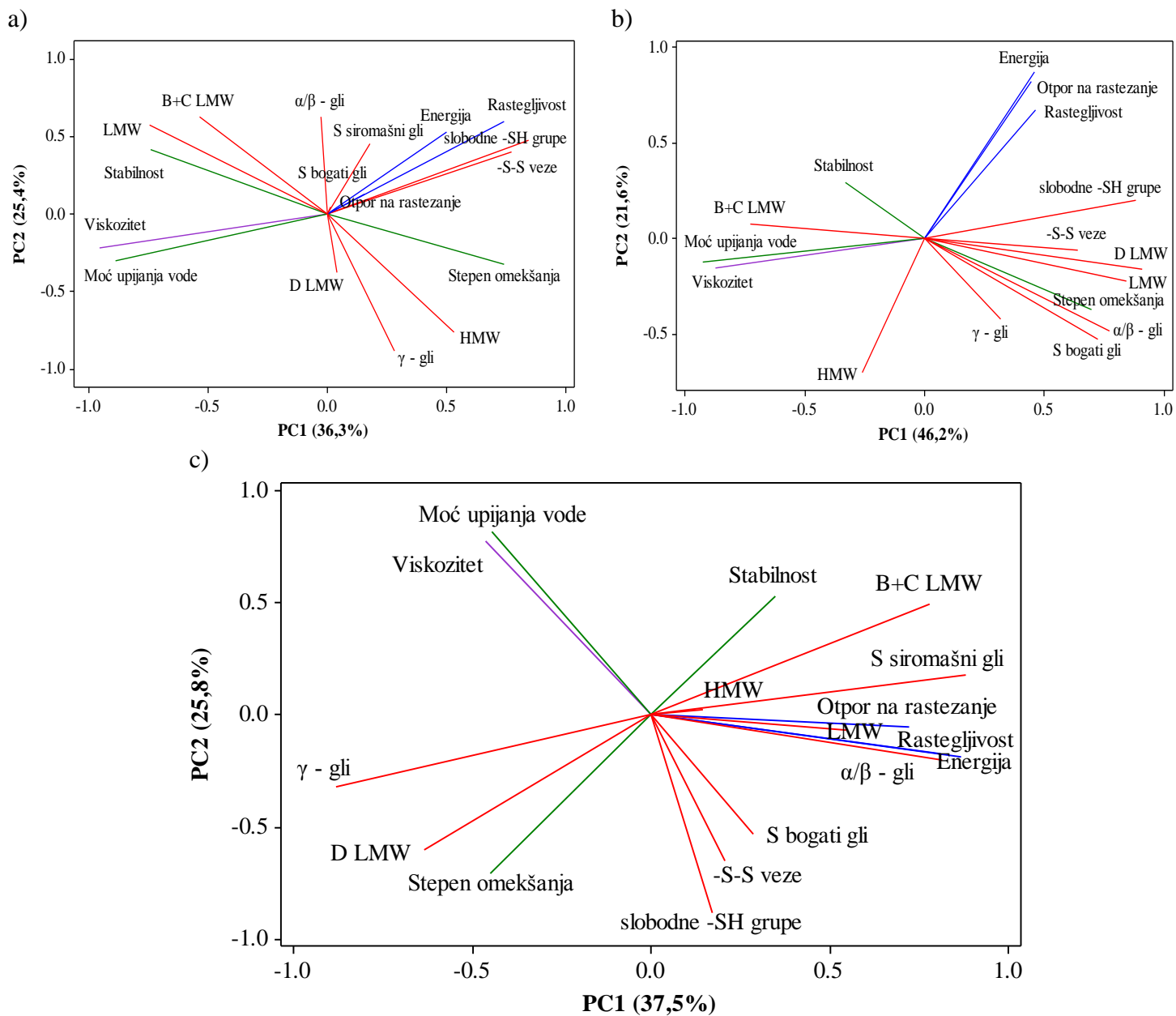


Grafik 4.5. Amilogrami uzoraka testa: a) hlebna pšenica 2010, b) hlebna pšenica 2011, c) durum pšenica 2010, d) durum pšenica 2011.

Rezultati PC analize pokazuju da je viskozitet testa genotipova hlebne pšenice bio u jakoj pozitivnoj korelaciji sa sadržajem B+C-LMW i ukupnih LMW gluteninima (Grafik 4.6.a). Ustanovljena negativna korelacija između viskozitet testa i koncentracije -S-S veza i slobodnih -SH grupa ukazuje da povećane vrednosti ovih parametara strukture proteina utiče na smanjenje viskoziteta (Grafik 4.6.a). PC analizom je ustanovljeno da na povećanje viskoziteta durum genotipova pšenice utiče povećanje sadržaja B+C-LMW i HMW glutenina i smanjenje sadržaja slobodnih -SH grupa i -S-S veza (Grafik 4.6.b). Uzimanjem u obzir PC analizu u kojoj su korišćene prosečne vrednosti parametara genotipova obe vrste pšenice gajene tokom dve godine, negativne korelacije viskoziteta sa -S-S vezama i slobodnim -SH grupama su potvrđene (Grafik 4.6.c).

Visok sadržaj slobodnih -SH grupa koji je detektovan u glutenu genotipova hlebne i durum pšenice u kišnoj godini, posledica je raskidanja -S-S veza dejstvom proteolitičkih enzima i peptidnih veza čime one između proteinskih molekula postaju dostupne. Međutim, razlog smanjenja viskoziteta može biti i kidanje pojedinih kovalentnih ili nekovalentnih veza između proteina i/ili proteina-pentozana (*Ognean i sar., 2008*). Iako nisu obuhvaćeni PC analizom, može se pretpostaviti da su polipeptidi glijadina i glutenina malih molekulskih masa, detektovani kao posledica proteolitičke aktivnosti u brašnu durum pšenice (Tabela 4.14. i 4.18.), imali negativan efekat na viskozitet testa. Ovu pretpostavku potkrepljuje negativna korelacija viskoziteta sa sadržajem ukupnih LMW glutenina i α/β -glijadina (Grafik 4.6.b). Do sličnih rezultata došli su u svojim istraživanjima i *Ognean i sar. (2008)*.

Pšenično testo je veoma kompleksan sistem i kako se tokom svih procesa u pripremi hleba dešava veliki broj različitih fizičko-hemijskih transformacija, jako je teško objasniti sve reološke karakteristike testa. U ovom i u mnogim ranijim istraživanjima ustanovljeno je da kvalitet brašna, reološke i funkcionalne karakteristike testa i pekarskih proizvoda u najvećoj meri zavise od proteina, ali je zbog pomenutih transformacija i mnogobrojnih faktora koji utiču teško dati konačne zaključke o njihovom uticaju. Pored toga, međusobni odnos biohemijskih konstituenata pšeničnog zrna, proteina, skroba, neskrobnih polisaharida, arabinoksilana, lipida, kao i fenolnih komponenta je od suštinskog značaja. Jasniji uticaj sadržaja, sastava i strukture pšeničnih proteina na reološka svojstva testa mogao bi se odrediti dodavanjem izolovanih proteinskih frakcija ili subjedinica brašnu konstantnog sastava sa definisanim svojstvima prvenstveno skroba i neskrobnih polisaharida. Pored toga, frakcionisanjem brašna na osnovne komponente, proteine i skrob, i pripremom model sistema mešanjem i kombinacijom ovih komponentata, takođe bi se dobio jasniji odgovor o relativnom uticaju pojedinačnih komponenti i njihovih međusobnih interakcija na svojstva testa.



Grafik 4.6. Analiza glavnih komponenti reoloških parametara testa i sadržaja proteinskih subjedinica i strukturnih činilaca proteina: a) hlebna pšenica 2010/2011, b) durum pšenica 2010/2011, c) hlebna i durum pšenica 2010/2011

4.4. Poređenje instrumentalnih pokazatelja i senzorna svojstva hleba hlebnih i durum pšenica i njihova zavisnost sa sadržajem i strukturom proteina

4.4.1. Instrumentalni pokazatelji kvaliteta hleba

Dobre pecivne karakteristike brašna obično podrazumevaju veliki volumen vekne, mekanu i finu strukturu sredine sa velikim brojem sitnih pora. Svako značajnije odstupanje od optimalne teksture svojstvene za ispitivani proizvod može se smatrati kao smanjenje u kvalitetu. Za određivanje teksturalnih svojstva sredina hlebova pripremljenih od brašna genotipova dve hlebne i dve durum pšenice gajenih tokom 2010. i 2011. godine korišćena je TPA analiza, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 4.26. Na osnovu dobijenih rezultata mogu se uočiti statistički značajne razlike između hleba hlebne i hleba durum pšenice u pogledu njegove zapremine, specifične zapremine, čvrstoće i otpora žvakanju. Pored toga, utvrđene su statistički značajne razlike između ispitivanih svojstava hleba pripremljenog od brašna iste sorte pšenice poreklom iz različitih godina gajenja. Rezultati dobijeni TPA analizom ukazuju na bolje teksturalne karakteristike sredina hlebova dobijenih od brašna hlebne i durum pšenice koja je gajena u kišnoj godini, nego u sušnoj godini.

Zapremina hleba predstavlja jedan od najznačajnijih i najviše korišćenih pokazatelja kvaliteta hleba. U kišnoj godini zapremina hlebova od brašna genotipova ZP 87/I i Zemunska rosa su bile 1,52 i 1,75 puta više nego u sušnoj godini, što potvrđuje raniji zaključak o generalno boljem kvalitetu brašna hlebne pšenice gajene u kišnoj nego u sušnoj godini. (Tabela 4.26., Slika 4.7.). Zapremine hlebova od durum genotipova pšenice pokazale su isti trend, a vrednosti su se kretale od 189,5 do 228,1 ml odnosno od 160,1 do 165,1 ml u kišnoj i sušnoj godini. Poređenjem zapremina hlebova genotipova hlebne i durum pšenice, može se uočiti da je zapremina hleba genotipa durum pšenice sa najboljim performansama bila značajno niža od genotipova hlebne pšenice. Ovi rezultati su u skladu sa ranijim istraživanjima (*Edwards i sar., 2001; Rao i sar., 2001*).

Tabela 4.26. Teksturalna svojstva sredine hleba genotipova hlebne i durum pšenice

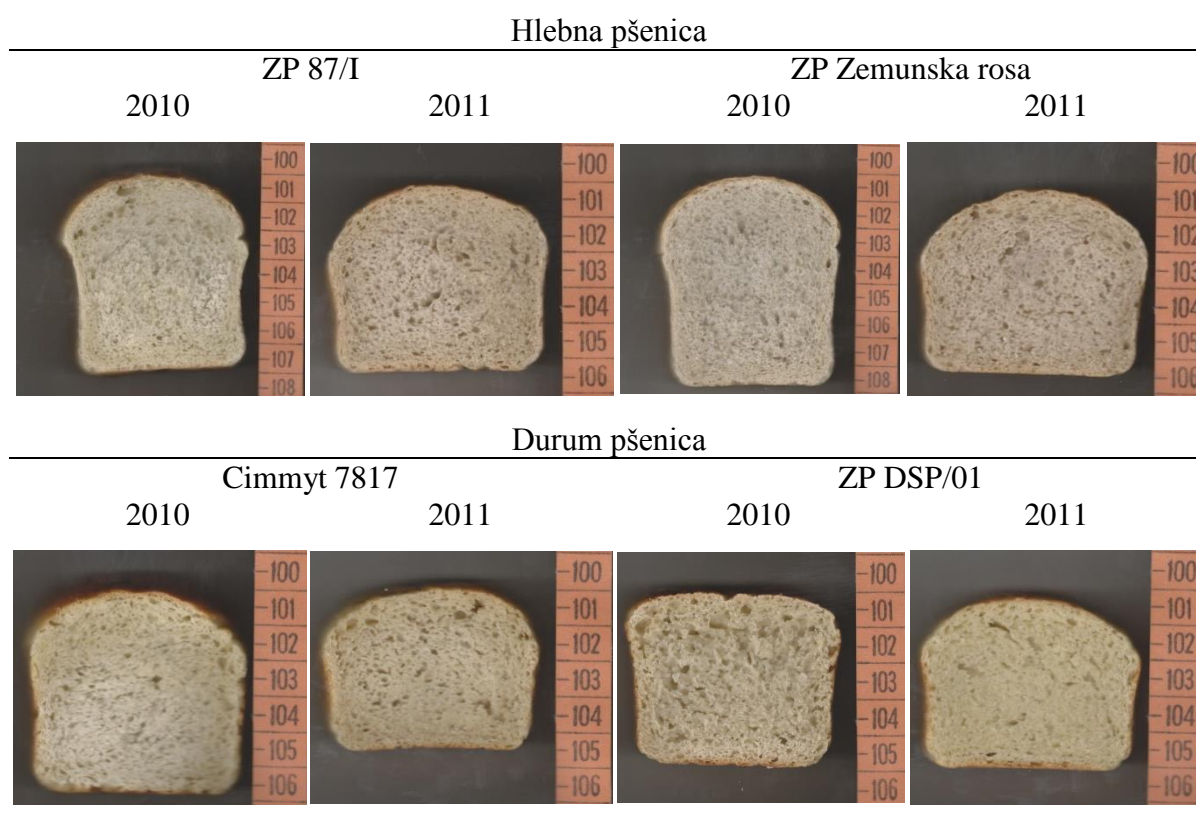
Uzorak	Hlebna pšenica				Durum pšenica			
	ZP 87/I		ZP Zemunska rosa		Cimmyt 7817		ZP DSP/01	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Zapremina (ml)	305,0 ^b	201,2 ^d	327,5 ^a	186,9 ^e	228,1 ^c	160,1 ^f	189,5 ^e	165,1 ^f
Specifična zapremina (ml/g)	3,3 ^b	2,1 ^d	3,5 ^a	1,9 ^e	2,4 ^c	1,7 ^f	2,1 ^d	1,7 ^f
Čvrstoća (g)	538,3 ^d	1492,6 ^b	395,6 ^d	2132,6 ^a	1171,6 ^c	2230,4 ^a	1015,9 ^c	2083,3 ^a
Naknadna elastičnost	0,934 ^{ab}	0,922 ^{ab}	0,947 ^a	0,902 ^b	0,768 ^d	0,927 ^{ab}	0,542 ^e	0,820 ^c
Kohezivnost	0,528 ^{bc}	0,512 ^{cd}	0,549 ^b	0,477 ^{de}	0,463 ^e	0,603 ^a	0,385 ^f	0,518 ^{bc}
Otpor žvakanju (g)	265,7 ^{de}	705,2 ^c	213,3 ^e	919,9 ^b	416,0 ^d	1244,8 ^a	211,3 ^e	883,5 ^b
Inicijalna elastičnost (%)	0,206 ^{de}	0,236 ^c	0,217 ^e	0,222 ^b	0,168 ^d	0,304 ^a	0,133 ^e	0,222 ^b

Vrednosti sa istim slovom unutar istog reda nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti određena je Tuckey testom.

Specifična zapremina hleba od brašna hlebne pšenice gajene u kišnoj godini je imala vrednosti od 3,3 i od 3,5 ml/g (ZP 87/I odnosno ZP Zemunska rosa), dok je brašno istih genotipova gajenih u sušnoj godini dalo hleb sa 36,4 i 45,7% nižom specifičnom zapreminom (Tabela 4.26). Nešto više vrednosti specifične zapremine hleba (4,12 ml/g) su dobili *Tsai i sar. (2012)*, dok se specifična zapremina u istraživanju *Filipčev i sar. (2013)* kretala od 2,34 do 3,24 ml/g za hleb dobijen od spelte. Kako se durum pšenica tradicionalno koristi za proizvodnju tankih i specijalnih vrsta hlebova (*Quaglia, 1988*), dobijene niže vrednosti specifične zapremine hlebova od durum genotipova pšenice u poređenju sa hlebovima od genotipova hlebne pšenice, su bile očekivane. Uzorci hleba od brašna genotipova hlebne i durum pšenice gajene u sušnoj godini, sa najmanjom specifičnom zapreminom, odlikovali su se najvećim vrednostima čvrstoće i otpora žvakanju što je očekivano obzirom da na čvrstoću hleba značajan uticaj ima njegova zapremina. Generalno, čvrstoća sredine hleba od brašna genotipova kako hlebne tako i durum pšenice gajenih tokom sušne godine bila je značajno viša u odnosu na čvrstoću hleba od brašna genotipova gajenih tokom kišne godine. Najmekšu sredinu imao je hleb od genotipa hlebne pšenice ZP Zemunska rosa (395,6 g) gajenog u kišnoj godini, dok je hleb od brašna istog genotipa gajenog tokom sušne godine bio čvršći za čak 5,4 puta. Prosečna

vrednost čvrstoće sredine hleba od genotipova durum pšenice gajenih u kišnoj godini iznosila je 1093,8g, a gajenih u sušnoj godini 2156,8g (Tabela 4.26., Slika 4.7.).

Vrednosti naknadne elastičnosti i kohezivnosti nisu bile statistički značajno različite poređenjem uzoraka hleba od brašna genotipova hlebne pšenice gajenih u dve godine. Međutim, hlebovi od brašna durum genotipa Cimmyt 7817 i ZP DSP/01 gajenih u sušnoj godini imali su u proseku za 1,4 puta više vrednosti naknadne elastičnosti i kohezivnosti u odnosu na hleb od brašna istih genotipova gajenih tokom kišne godine.



Slika 4.7. Izgled poprečnog preseka hleba hlebne i durum pšenice

Inicijalna elastičnost hleba od brašna genotipova kako hlebne tako i durum pšenice gajenih tokom sušne godine bila je značajno viša u odnosu na inicijalna elastičnost hleba od brašna genotipova gajenih tokom kišne godine. Međutim, kod hleba od genotipova hlebne pšenice ovo povećanje je iznosilo od 1 do 12%, dok je kod hleba od genotipova durum pšenice iznosilo između 40 i 45% (Tabela 4.26., Slika 4.7.). Visoke vrednosti

inicijalne elastičnosti, kao i kohezivnosti hleba od durum pšenice gajene tokom sušne godine uticali su na parametre sredine hleba, odnosno na finiju teksturu sa većim brojem sitnijih pora (Slika 4.7.).

Otpor žvakanju sredine hleba od brašna genotipova hlebne i durum pšenice pokazuje istu zakonitost u zavisnosti od uslova gajenja kao i čvrstoća sredine, naknadna i inicijalna elastičnost hleba. Hleb od brašna genotipova hlebne i durum pšenice gajene u sušnoj godini ima od 2,7 do 4,3 puta više vrednosti otpora žvakanju u odnosu na hleb od brašna genotipova gajenih u kišnoj godini. Za hleb od genotipa hlebne pšenice ZP 87/I i durum pšenice DSP/01 gajenih u kišnoj godini je potrebno uložiti najmanji rad kako bi se sažvakao do trenutka gutanja. Vrednost njegovog otpora žvakanju je iznosila 213,3 i 211,3 g. Hleb od durum genotipa Cimmyt 7817 gajenog u sušnoj godini imao je pak najviši otpor žvakanju (1244,8 g).

4.4.2. Uticaj proteina brašna i reoloških svojstava testa na instrumentalne pokazatelje kvaliteta hleba

U ranijim istraživanjima ustanovljeno da su instrumentalni pokazatelji kvaliteta hleba pod velikim uticajem komponenata koje ulaze u sastav brašna (*Dowell i sar., 2008; Edwards i sar., 2007; Perez Borla i sar., 2004; Al-Saleh i Brennan, 2012*) i reoloških karakteristika testa (*Tronsomo i sar., 2003, Gras i sar., 2000*). U ovim istraživanjima ispitana je korelaciona zavisnost instrumentalnih pokazatelja kvaliteta hleba od reoloških svojstava testa i sadržaja proteinskih subjedinica brašna na taj način što su u analizi korišćene srednje vrednosti pomenutih parametara svih genotipova hlebne i durum pšenice gajenih kako u kišnoj tako i sušnoj godini.

Korišćenjem PC analize utvrđena je pozitivna korelacija između zapremine i specifične zapremine hleba i parametara reoloških svojstava testa kao što su energija testa, rastegljivost, otpor na rastezanje i stabilnost testa (Grafik 4.7.a). Zapremina hleba umnogome zavisi od sposobnosti glutenskog matriksa da se rasteže i da zadrži mehuriće gasa (*Yi i sar., 2009*), pa kako je testo genotipova hlebne pšenice, prema napred prikazanim rezultatima (Grafik 4.4.), elastičnije i rastegljivije, hleb od brašna genotipova

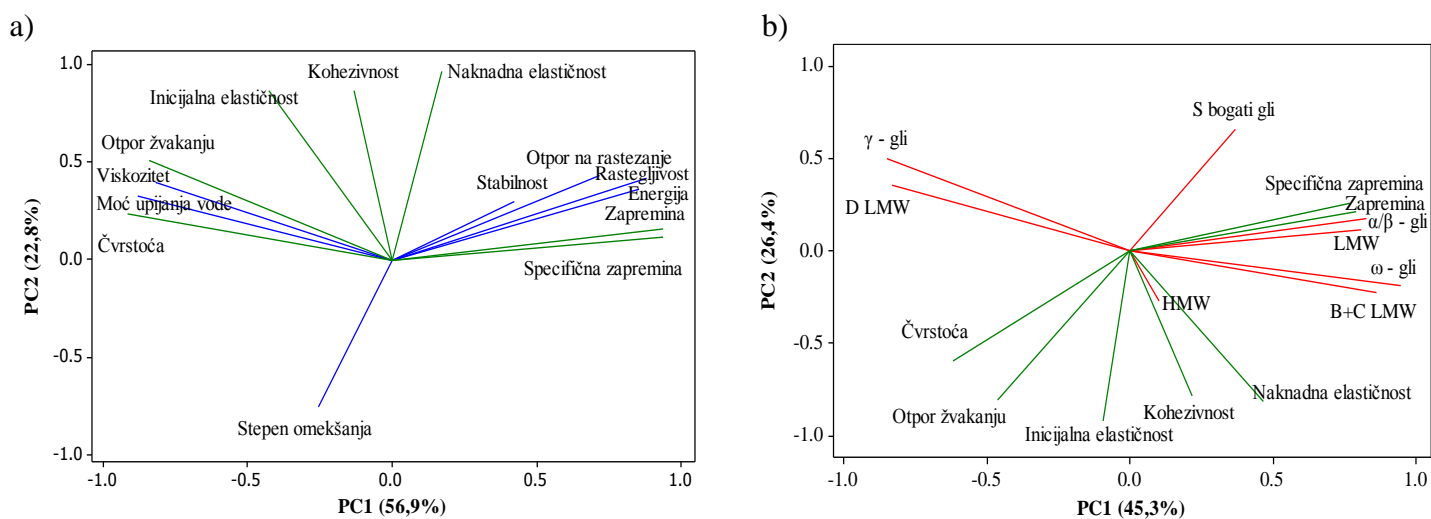
ZP 87/I i ZP Zemunska rosa je opravdano imao veću zapreminu i specifičnu zapreminu od hleba durum genotipova. Koreliranjem pokazatelji kvaliteta hleba, zapremine i specifične zapremine, sa proteinima pšenice, utvrđen je pozitivan uticaj svih proteinskih subjednica sa izuzetkom D-LMW glutenina i γ -glijadina, a ranije pomenut dominantan uticaj α/β -glijadina na zapreminu hleba (*Khatkar i sar., 2002*) je potvrđen kroz izuzetno snažnu pozitivnu korelaciju (Grafik 4.7.b).

Čvrstoća hleba je bila pod snažnim uticajem moći upijanja vode i viskoziteta testa (Grafik 4.7.a), što je u skladu sa ranijim istraživanjem *Scanlon i sar. (2000)*. S obzirom da na moć upijanja vode i viskozitet testa utiče aktivnost enzima, može se zaključiti da će hleb od brašna sa višim sadržajem proteina bogatih -S-S vezama i niskom enzimskom aktivnošću biti čvršći. Kako je sadržaj slobodnih -SH grupa bio u negativnoj korelaciji sa moći upijanja vode i viskozitetom testa posebno durum pšenice, što je napred prikazano na Grafik 4.6., može se zaključiti da brašno bogatije slobodnim -SH grupama daje hleb manje čvrstoće. Primera radi, sadržaj slobodnih -SH grupa u glutenu genotipa hlebne pšenice ZP 87/I gajene tokom kišne sezone iznosio je 4,20 nmol/mg, a hleb od brašna ovog genotipa bio je mek. Vrednost čvrstoće iznosila je 538,3g. U sušnoj godini brašno istog genotipa bilo je siromašno u sadržaju slobodnih -SH grupa (0,91nmol/mg), ali je dalo hleb visoke čvrstoće (1492,6 g). Prema rezultatima, pored D-LMW glutenina i γ -glijadina, sadržaj HMW glutenina brašna utiče na čvrstoću hleba (Grafik 4.7.b). Uticaj proteina stabilne kompleksne strukture na čvrstoću hleba uz izostanak slobodnih -SH grupa može imati negativne posledice na kvalitet gotovog proizvoda što se u ovim istraživanjima uočava kod hleba od brašna genotipova hlebne i durum pšenice gajenih tokom sušne godine (Slika 4.7.).

Naknadna elastičnost hleba imala je pozitivnu korelaciju sa parametrima reoloških svojstava testa kao što su stabilnost testa, otpor na rastezanje, rastegljivost i energija testa (Grafik 4.7.a). Prema rezultatima naknadna elastičnost hleba prvenstveno je povezana sa stabilnošću testa. Kako otpor na rastezanje i rastegljivost testa zavise od sadržaja -S-S veza i HMW glutenina u brašnu, kako je napred prikazano na graficima 4.6.a i c, može se zaključiti da prisustvo -S-S u proteinima brašna ima značajnu ulogu na naknadnu elastičnost hleba. Obzirom da viši sadržaj HMW glutenina povećava elastičnost testa i

zadržavanje mehurića gasa, a LMW glutenini pozitivno utiču na rastegljivost testa, njihova pozitivna korelacija sa naknadnom elastičnošću, je opravdana (Grafik 4.7.b).

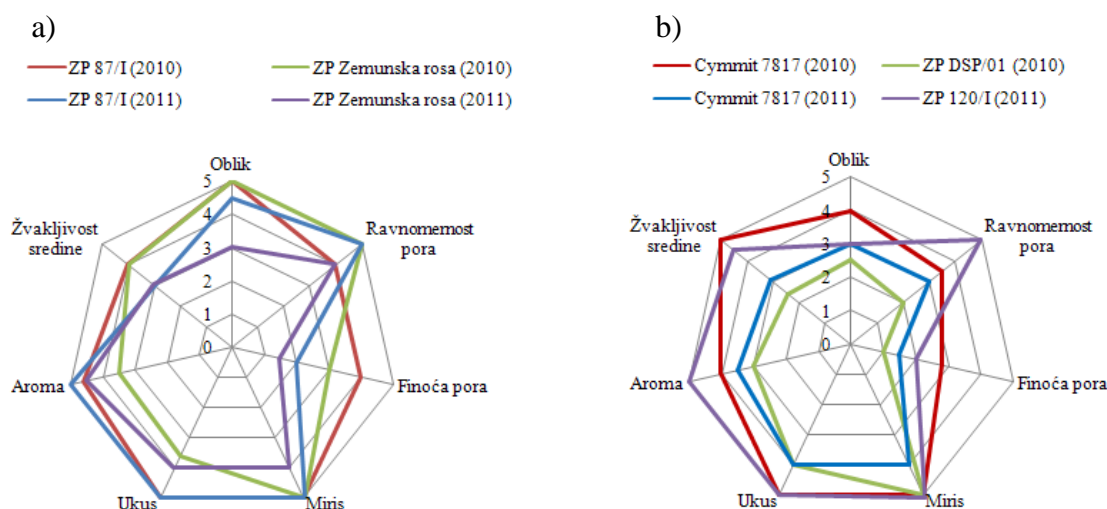
Vrednosti otpora žvakanju su formirali jaku pozitivnu korelaciju sa moći upijanja vode i viskozitetom testa (Grafik 4.7.a). Kao i kod čvrstoće hleba, s obzirom na uticaj slobodnih -SH grupa na pomenuta svojstva testa (Grafik 4.6.), može se zaključiti da će brašno bogato slobodnim -SH grupama dati hleb smanjenog otpora na žvakanje. Prema rezultatima, utvrđena je slaba pozitivna korelacija otpora hleba žvakanju i sadržaja D-LMW i HMW glutenina u brašnu, kao i značajna negativna korelacija sa sadržajem sumporom bogatih glijadina, prvenstveno α/β -glijadina. Ova negativna korelacija navodi na zaključak da hleb sa većom zapreminom ima manji otpor žvakanju i obrnuto, što je i potvrđeno PC analizom (Grafik 4.7.b)



Grafik 4.7. Analiza glavnih komponenti: a) instrumentalnih pokazatelja kvaliteta hleba i reoloških parametara testa hlebne i durum pšenice gajene tokom 2010 i 2011, b) instrumentalnih pokazatelja kvaliteta hleba i proteinskih subjedinića brašna hlebne i durum pšenice gajene tokom 2010 i 2011.

4.4.3. Ocena kvaliteta gotovih proizvoda - Sezorna analiza

Uprkos sve većem interesu u pogledu zdravstvenog efekta hrane, dobre senzorne karakteristike koje zavise kako od kvaliteta sirovina tako i tehnološkog postupka, su i dalje ključna stvar prilikom odabira hrane. Senzorna analiza hleba od brašna genotipova hlebne i durum pšenice gajenih tokom kišne i sušne godine je rađena 24h nakon pečenja, jer se nakon tog vremena najbolje uočavaju razlike u kvalitetu, a rezultati analize su prikazani na grafiku 4.8. a i b.



Grafik 4.8. Senzorna ocena hleba: a) hlebna pšenica 2010 i 2011, b) durum pšenica 2010 i 2011

Srednje vrednosti senzornih karakteristika hlebova hlebnih i durum genotipova pšenice ukazuju da su ocenjivana svojstva, oblik vekne, ravnomernost pora, finoća pora, miris, ukus, aroma i žvkljivost sredine bila sveukupno bolja u uzorcima hleba od brašna genotipova hlebne i durum pšenice gajenih u kišnoj godini u odnosu na ista svojstva hleba od brašna genotipova gajenih u sušnoj godini.

Uzimajući u obzir pojedinačna senzorska svojstva posmatranih hlebova dobijenih od ispitivanih genotipova pšenice, može se uočiti da su najveće razlike ispoljene u pogledu oblika vekne, ravnomernosti finoće pora, što se moglo i očekivati, s obzirom na suštinske razlike u karakteristikama glutena hlebnih i durum genotipova pšenice. Hlebovi dobijeni

od hlebnih genotipova pšenice, gajenih u kišnoj i sušnoj godini, su imali ravnomerne i prilično ravnomerne pore, dok su hlebovi durum genotipova pšenice gajenih u istim uslovima imali prilično neravnomerne i neravnomerne pore, sa izuzetkom genotipa ZP 120/I koji je imao ravnomerne pore. Ovi rezultati potvrđuju ranije navode da čvrstoća proizvoda utiče na neravnomernost pora, obzirom da su durum genotipovi imali krut i neelastičan gluten.

Aroma je ključno senzorsko svojstvo odgovorno za privlačnost pekarskih proizvoda. Isparljiva jedinjenja koja utiču na aromu sredine hleba nastaju usled enzimskih reakcija tokom mešenja testa (*Guinet i Godon, 1994*) i tokom procesa fermentacije (*Birch i sar., 2013*), dok se isparljiva jedinjenja koja utiču na aromu kore formiraju u tokom Majarove reakcije i karamelizacije pri pečenju hleba (*Bianchi i sar., 2008; Cho i Peterson, 2010*). U pogledu mirisa, ukusa i arome, najbolji senzorski kvalitet su ispoljili uzorci hleba od genotipova hlebne pšenice ZP 87/I i durum pšenice 120/I uzgajane u sušnoj godini, dok je najlošiju aromu imao hleb od brašna genotipa durum pšenice ZP DSP/01 uzgajane u kišnoj godini. Pokazalo se da je genotip ZP 87/I u sušnoj godini imao nisku aktivnost LOX ($254,5 \Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$), dok je genotip ZP DSP/01 u kišnoj godini imao visoku aktivnost ovog enzima ($538,0 \Delta\text{aps}/\text{min}/\text{g}$), u poređenju sa ostalim genotipovima korišćenim za proizvodnju hleba što se moglo odraziti na nivo hidroperoksidnih jedinjenja u hlebu nastalih aktivnošću ovog oksidativnog enzima, odnosno na kvalitet hleba u pogledu mirisa, ukusa i arome.

Najbolju žvackljivost sredine imao je genotip durum pšenice Cimmyt 7817 uzgajane u kišnoj godini (5), dok je u narednoj sušnoj godini ona značajno opala (3,1) (Grafik 4.8. b). Hleb ovog genotipa gajenog u kišnoj godini je imao i nizak otpor žvakanju ($416,0 \text{ g}$) kao i visoku zapremina hleba ($228,1 \text{ ml}$). Sa druge strane, zapremina vekne hleba od istog genotipa uzgajanog u sušnoj godini opala je 1,42 puta, dok je otpor žvakanju bio 3 puta viši što je za posledicu imalo nisku žvackljivost. Rezultati dobijeni instrumentalnom analizom opravdavaju rezultate senzorne analize. Takođe, dobra žvackljivost se može povezati i sa viskozitetom koji je bio u pozitivnoj korelaciji sa otporom žvakanju (Grafik 4.7.a), pa je niska vrednost viskoziteta zabeležena u kišnoj godini, nastala kao posledica povišene aktivnosti enzima, činila hleb mekšim i bolje žvackljivim.

Uzimajući u obzir prethodno naznačene opažajne specifičnosti posmatranih hlebova, bolji senzorski kvalitet ostvaren je kod hlebova dobijenih od hlebnih genotipova pšenice. Dobijeni rezultati su pokazali da je hleb dobijen od genotipa pšenice ZP 87/I uzgajane u kišnoj godini, koji je imao najbolji proteinski sastav (najviši sadržaj α/β glijadina, optimalan odnos glijadina i glutenina, najviši sadržaj slobodnih -SH grupa) i najpovoljnija reološka svojstva (Tabela 4.24, Grafici 4.3.a, 4.4.a, 4.5.a), pokazao najbolje senzorne karakteristike.

4.5. Fortifikacija pšeničnog hleba bioaktivnim materijama iz kukuruza plave i bordo boje zrna

4.5.1. Bioaktivne materije pšeničnog i brašna celog zrna kukuruza kokičara plave i bordo boje i njihov antioksidativni potencijal

Dobijeni rezultati pokazuju da je pšenično brašno genotipa ZP 87/I imalo značajno niži sadržaj, ukupnih fenola i flavonoida, u poređenju sa brašnom celog zrna plavog i bordo kokičara. Sadržaj ukupnih fenola u brašnu genotipa 87/I iznosio je 340,19 mg GAE/kg i bio je 7,5 i 8,5 puta niži od sadržaja ukupnih fenola u brašnu plavog odnosno bordo kokičara (2564,10, odnosno 2882,88 mg GAE/kg) (Tabela 4.27.). Nizak sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja detektovan u brašnu genotipa 87/I je opravdan obzirom da se 99% fenolnih jedinjenja nalazi u omotaču zrna pšenice koja se uklone u procesu mlevenja (*Žilić i sar., 2012a*). Prema rezultatima istih autora sadržaj ukupnih fenola u brašnu genotipa ZP 87/I bio je 3,75 mg GAE/kg, dok je u mekinjama iznosio 9506,32 mg GAE/kg. Ovo ukazuje da je proces prerade žitarica veoma bitan i da može imati pozitivan ili negativan uticaj na sadržaj fenolnih jedinjenja, a time i uticaj na njihova bioaktivna svojstva i zdravstveni efekat (*Duodu, 2011*). Sadržaj ukupnih flavonoida u pšeničnom brašnu iznosio je 91,91 mg CE/kg, dok je u plavom i bordo kokičaru bio značajno viši i imao je vrednosti 344,60mg CE/kg, odnosno 284,27 mg CE/kg (Tabela 4.27.). Dobijeni rezultati za sadržaj ukupnih flavonoida u brašnu celog zrna kukuruza su u saglasnosti sa ranijim istraživanjima *Shen i sar. (2009)* i *Žilić i sar. (2012a)*. Međutim, u pšeničnom brašnu, prema istraživanjima *Žilić i sar. (2012a)*, njihov sadržaj nije utvrđen, što ponovo potvrđuje veliki uticaj procesa mlevenja.

Obzirom da je jedino bela boja primarna genetička karakteristika zrna heksaploidne pšenice, sasvim je razumljivo što prisustvo antocijana, kao prirodnih pigmentnih jedinjenja, u brašnu genotipa ZP 87/I nije utvrđeno (Tabela 4.27.). Prema rezultatima prikazanim u tabeli 4.27. sadržaj antocijana u brašnu plavog i bordo kokičara je iznosio 824,46 mg CGE/kg, odnosno 574,55 mg CGE/kg. Među žitaricama, kukuruz obojenog zrna je najvažniji i najbogatiji izvor antocijana. Oni se najvećim delom nalaze u

aleuronskom sloju endosperma i perikarpu i utiču na boju i antioksidativni kapacitet zrna (*Betran i sar., 2000*). U ranijim istraživanjima (*Žilić i sar., 2012c*) utvrđeno je da se sadržaj ukupnih antocijana u zrnu ispitivanih ZP genotipova kukuruza crvenog, bordo i plavog zrna kretao od 2,50 do 696,07 mg CGE/kg. Detektovano je ukupno 13 antocijana sa cijanidim 3-glikozidom kao dominantnom formom čiji se sadržaj kretao od 0,07 do 547,49 mg/kg. Upravo zbog ovako visokog sadržaja antocijana, u vodi rastvorljivih i lako dostupnih flavonoida visokog antioksidativnog potencijala, pristupilo se fortifikaciji pšeničnog hleba kukuruznim brašnom da bi se na taj način poboljšala njegova funkcionalna vrednost.

Fenolne kiseline zajedno sa flavonoidima predstavljaju najzastupljenija polifenolna jedinjenja pšeničnog zrna. Iako je ustanovljeno da su ferulinska i *p*-kumarinska kiselina dominantne fenolne kiseline u pšeničnom brašnu (*Okarter i sar., 2010; Liyana i Shahidi, 2006; Moore i sar., 2005*), u brašnu genotipa 87/I je detektovana samo ferulinska kiselina. Njen sadržaj od 48,63 µg/g je bio 84,24 odnosno 70,29 puta niži od sadržaja ferulinske kiseline detektovane u brašnu plavog i bordo kokičara (Tabela 4.28.). Pored ferulinske kiseline u brašnu ova dva kokičara je detektovana i *p*-kumarinska kiselina. Njen sadržaj se nije značajno razlikovao poređenjem brašna plavog i bordo kokičara i iznosio je 333,63 odnosno 389,60 µg/g. Ovaj sadržaja bio je nešto niži od sadržaja određenog u ljubičastom kukuruzu (*Montilla i sar., 2010*). Prema ranijem istraživanju *Žilić i sar. (2012c)*, 76 do 91% ferulinske i *p*-kumarinske kiseline kukuruznog zrna je u vezanom obliku, dok se s druge strane, *o*-kumarinska kiselina u najvećoj meri nalazila u slobodnom ili esterifikovanom obliku. Kako je nerastvorljiva vezana forma fenolnih kiselina u najvećoj meri prisutna u celom zrnu žitarica, njihova bioiskoristljivost je niska. Bioiskoristljivost ferulinske kiseline iz pšeničnih i kukuruznih mekinja bila je 2,5 do 5%, odnosno čak i niža 0,4 do 0,5% kod glodara nakon konzumacije (*Adam i sar., 2002*).

Upotrebom QUENCHER metode sa ABTS reagensom je određen antioksidativni kapacitet pšeničnog i kukuruznog brašna, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 4.29. Najvažnije hemijsko svojstvo bioaktivnih komponenata je njihova sposobnost da deluju kao antioksidansi. Antioksidativni kapacitet pšeničnog brašna iznosio je 15,96 mmol

Trolox Eq/kg, a *Liu i sar. (2010)* kao i *Yu i sar. (2013)* su dobili znatno niže vrednosti antioksidativnog kapaciteta, što ukazuje da genetički faktori, faktor sredine, procesni uslovi kao i ekstrakcione procedure imaju velikog značaja na nivo antioksidativnog kapaciteta. Najvišu ABTS antiradikalnu aktivnost pokazao je bordo kokičar (36,82 mmol Trolox Eq/kg), dok je značajno nižu aktivnost imao plavi kokičar (21,73 mmol Trolox Eq/kg). *Abdel-Aal i Rabalski (2013)* su ustanovili da su fenolna jedinjenja, a posebno fenolne kiseline glavni činiooci antioksidativnog potencijala kukuruznog zrna, a *Stintzing i sar. (2002)* da sadržaj i specifični sastav derivata antocijana kao i broj i položaj hidroksilnih grupa unutar molekula imaju veliki uticaj na antioksidativni potencijal zrna kukuruza. Kako je sadržaj ovih bioaktivnih komponenata bio značajno viši u kukuruznom brašnu u poređenju sa pšeničnim, dobijene više vrednosti antioksidativne aktivnosti su razumljive.

4.5.2. Uticaj dodatka kukuruza kokičara plave i bordo boje zrna na sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida i antocijana u pšeničnom hlebu

U cilju povećanja funkcionalne vrednosti pšeničnog hleba, 30% od ukupne mase pšeničnog brašna supstituisano je brašnom celog zrna kukuruza kokičara plave i bordo boje. Treba međutim imati u vidu da termička degradacija antocijana predstavlja značajan problem pri korišćenju kukuruza obojenog zrna kao sirovine u pekarskoj industriji (*Pasqualone i sar., 2014*). Njihova stabilizacija može se postići dodavanjem limunske kiseline u prehrambene proizvode (*Žilić i sar., 2016*), kao i njihovom inkapsulacijom (*Mahdavi i sar., 2014*). Blago kisela sredina hleba podržava stabilnu acilovanu formu antocijana pri pečenju hleba što opravdava upotrebu brašna kukuruza obojenog zrna.

U cilju ispitivanja razlika između sadržaju bioaktivnih materija u pšeničnom hlebu i hlebu sa dodatkom plavog i bordo kokičara, određen je sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, antocijana i fenolnih kiselina, a rezultati su prikazani u tabelama 4.27. i 4.28.

Rezultati prikazani u tabeli 4.27. pokazuju da je proces pečenja imao uticaj na povećanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja u pšeničnom hlebu. Preračunato po kilogramu brašna sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u sredini i kori hleba bio je 74%,

odnosno 149% viši u poređenju sa sadržajem u brašnu genotipa 87/I. Ova povećanja se mogu objasniti činjenicom da zbog visokih temperatura u procesu pečenja hleba dolazi do oslobađanja fenolnih jedinjenja iz vezanih formi što omogućava njihovu lakšu ekstrakciju, a samim tim i prividnog povećanja njihovog sadržaja. Sadržaj ukupnih fenola u sredini hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara iznosio je 1291,98 mg GAE/kg, odnosno 1350,27 mg GAE/kg hleba, dok je u kori ovih hlebova iznosio 1639,36 mg GAE/kg, odnosno 1323,01 mg GAE/kg hleba (Tabela 4.27.). Ovi rezultati ukazuju da je kukuruzom fortifikovan hleb imao oko četiri puta viši sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u sredini, preračunato kako po kg hleba tako i kg ukupnog brašna, u odnosu na isti u pšeničnom hlebu.

U odnosu na fenolne kiseline veći broj flavonoida žitarica nalazi se u rastvorljivom konjugovanom obliku što ih čini termički manje stabilnim. U zavisnosti od režima pečenja temperatura u kori hleba se kreće od 180-210°C, dok u sredini hleba temperatura ne prelazi 100°C. Stoga je, zbog termičke degradacije, smanjenje sadržaja ukupnih flavonoida od 55,6% detektovano u kori pšeničnog hleba u odnosu na sadržaj u brašnu razumljivo. Niža temperatura od 100°C nije uslovlila statistički značajne razlike između sadržaja ukupnih flavonoida u sredini pšeničnog hleba i brašnu. Supstitucija pšeničnog brašna kukuruznim, uslovlila je povećanje sadržaja ukupnih flavonoida u smeši sa plavim i bordo kukuruzom za u proseku 1,7 puta u odnosu na sadržaj u pšeničnom brašnu. Međutim, kao i kod pšeničnog hleba, režim pečenja uslovio je smanjenje sadržaja ukupnih flavonoida u sredini i kori hleba sa dodatkom plavog i bordo kukuruza u poređenju sa njihovim sadržajem u smeši. Niži sadržaj ukupnih flavonoida, preračunat po kg ukupnog brašna, koji je uočten u sredini hleba sa dodatkom plavog i bordo kukuruza (91,27 mg CE/kg, odnosno 81,53 mg CE/kg) u odnosu na sadržaj u pšeničnom hlebu (115,82 mg CE/kg) mogao bi se objasniti degradacijom rastvorljivih flavonoida, prvenstveno antocijana (Tabela 4.27.).

U skladu sa ovim navodima, sadržaj antocijana (po kg ukupnog brašna) u uzorcima hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara je bio niži u odnosu na sadržaj u smešama. U sredini hleba obogaćenog plavim i bordo kukuruzom iznosio je 269,62 mg CGE/kg, odnosno 149,89 mg CGE/kg, dok je u kori bio 145,42 mg CGE/kg, odnosno 95,97 mg CGE/kg (Tabela 4.27.). Ovi rezultati ukazuju na termičku labilnost antocijana i evidentno

veći stepen njihove termičke degradacije u kori hleba, što se može objasniti višim temperaturama tokom procesa pečenja na samoj površini kore. I pored ovih degradacija, obzirom da pšenično brašno i hleb ne sadrže antocijane, sadržaj ovih fenola u sredini hleba sa dodatkom plavog i bordo kukuruzom od 142,32 mg CGE/kg, odnosno 84,44 mg CGE/kg hleba, predstavlja značajno obogaćenje pšeničnog hleba u smislu njegove funkcionalnosti i eventualnog zdravstvenog efekta.

Rezultati prikazani u tabeli 4.28. pokazuju da je sadržaj ferulinske kiseline u sredini i kori hleba obogaćenog plavim i bordo kokičarem za, u proseku, 24,5 i 22,5 puta viši u odnosu na sadržaj u sredini i kori pšeničnog hleba. Kako u pšeničnom hlebu *p*-kumarinska kiselina nije detektovana, ukupan sadržaj ove kiseline određen u obogaćenom hlebu je rezultat fortifikacije i potiče od *p*-kumarinske kiseline poreklom iz kukuruza. Sadržaj fenolnih kiseline bio značajno promenjen rezimom pečenja, te je došlo do njihovog značajnog povećanja kako u pšeničnom hlebu tako i hlebu sa dodatkom kukuruza u poređenju sa sadržajem u brašnu, odnosno smešama, što su takođe ustanovili i *Abdel-Aal i Rabalski (2013)* u svom istraživanju. Tako je sa 48,63 µg/g detektovanom u pšeničnom brašnu sadržaj ferulinske kiseline u sredini i kori pšeničnog hleba porastao na 77,79 µg/g, odnosno na 74,13 µg/g ukupnog brašna. Porast sadržaja ferulinske, kao i *p*-kumarinske kiseline je uočen i kod hlebova obogaćenih kukuruznim brašnom u poređenju sa njihovim sadržajem u smešama. Preračunato po gramu ukupnog brašna, sadržaj ferulinske kiseline u sredini i kori hleba pripremljenog od smeše pšeničnog brašna i brašna plavog kokičara je sa 1262,98 µg/g, koliko je bilo u smeši, porastao 47,8%, odnosno 44,5%. Kod hleba sa dodatkom bordo kokičara ovo povećanje je bilo još više i iznosilo je 66,5% u sredini i 50,9% u kori hleba. Takođe, dobijene vrednosti pokazuju da je sadržaj *p*-kumarinske kiseline, preračunat po gramu ukupnog brašna, povećan za 45,9% i 62,4% u sredinama hlebova sa dodatkom plavog, odnosno bordo kokičara u poređenju sa vrednostima u smešama (Tabela 4.28.). Ove promene u sadržaju ferulinske i *p*-kumarinske, se mogu objasniti pozitivnim uticajem procesa pečenja na rastvorljivost vezanih formi fenolnih kiselina, usled čega dolazi do njihovog oslobađanja i prividnog povećanja. *Holtekjølen i sar. (2008)* i *Menga i sar. (2010)* posmatrali su uticaj pečenja hleba na sadržaj slobodnih i vezanih fenolnih kiselina. Studije ovih autora pokazale su da se u procesu pečenja hleba

smanjuje sadržaj slobodnih fenolnih kiselina, premda treba imati u vidu da je hleb u ovim istraživanjima obogaćen ili pšeničnim mekinjama (*Menga i sar., 2010*) ili ječmenim brašnom (*Holtekjølen i sar., 2008*). Očigledno je da uticaj pečenja na slobodne ili vezane fenolne kiseline u hlebu zavisi od prirode i izvora fenolnih jedinjenja, kao i samog procesa pečenja. Iako su evidentne velike razlike u temperaturama u sredini i kori hleba prilikom pečenja, nisu uočene statistički značajne razlike između sadržaja kako ferulinske tako i *p*-kumarinske kiseline u sredinama i korama ispitivanih uzoraka hleba. *Menga i sar. (2010)* su u svom istraživanju konstatovali jako male promene u sadržaju ukupnih fenolnih kiselina nastale tokom pečenja kontrolnog uzorka hleba i hleba obogaćenog mekinjama.

Obzirom na efekat organskih kiselina na stabilizaciju antocijana (*Žilić i sar., 2016*), značaj šećera kao reaktanata Majarove reakcije (*Vhangani i Van Wyk, 2013*) i njihovu široku upotrebu u pekarskoj industriji, jedna od smernica rada bila je i određivanje zavisnosti askorbinske kiseline i šećera sa sadržajem fenolnih jedinjenja i antioksidativnim kapacitetom hleba. Značajno više vrednosti sadržaja ukupnih fenola se uočavaju u uzorcima sredine i kore pšeničnog hleba sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera (642,41 mg GAE/kg, odnosno 822,87 mg GAE/kg) u odnosu na njihov sadržaj u uzorcima bez ovih dodataka (327,01 mg GAE/kg, odnosno 469,01 mg GAE/kg). Takođe, rezultati pokazuju da je dodatak askorbinske kiseline i šećera imao uticaj na povećanje sadržaj ukupnih fenola u sredini hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara za 21,3%, odnosno 12,2% u odnosu na sadržaj u hlebu bez dodataka (Tabela 4.27.). Treba napomenuti da Folin-Ciocalteu reagens, koji se koristi u analizi sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja, ne reaguje samo sa fenolnim komponentama već da može stupati u reakciju i sa drugim redukujućim supstancama. Pojedini produkti Majarove reakcije nastali u procesu pečenja, takođe imaju redukujuću strukturu sa kojim Folin-Ciocalteu reagens reaguje (*Žilić i sar., 2016*), te je prividno povećan sadržaj ukupnih fenola mogao biti rezultat produkata Majarove reakcije čiji je sadržaj viši u uzorcima hleba sa dodatim šećerom (*Kroh, 1994*).

Međutim, rezultati prikazani u tabeli 4.27. pokazuju da je dodatak askorbinske kiseline i šećera dodatno promovisao degradaciju ukupnih flavonoida i antocijana prvenstveno u sredini i kori hleba sa dodatkom bordo kokičara. Smanjenje sadržaja ovih fenolnih jedinjenja u prisustvu askorbinske kiseline se može pripisati katalitičkim

aktivnostima produkata njene degradacije. Prema *Deutsch (1998)* oksidacija askorbinske kiseline u dehidroksiaskorbat i polu-dehidroksiaskorbat, katalizuje formiranje reaktivnih formi kiseonika koji promovišu oksidaciju polifenolnih jedinjenja. Sadržaj ukupnih flavonoida od 45,93 mg CE/kg, detektovan u sredini hleba obogaćenog bordo kokičarem, a bez dodatka askorbinske kiseline i šećera, smanjen na 35,99 mg CE/kg u sredini hleba sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera. U kori je ovo smanjenje iznosilo 18,3%. U poređenju sa sadržajem antocijana u sredini hleba obogaćenim plavim i bordo kokičarem sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera, sadržaj antocijana u uzorcima bez ovih dodataka bio je niži u proseku 1.3 puta. Ovi rezultati potvrđuju ranije navode *Nikkhan i sar. (2007)*, *De Rosso i Mercadante (2007)* i *Galli i Clemente (2013)*, da prisustvo saharoze, askorbinske kiseline i fenolnih komponenata može izmeniti kinetiku degradacije antocijana. Prisustvo askorbinske kiseline je očigledno pokazalo negativan uticaj na stabilnost antocijana, a do istog zaključka su došli i *Brenes i sar. (2005)* koji su ustanovili da askorbinska kiselina uzrokuje međusobne degradacije ovih komponenata. S druge strane, šećer i njihovi degradacioni produkti zajedno sa askorbinskom kiselinom, prema *Krifi i sar. (2000)* smanjuju stabilnost antocijana, a u njihovoj reakciji nastaju braon pigmentni polimeri. Kako je ranije utvrđeno viša temperatura u kori tokom pečenja hleba odrazila se na smanjenje sadržaja ukupnih antocijana kod hleba obogaćenim kukuruzom sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera. Sadržaj antocijana u sredini hleba obogaćenog plavim i bordo kokičarem, uz dodatak askorbinske kiseline i šećera iznosio je 108,73 odnosno 60,90 mg CGE/kg hleba, dok je u kori bio niži 1,32 odnosno 1,27 puta.

Dodatak askorbinske kiseline i šećera uticao je na smanjenje sadržaja ferulinske kiseline kako u sredini pšeničnog hleba tako i hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara u odnosu na sredinu hlebova bez dodataka (Tabela 4.28.). Ovo smanjenje iznosilo je 15,6%, 30,9%, odnosno 4,8%. Sadržaj *p*-kumarinske kiseline u sredini hleba obogaćenog plavim kokičarem sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera iznosio je 81,42 µg/g, dok je u uzorku bez ovih dodataka iznosio 52,85 µg/g. Interesantno je da viša temperatura u kori kako pšeničnog hleba tako i hleba obogaćenog kukuruzom, u odnosu na temperaturu u sredini, nije imala uticaj na degradaciju fenolnih kiselina u hlebu sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera. Naprotiv sadržaj fenolnih kiselina u kori je bio viši u odnosu na njihov

sadržaj u sredini. Primera radi sadržaj ferulinske i *p*-kumarinske kiseline u sredini hleba obogaćenog plavim kukuruzom sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera iznosio je 726,92 µg/g, odnosno 52,85 µg/g, dok je u kori ovog hleba iznosio 945,06 µg/g, odnosno 73,79 µg/g.

Tabela 4.27. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i antocijana u pšeničnom i kukuruznom brašnu, pšeničnom hlebu kao i hlebu sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna

	Ukupni fenoli (mg GAE/kg)		Ukupni flavonoidi (mg CE/kg)		Ukupni antocijani (mg CGE/kg)	
	po kg hleba	po kg ukupnog brašna	po kg hleba	po kg ukupnog brašna	po kg hleba	po kg kukuruznog brašna
Brašno						
ZP 87/I		340,19 ^d		91,91 ^{fgh}		n.d.
plavi kokičar		2564,10 ^a		344,60 ^a		824,46 ^a
bordo kokičar		2882,88 ^a		284,27 ^b		574,55 ^b
Smeša						
70% ZP 87/I+30% P.K.		1007,36 ^{bc}		167,72 ^c		247,34 ^c
70% ZP 87/I+30% B.K.		1102,99 ^{bc}		149,62 ^{cd}		172,37 ^e
Hleb						
87/I sredina	327,01 ^g	590,25 ^{cd}	64,17 ^a	141,78 ^{def}	n.d.	n.d.
87/I kora	469,01 ^{fg}	846,55 ^{cd}	22,62 ^h	40,83 ^j	n.d.	n.d.
87/I+A+Š sredina	642,41 ^{ef}	1189,74 ^{bc}	41,27 ^e	76,43 ^{ghij}	n.d.	n.d.
87/I+A+Š kora	822,87 ^e	1523,96 ^b	41,00 ^e	75,93 ^{ghij}	n.d.	n.d.
70% 87/I+30% P.K. sredina	1291,98 ^d	2293,25 ^a	51,42 ^c	91,27 ^{fgh}	142,32 ^a	252,62 ^c
70% 87/I+30% P.K. kora	1639,36 ^a	2909,76 ^a	60,26 ^b	106,96 ^{efg}	81,93 ^c	145,40 ^f
70% 87/I+30% P.K.+A+Š sredina	1566,54 ^{ab}	2838,57 ^a	52,17 ^c	94,53 ^{fgh}	108,73 ^b	197,02 ^d
70% 87/I+30% P.K.+A+Š kora	1503,96 ^{abc}	2725,18 ^a	63,12 ^a	114,38 ^{def}	82,09 ^c	148,75 ^f
70% 87/I + 30% B.K. sredina	1350,27 ^{bcd}	2396,73 ^a	45,93 ^d	81,53 ^{fghi}	84,44 ^c	149,89 ^f
70% 87/I + 30% B.K. kora	1323,01 ^{cd}	2348,35 ^a	35,25 ^f	62,57 ^{hij}	54,07 ^e	95,97 ^h
70% 87/I+30% B.K.+A+Š sredina	1538,28 ^{ab}	2787,35 ^a	35,99 ^f	65,21 ^{hij}	60,90 ^d	110,35 ^g
70% 87/I+30% B.K.+A+Š kora	1354,57 ^{bcd}	2454,48 ^a	28,81 ^g	52,20 ^{ij}	47,84 ^f	86,68 ⁱ

Vrednosti sa istim slovom unutar iste kolone nisu statistički različite ($p > 0,05$). Razlika srednjih vrednosti između uzoraka određena je Tuckey testom. P.K.-plavi kokičar, B.K.-bordo kokičar, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

Tabela 4.28. Sadržaj fenolnih kiselina u pšeničnom i kukuruznom brašnu, pšeničnom hlebu kao i hlebu sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna

	Fenolne kiseline			
	Ferulinska($\mu\text{g/g}$)		<i>p</i> -kumarinska($\mu\text{g/g}$)	
	po g hleba	pog ukupnog brašna	pog hleba	pog ukupnog brašna
Brašno				
ZP 87/I		48,63 ^g		n.d.
plavi kokičar		4096,45 ^a		333,63 ^b
bordo kokičar		3417,99 ^b		389,60 ^a
Smeša				
70% ZP 87/I+30%P.K.		1262,98 ^{ef}		100,09 ^f
70% ZP 87/I+30%B.K.		1059,44 ^f		116,88 ^{ef}
Hleb				
87/I sredina	43,10 ^d	77,79 ^g	n.d.	n.d.
87/I kora	41,07 ^d	74,13 ^g	n.d.	n.d.
87/I+A+Š sredina	36,38 ^d	67,38 ^g	n.d.	n.d.
87/I+A+Š kora	42,09 ^d	77,96 ^g	n.d.	n.d.
70% 87/I+30% P.K. sredina	1051,58 ^a	1866,55 ^c	82,27 ^b	146,03 ^{de}
70% 87/I+30% P.K. kora	1027,94 ^a	1824,59 ^c	81,42 ^b	144,52 ^{de}
70% 87/I+30% P.K.+A+Š sredina	726,92 ^c	1317,18 ^e	52,85 ^c	95,76 ^f
70% 87/I+30% P.K.+A+Š kora	945,06 ^{ab}	1712,45 ^{cd}	73,79 ^b	133,71 ^{bc}
70% 87/I + 30%B.K. sredina	993,68 ^{ab}	1763,78 ^{cd}	106,92 ^a	189,78 ^c
70% 87/I + 30%B.K. kora	900,40 ^b	1598,21 ^d	99,64 ^a	176,86 ^{cd}
70% 87/I+30% B.K.+A+Š sredina	946,09 ^{ab}	1714,32 ^{cd}	101,38 ^a	183,70 ^c
70% 87/I+30% B.K.+A+Š kora	954,78 ^{ab}	1730,06 ^{cd}	103,40 ^a	187,36 ^c

Vrednosti sa istim slovom unutar iste kolone nisu statistički različite ($p>0,05$). Razlika srednjih vrednosti između uzoraka određena je Tuckey testom. P.K.-plavi kokičar, B.K.-bordo kokičar, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

4.5.3. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na antioksidativni kapacitet pšeničnog hleba

Obzirom na visok antioksidativni potencijal pšeničnog brašna fortifikacija kukuruznim brašnom nije imala uticaja. Antioksidativni potencijal sredine pšeničnog hleba i hleba obogaćenog kukuruzom bio je ujednačen i kretao se od 17,93 do 18,72 mmol Trolox Eq/kg, dok je vrednost u kori ovih hlebova bila gotovo identična i iznosila je u proseku 21, 33 mmol Trolox Eq/kg (Tabela 4.29.). Međutim, proces pečenja hleba je značajno promenio vrednosti antioksidativnog potencijala pšeničnog hleba i hleba obogaćenog kukuruzom. Preračunato na kg ukupnog brašna, sredine pšeničnog hleba, hlebova sa dodatkom plavog i bordo kokičara imale su antioksidativni potencijal od 33,80 mmol Trolox Eq/kg, 31,85 mmol Trolox Eq/kg, odnosno 31,85 mmol Trolox Eq/kg. Ove vrednosti bile su više za 52,8%, 35,75, odnosno 21,5% u odnosu na vrednosti u brašnu, odnosno smešama. Pored toga viša temperatura u kori hleba u odnosu na temperaturu u sredini uticala je na dodatno povećanje antioksidativnog potencijala. Ovi rezultati ukazuju da produkti Majarove reakcije imaju daleko viši antioksidativni potencijal u odnosu na fenolna jedinjenja, što je u saglasnosti sa rezultatima *Žilić i sar. (2016)*. Preračunato na kg ukupnog brašna, antioksidativni kapacitet sredine pšeničnog hleba je dodatkom askorbinske kiseline i šećera povećan 114,2% u odnosu uzorak bez ovih dodataka, dok je kod kore ovaj rast bio znatno viši i iznosio je 146,4% (Tabela 4.29.). Antiradikalaska aktivnost sredine hlebova obogaćenih plavim i bordo kokičarem porasla 2,3 puta dodatkom askorbinske kiseline i šećera u odnosu na uzorke bez ovih dodataka. Iako je antioksidativni kapacitet u sredinama i korama hleba sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera, bio rezultat sinergističkog dejstva bioaktivnih jedinjenja i produkata Majarove reakcije, ovi rezultati još jednom potvrđuju izuzetno visok antioksidativni potencijal melanoidina. Kako je ranije ustanovljeno (Tabela 4.27.) dodatak askorbinske kiseline je uticao na povećanje sadržaja ukupnih fenola ali i smanjenje sadržaja antocijana u ispitivanim uzorcima hleba. Međutim, kako su *Slavin i sar. (2013)* ustanovili, degradacioni produkti antocijana zadržavaju u manjoj ili većoj meri antioksidativna svojstva u zavisnosti od stepena njihove termičke degradacije. Uz to dodatak šećera pospešuje Majarovu reakciju, a samim tim i

intezivnije stvaranje produkata Majarove reakcije, koji prema *Vhangani i Van Wyk (2013)* poseduju antioksidativna svojstva, uključujući prekidanje lančane reakcije slobodnih radikala, dekompoziciju vodonik peroksida kao i „hvatanje“ radikala kiseonika. Uzimajući u obzir rezultate *Rababah i sar. (2005)*, može se zaključiti da askorbinska kiselina sa svojim antioksidativnim potencijalom koji poseduje nije imala uticaj na ukupni antioksidativni potencijal ispitivanih uzoraka hleba.

Tabela 4.29. Antioksidativni kapacitet pšeničnog i kukuruznog brašna, pšeničnog hleba kao i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna

	Antioksidativni kapacitet (mmol Trolox Eq/kg)	
	po kg hleba	po kg ukupnog brašna
Brašno		
ZP 87/I		19,96 ^f
plavi kokičar		21,73 ^f
bordo kokičar		36,82 ^{de}
Smeša		
70% ZP 87/I+30%P.K.		20,49 ^f
70% ZP 87/I+30%B.K.		25,02 ^f
Hleb		
87/I sredina	18,72 ^c	33,80 ^{de}
87/I kora	21,40 ^c	38,62 ^d
87/I+A+Š sredina	39,09 ^b	72,40 ^c
87/I+A+Š kora	51,39 ^a	95,17 ^a
70% 87/I+30% P.K. sredina	17,93 ^c	31,85 ^e
70% 87/I+30% P.K. kora	21,30 ^c	37,81 ^{de}
70% 87/I+30% P.K.+A+Š sredina	39,79 ^b	72,11 ^c
70% 87/I+30% P.K.+A+Š kora	47,53 ^a	86,12 ^b
70% 87/I + 30% B.K. sredina	17,94 ^c	31,85 ^e
70% 87/I + 30% B.K. kora	21,30 ^c	37,81 ^{de}
70% 87/I+30% B.K.+A+Š sredina	41,73 ^b	75,62 ^c
70% 87/I+30% B.K.+A+Š kora	47,78 ^a	86,58 ^b

Vrednosti sa istim slovom unutar iste kolone nisu statistički različite ($p>0,05$). Razlika srednjih vrednosti između uzoraka određena je Tuckey testom. P.K.-plavi kokičar, B.K.-bordo kokičar, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

4.5.4. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na boju i pH vrednost pšeničnog hleba

Sa stanovišta tržišta, atraktivna i stabilna boja je veoma važna senzorna karakteristika hrane. U poslednjih nekoliko godina, prehrambena industrija sve više koristi različita prirodna pigmentna jedinjenja biljnog porekla koja u isto vreme imaju i snažan antioksidativni potencijal. Za razliku od veštačkih dodataka, prirodne boje privlače veliko interesovanje zbog veće bezbednosti, kao i potencijalnih zdravstvenih efekata. Međutim, dodatak prirodnih pigmentnih jedinjenja u prehrambene sisteme predstavlja izvestan izazov zbog njihove niske stabilnosti, odnosno osetljivosti na faktore proizvodnje kao što su svetlost, kiseonik, temperatura i pH vrednost.

Rezultati merenja boje brašna, kao i sredine i kore uzoraka hleba od pšeničnog brašna i hlebova sa dodatkom plavog i bordo kukuruza kokičara prikazani su u tabeli 4.30. Na osnovu dobijenih rezultata, može se uočiti da je pšenično brašno bilo svetlije od brašna plavog i bordo kukuruza kokičara 32,43%, odnosno 37,42%, na šta ukazuju L* vrednosti. Takođe se može uočiti da je pšenično brašno imalo veći udeo zelenog i žutog tona. Tamnija boja brašna plavog i bordo kukuruza kokičara može se opravdati činjenicom da kukuruzno brašno ima značajno viši sadržaj ukupnih fenola i antocijana u poređenju sa pšeničnim brašnom (Tabela 4.27.). Boja plavog i bordo kukuruza potiče od antocijana, u vodi rastvorljivih glikozida sa flavilium nukleusom koji u osnovi pruža širok spektar boja, od crvene do ljubičaste/plave (*Stintzing i sar., 2002*).

Imajući ovo u vidu, veći udeo crvenog i manji udeo žutog tona u sredini hleba sa dodatkom kukuruznog brašna u poređenju sa pšeničnim hlebom je opravdan. Udeo crvenog tona sredina uzoraka hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara je iznosio 6,77 i 6,19, dok je on bio oko 6 puta niža kod pšeničnog hleba. Parametar b* je za sredinu pšeničnog hleba imao vrednost od 17,72, a za sredine hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara su bile 71,5%, odnosno 70,5% niže. Prisustvo antocijana je svakako uticalo i na značajno niže L* vrednosti, odnosno tamniji izgled sredina hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara. Ova tamnija boja može biti posledica prisustva velike koncentracije cijanidin 3-glukozida kao najdominantnije forme antocijana (*Žilić i sar., 2012c*) čije je

prisustvo očigledno uslovalo pomeranje maksimuma apsorpcije ka većim talasnim dužinama, koje odgovaraju tamnijoj boji kod hleba sa dodatkom kukuruznog brašna u odnosu na hleb od pšeničnog brašna. Kore uzoraka pšeničnog hleba, hleba sa dodatkom plavog i hleba sa dodatkom bordo kokičara nisu imale značajno različite udele crvenog tona (12,16, 12,94, odnosno 11,07), dok je udeo žutog tona kore pšeničnog hleba bio značajno veći u poređenju sa korama kukuruznih hlebova. Značajno tamnija boja površine kore (55,47) u odnosu na sredinu (65,49) koja je uočena kod uzorka pšeničnog hleba, nastala je očigledno kao rezultat formiranja smeđih polimera melanoidina tokom Majarove reakcije prilikom pečenja. Međutim, kod uzoraka sa dodatkom plavog i bordo kokičara nije bilo statistički značajne razlike u svetloći sredine i kore, što ukazuje da je visok sadržaj ukupnih fenola, prvenstveno antocijana koji je ustanovljen u brašnu ovih kokičara (Tabela 4.27.), delom inhibirao Majarovu reakciju i stvaranje pigmentnih jedinjenja koja mogu imati negativan efekat na zdravlje ljudi (*Totlani i Peterson, 2006, Kocadağlı i sar., 2015*).

Kako je već poznato da dodatak šećera utiče na intenziviranje Majarove reakcije, uzorak pšeničnog hleba sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera imao značajno tamniju boju kore (47,17) u poređenju sa korom pšeničnog hleba (55,47). Međutim, poređenjem boje kore hleba sa plavim kokičarem i hleba obogaćenog ovim kukuruzom uz dodatkom askorbinske kiseline i šećera, ove razlike nisu uočene, što ukazuje na uticaj kiseline. Do sličnih rezultata došli su i *Rababah i sar. (2005)*. Isto je ustanovljeno i u slučaju hleba sa dodatkom bordo kokičara. Rezultati ukazuju da, za razliku od limunske kiseline koja koja stabilizuje antocijane, koja pospešuje njihovu lakšu ekstrakciju, a time utiče i na intenzivniju obojenost kukuruznog keksa (*Žilić i sar., 2016*), askorbinska kiselina nije imala ovakav uticaj. Parametri a^* i b^* u navedenim uzorcima bili su znatno viši u odnosu na njihove vrednosti kod hleba bez dodataka.

Na osnovu dobijenih vrednosti pH od 5,65 i 5,25 za sredinu i koru uzorka hleba od pšeničnog brašna (Tabela 4.30.), može se uočiti da hleb spada u grupu blago kiselih namirnica. pH vrednosti sirovina koje ulaze u sastav hleba su veoma bitne, a dobijene vrednosti od 5,25, 5,46, odnosno 5,39 za pšenično brašno, brašno plavog i bordo kokičara su nešto niže od utvrđenih u istraživanju *Zanoni i sar. (1993)*. pH vrednosti sredine hleba sa dodatkom plavog i bordo kukuruza kokičara bile su 5,75, odnosno 5,98. Askorbinska

kiselina uticala je na smanjenje pH vrednosti uzoraka hleba. U sredini hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara pH vrednost je smanjena na 4,89, odnosno 4,92. Niže pH vrednosti uticale su na ispoljavanje svetlo i tamno roze boje sredine hlebova sa dodatkom plavog odnosno bordo kokičara, dok su hlebovi bez dodatka askorbinske kiseline imali svetlo i tamno ljubičastu boju sredine (Slika 4.8.). Ove promene boje se mogu objasniti reakcijom hidratacije pirilijum jezgra koja je odgovorna za gubitak boje antocijana u slabokiselom rastvoru. Dobijene vrednosti pH su takođe uticale na rast i aktivnost kvasca i drugih mikroorganizmima, a samim tim i na fizičko stanje glutena, pa su dobijeni hlebovi sa nižom zapreminom, većom čvrstoćom i većim otporom na žvakanje (Grafik 4.9.).

Tabela 4.30. pH vrednosti i boja brašna i hleba od pšeničnog i kukuruza crvenog i plavog zrna

	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	pH
Brašno				
87/I	93,13 ^a	-1,74 ^h	10,07 ^{gh}	5,25
plavi kokičar	62,93 ^{bc}	6,85 ^f	1,32 ^j	5,46
bordo kokičar	58,28 ^d	8,63 ^f	5,00 ⁱ	5,39
Hleb				
87/I sredina	65,49 ^b	1,00 ^g	17,72 ^e	5,65
87/I kora	55,47 ^{de}	12,16 ^{bc}	27,68 ^a	5,25
87/I+A+Š sredina	62,98 ^c	1,98 ^g	18,37 ^e	4,54
87/I+A+Š kora	47,17 ^h	15,29 ^a	22,35 ^{bc}	4,48
70% 87/I+30% P.K. sredina	52,46 ^f	6,77 ^f	5,05 ⁱ	5,75
70% 87/I+30% P.K. kora	52,67 ^{ef}	12,94 ^b	20,22 ^d	5,59
70% 87/I+30% P.K.+A+Š sredina	57,09 ^d	10,23 ^d	9,09 ^h	4,89
70% 87/I+30% P.K.+A+Š kora	52,23 ^f	15,09 ^a	23,65 ^b	4,84
70% 87/I + 30% B.K. sredina	48,01 ^{gh}	6,19 ^f	5,23 ⁱ	5,98
70% 87/I + 30% B.K. kora	48,52 ^{gh}	11,07 ^{cd}	12,45 ^f	5,39
70% 87/I+30% B.K.+A+Š sredina	50,41 ^{fg}	10,36 ^d	10,74 ^g	4,92
70% 87/I+30% B.K.+A+Š kora	49,51 ^{fgh}	14,88 ^a	21,90 ^{cd}	4,87

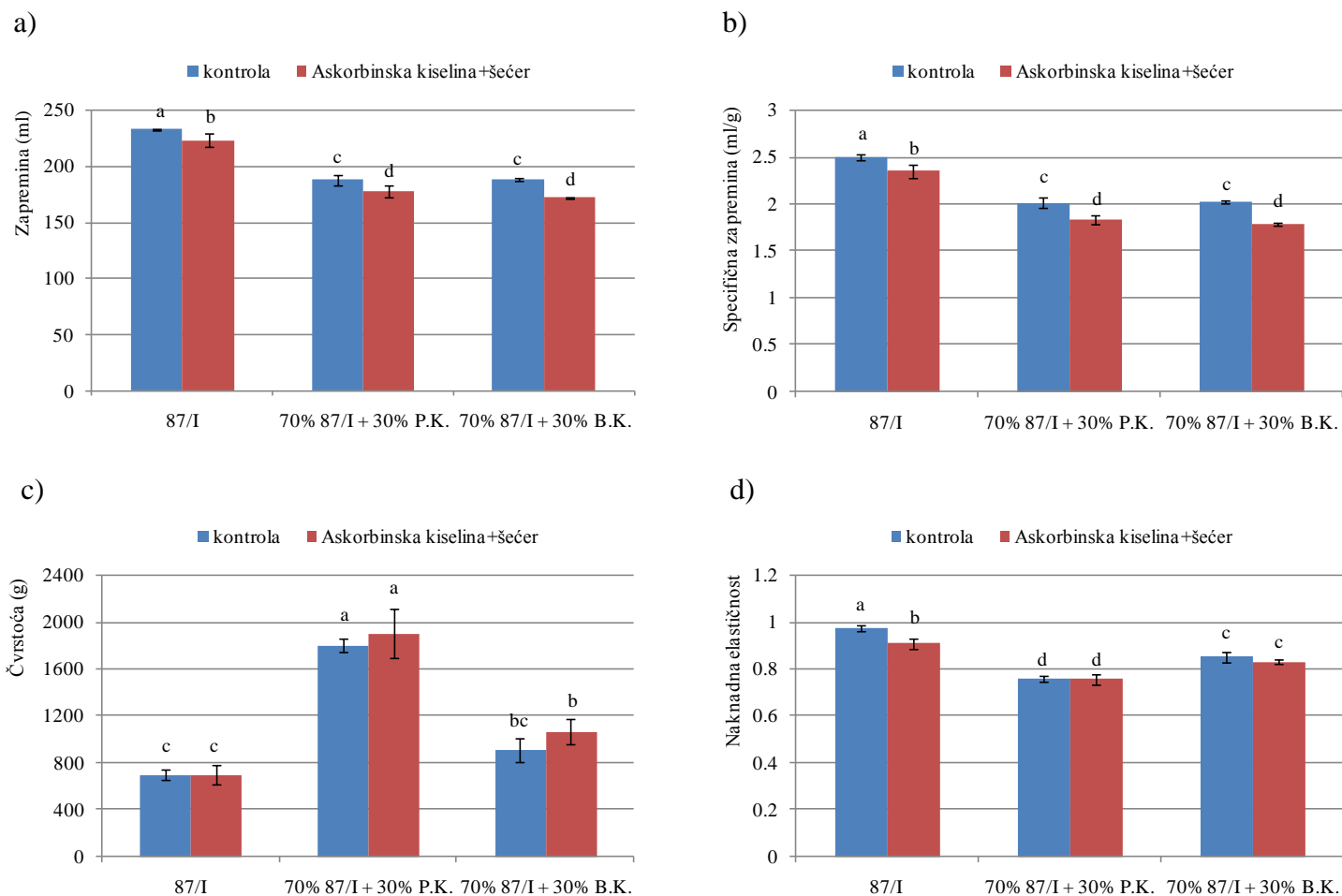
Vrednosti sa istim slovom unutar iste kolone nisu statistički različite ($p>0,05$). Razlika srednjih vrednosti između uzoraka određena je Tuckey testom. P.K.-plavi kokičar, B.K.-bordo kokičar, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

4.5.5. Uticaj dodatka kukuruza plave i bordo boje zrna na instrumentalne parametre

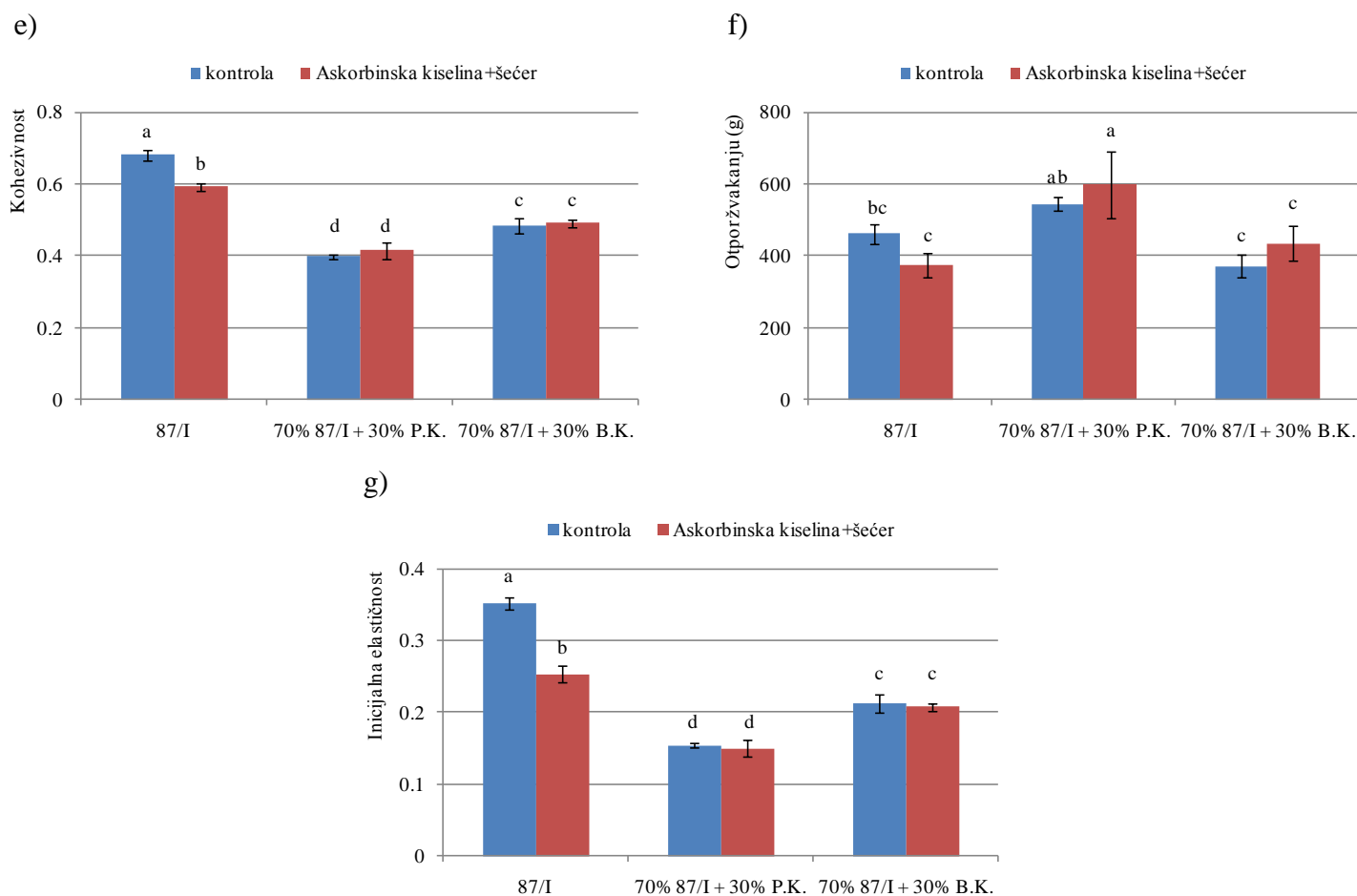
Iako fortifikacija pšeničnog brašna integralnim brašnom kukuruza plave i bordo boje zrna, bogatog fitohemikalijama sa biološkom aktivnošću, može poboljšati funkcionalnu vrednost pekarskih proizvoda, supstitucija pšeničnog brašna kukuruznim redukuje tehnološki kvalitet hleba usled smanjenja količine glutena, čime se smanjuje jačina brašna i kapacitet zadržavanja gasa.

Na osnovu rezultata predstavljenih na Grafiku 4.9. može se uočiti da sirovinski sastav umnogome utiče na zapreminu vekne i da je supstitucija dela pšeničnog brašna brašnom plavog i bordo kokičara uticala na redukciju zapremine i specifične zapremine vekni hleba. Kod uzoraka hleba sa dodatkom plavog i bordo kukuruza kokičara uočeno je smanjenje zapremine za 20% u odnosu na pšenični hleb (Grafik 4.9.a). Ovo se može objasniti činjenicom da kukuruzno brašno ne sadrži gluten koji bi omogućio razvijanje elastičnog testa i zadržavanje mehurića gasa, kao što je to slučaj kod pšeničnog brašna. Treba napomenuti da je u ranijim istraživanjima ustanovljeno da se sa povećanjem udela kukuruznog brašna, kao supstituenta pšeničnog brašna, smanjuje zapremina i specifična zapremina gotovog proizvoda (*Begum i sar., 2013*). Dobijene vrednosti specifične zapremine su iznosile 2,49, 2,01, odnosno 2,02 ml/g za hleb od pšeničnog brašna, odnosno sa dodatkom plavog i bordo kukuruza (Grafik 4.9.b), a dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjem *Yaseen i sar. (2010)*. Askorbinska kiselina i šećer su takođe uticali na smanjenje zapremine, pa se zapremina pšeničnog hleba smanjila 4,23%. Zapremina uzoraka hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara je sa 187,68, odnosno 188,01 ml, smanjena na 177,51, odnosno 171,54 ml kod hleba obogaćenog plavim i bordo kokičarem uz dodatak askorbinske kiseline i šećera. Ovi rezultati nisu bili očekivani, obzirom da je askorbinska kiselina trebalo da izvrši oksidaciju slobodnih -SH grupa cisteinskih ostataka i tako formira inter i intramolekulske disulfidne mostove, a time da poboljša reološka svojstva testa i performanse gotovog proizvoda. Dodatak šećera je evidentno imao dominantniji uticaj na volumen hleba. Očigledno da je njegov dodatak ometao procese fermentacije povećanjem pritiska u tečnoj fazi testa, što je smanjilo sposobnosti testa da

zadrži gasove i da se dobije hleb veće zapremine. Do istih zaključaka su došli i *Codina i Paslaru (2007)* u svom istraživanju.



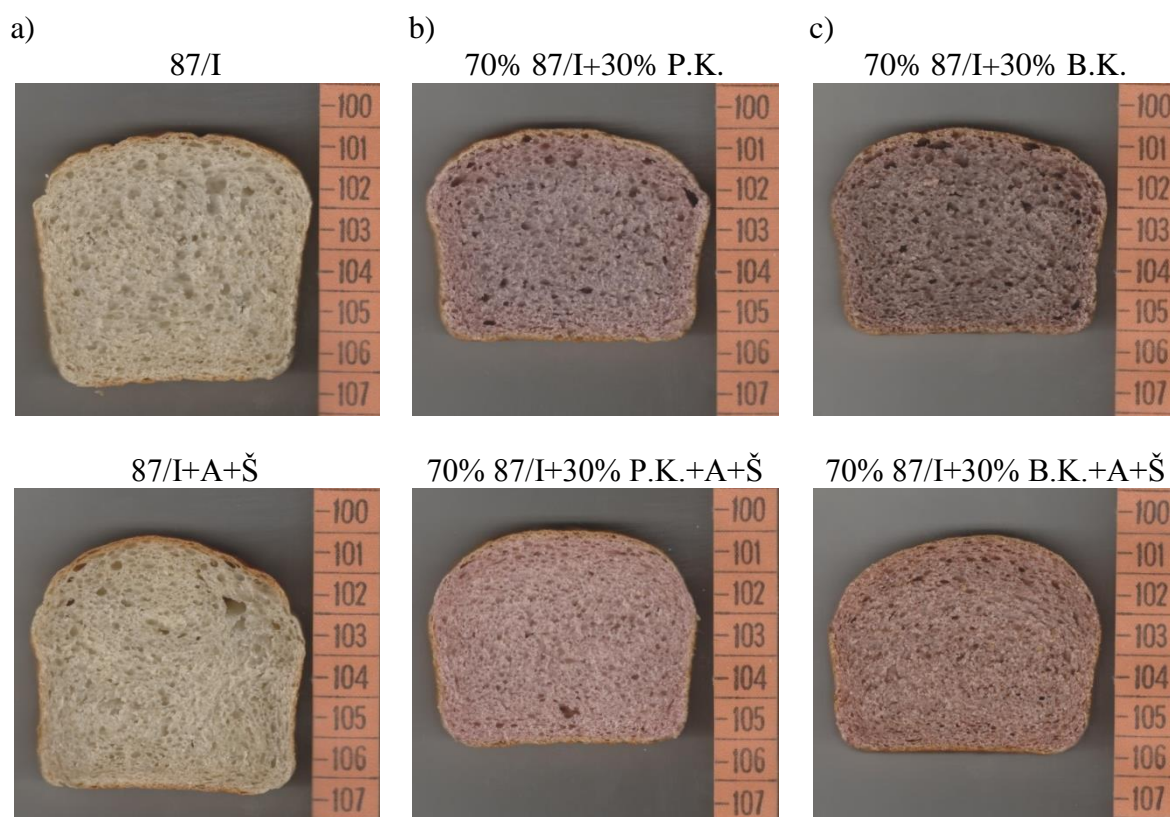
Grafik 4.9. Teksturalna svojstva sredine pšeničnog hleba kao i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna, a) zapremina, b) specifična zapremina, c) čvrstoća, d) naknadna elastičnost.



Nastavak Grafik 4.9. Teksturalna svojstva sredine pšeničnog hleba kao i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna, e) kohezivnost, f) otpor žvakanju, g) inicijalna elastičnost.

Dodatak kukuruznog brašna plavog i bordo kokičara je imao velikog uticaja na čvrstoću hleba, pogotovu u slučaju hleba sa dodatkom plavog kokičara. Čvrstoća ovog hleba je bila 2,6 puta veća od čvrstoće pšeničnog hleba i 2 puta veća od čvrstoće hleba sa dodatkom bordo kokičara (Grafik 4.9.c). Obzirom na suštinske razlike u moći upijanja vode pšeničnog i kukuruznog brašna (*Siddiq i sar., 2009*), dodatak kukuruznog brašna pšeničnom je očigledno uticao na zadržavanje veće količine vlage u sredini hleba što je uticalo na povećanje njene čvrstoće. Takođe i promene u sadržaju i strukturi proteina, usled supstitucije dela pšeničnog brašna kukuruznim, imaju velikog uticaja na teksturalna

svojstva fortifikovanog hleba (*Siddiq i sar., 2009*). Velika čvrstoća sredine hleba ukazuje na hleb sa neravnomernim porama i grubljom sredinom (Slika 4.8.). Naime, uzorak hleba sa dodatkom plavog kokičara je imao i najveći otpor žvakanju i najmanju zapreminu, što je u skladu sa ranijim navodima da na čvrstoću hleba značajan uticaj ima njegova zapremina. Najmekšu sredinu (696,6 g) i najveću zapreminu (232,5 ml) imao je hleb od pšeničnog brašna, a otpor žvakanju je iznosio 461,54 g (Grafik 4.9.c,a,f).



Slika 4.8. Izgled poprečnog preseka hleba: a) pšenični, b) sa dodatkom plavog kokičara, c) sa dodatkom bordo kokičara, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

Dodatak askorbinske kiseline i šećera nije imao uticaja na povećanje čvrstoće kod pšeničnog hleba, dok je kod hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara neznatno povećana i iznosila je 1065,5 g, odnosno 1900,6 g (Grafik 4.9.). Povećanje čvrstoće sredine hleba sa dodatkom askorbinske kiseline, kao i sa dodatkom glukoze-oksidaze utvrdili su u svom istraživanju i *Vukić i sar. (2013)*, iako je prema *Nanditha i Prabhasankar (2009)* dodatak

askorbinske kiseline trebao da ima uticaja na poboljšanje teksturnih svojstva. Nizak sadržaj glutena kod hleba sa dodatkom kukuruza uslovljava smanjenje inteziteta reakcija izmene sulhidril-disulfidnih grupa u glutenu i formiranje slabe mreže disulfidnih veza, koje se pokreću oksidacijom askorbinske kiseline do dehidroaskorbinske kiselinu. Tako nastala mreža disulfidnih veza u testu slabo zadržava CO₂ što se odražava na ispoljavanje lošijih teksturnih svojstva hleba.

Rezultati TPA testa su pokazali da su vrednosti kohezivnosti, inicijalne i naknadne elastičnosti bile više kod uzoraka pšeničnog hleba i da je dodatak kukuruznog brašna uticao na smanjenje ovih teksturnih svojstava. Kohezivnost, inicijalna i naknadna elastičnost su kod hleba sa dodatkom plavog i bordo kokičara smanjene 41,2, 57,1 i 21,6% odnosno 29,4, 40 i 12,4%. Smanjenje ovih teksturnih svojstava ispitivanih uzoraka hleba sa dodatkom kukuruza imalo je veliki uticaj na formiranje neravnomerne teksture sredine sa krupnim i malim brojem pora (Slika 4.8.). Dodatak askorbinske kiseline i šećera nije imao uticaja na kohezivnost, inicijalnu i naknadnu elastičnost uzoraka obogaćenih plavim i bordo kokičarem, dok je kod pšeničnog hleba uticao na njihovo smanjenje.

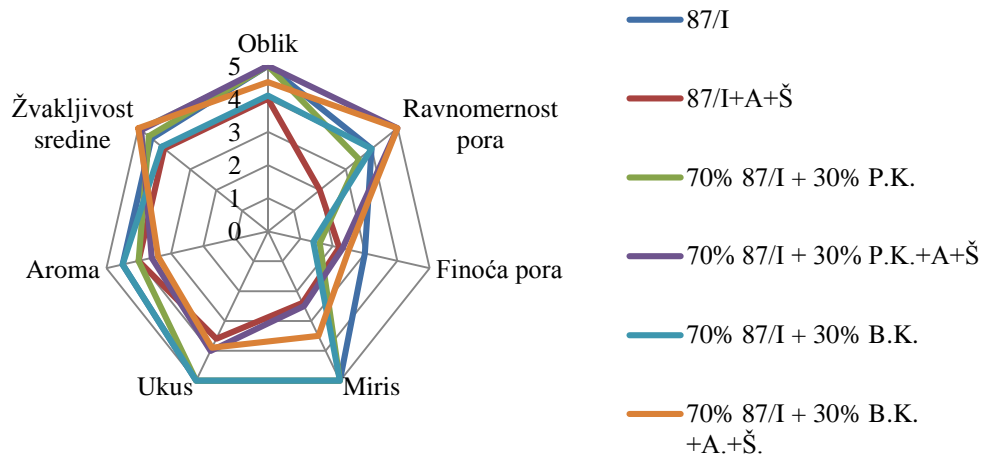
4.5.6. Senzorna analiza pšeničnog hleba i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna

Pored osmišljavanja prihvatljive formulacije hleba sa aspekta nutritivnog i zdravstvenog uticaja, treba voditi računa i o njegovim senzorskim svojstvima. Ispitivan je uticaj dodatka kukuruznog brašna, askorbinske kiseline i šećera na ova svojstva, a rezultati prikazani na grafiku 4.10. pokazuju da su, oblik vekne, ravnomernost pora, finoća pora, miris, ukus, aroma i žvakljivost sredine bili veoma različiti kod ispitivanih uzoraka.

Oblik vekna ispitivanih hlebova od pšeničnog brašna i sa dodatkom plavog i bordo kokičara je bio pravilan do skoro pravilan, a dodatak askorbinske kiseline i šećera nije imao uticaja na ovo ispitivano svojstvo. Uzorak hleba fortifikovan brašnom plavog kokičara imao je prilično neravnomerne pore, dok su pšenični hleb i hleb sa dodatkom bordo kokičara imali prilično ravnomerne pore. Dodatak askorbinske kiseline i šećera je uticao na poboljšanje ravnomernosti pora kod hlebova obogaćenih plavim i bordo

kokičarem, pa su od prilično neravnomernih i prilično ravnomernih pora uočenih kod „kontrolnih“ uzoraka dobijene ravnomerne pore kod hlebova sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera. Kod hleba od pšeničnog brašna askorbinska kiselina i šećer su imali negativan uticaj, pa su dobijene neravnomerne pore (ocena 2). Obzirom da je u ovom istraživanju askorbinska kiselina dodata u koncentraciji od 0,025%, dobijeni rezultati se mogu objasniti činjenicom da dodatak askorbinske kiseline u koncentraciji preko 0,02% utiče na teško oblikovanje testa i njegovo pucanje tokom obrade zbog smanjene rastegljivosti. Hleb dobijen od ovakvog testa ima smanjenu zapreminu vekne sa grubom korom, a sredina mu je neravnomerna sa velikim porama (*Hruškova i Novotna, 2003*).

U pogledu mirisa, ukusa i arome, hlebovi od pšeničnog brašna i obogaćeni kukuruznim brašnom su imali tipičan i prijatan miris i ukus, a aroma je bila veoma izražena. Iako je u istraživanju *Lesschaeve i Noble (2005)* ustanovljeno da fenolna jedinjenja daju gorak i opor ukus proizvodu, brašno bordo kokičara koje je imalo najviši sadržaj ukupnih fenola (2882,88 mg GAE/kg brašna) dalo je hleb sa najboljim senzornim kvalitetom u pogledu prethodno navedenih svojstava. Međutim dodatak askorbinske kiseline i šećera je značajno pogoršao ova svojstva, a najvećeg uticaja je imao kod pšeničnog hleba koji je ocenjen atipičnim mirisom, delimično atipičnim ukusom i izražajnom aromom. Naime, bilo je očekivano da dodatak šećera pospeši formiranje isparljivih jedinjenja koji utiču na aromu, ali očigledno da je prilikom njihovog razaranja u procesu pečenja došlo do formiranja bojenih jedinjenja visokih molekulskih masa sa kiselim i gorkim ukusom (*Guinet i Godon, 1996*), koji su negativno uticali na ispitivana senzorska svojstva. Međutim, suprotno dobijenim rezultatima senzorne analize u ovom istraživanju, *Shorgen i sar. (2003)* su ustanovili da upravo dodatak šećera ili meda, kao i askorbinske kiseline utiče na smanjenje ukusa soje, dok dodatak limunske kiseline, sirćeta, amonijum hlorida i želatinizovanog skroba nemaju dodatnog uticaja.



Grafik 4.10. Senzorna ocena pšeničnog hleba i hleba sa dodatkom kukuruza plave i bordo boje zrna, P.K.-plavi kokičar, B.K.- bordo kokičar, A-askorbinska kiselina, Š-šećer

Hleb sa dodatkom plavog kokičara je imao najbolju žvkljivost sredine (ocena 4,6) dok je kod uzoraka sa dodatkom askorbinske kiseline i šećera najbolju žvkljivost pokazao hleb obogaćen bordo kokičarom (ocena 5). Međutim, ako se pogledaju rezultati instrumentalne analize (Grafik 4.10.) može se uočiti da dobijeni rezultati senzorne analize nisu u korelaciji sa instrumentalnim pokazateljima. Tako je hleb obogaćen plavim kokičarem pružao najveći otpor žvakanju (544,69) i imao je najmanju zapreminu vekne (187,68 ml), a ocenjen je sa najboljom žvkljivošću, dok je hleb sa dodatkom bordo kokičara i askorbinske kiseline i šećera takođe imao najmanju zapreminu (171,54 ml), a dobio je ocenu 5 za žvkljivost. Ovo pokazuje da je senzorna ocena hleba veoma kompleksna i osetljivai da je moguće dobijanje kontradiktornih rezultata, kako je konstatovano i od strane *Pestorići sar. (2008)*, kao i da je neophodna primena i instrumentalnih analiza radi dobijanja celokupne slike o kvalitetu gotovog proizvoda.

Dobijeni rezultati senzorne analize pokazuju da je obogaćenje pšeničnog brašna brašnom plavog i bordo kokičara imalo pozitivan uticaj na senzorski profil gotovog proizvoda. Hlebovi sa dodatkom plavog i bordo kukuruza imali su bolji ukus i miris, a sam dodatak kukuruznog brašna nije narušio teksturna svojstva.

5.0. Zaključak

1. - Genotipovi hlebne i durum pšenice imali su niži sadržaj albumina-globulina, a viši sadržaj glijadina i glutenina u kišnoj nego u sušnoj godini.
 - Elektroforetska karakterizacija albuminsko-globulinske, glijadinske i gluteninske frakcije proteina genotipova hlebne i durum pšenice u dve ispitivane godine pokazala je visoke različitosti polipeptidnog sastava, koje se mogu pripisati uticaju spoljnih faktora, genotipa i međusobnim delovanjem genotipa i sredine.
 - Na sadržaj i kompoziciju glijadina i glutenina u genotipovima hlebne pšenice uticaj faktora genotipa je bio dominantan, za razliku od durum pšenica gde je faktor sredine imao veliki uticaj. Mali uticaj sredine na subjedinice glijadina i glutenina je izuzetno povoljan, jer se samim odabirom genotipa sa dobrim kvalitativnim i kvantitativnim odnosom ovih grupa proteina može uticati povoljno na tehnološka svojstva brašna. U oplemenjivačkim programima selekcija na određeni sadržaj i sastav glijadina i glutenina je izuzetno poželjna, zbog njihovog velikog uticaja na reološka svojstva testa.
 - S obzirom na visok stepen varijacija u sastavu HMW gluteninskih subjedinica, ispitivani genotipovi hlebne pšenice se mogu koristiti u programu oplemenjivanja, kako bi se uvele dodatne varijacije i utvrdio efekat HMW subjedinica na funkcionalna svojstva brašna.
 - Visok stepen varijacija prisutan u LMW gluteninima, ukazuje na mogući izvor poželjnih gena u selekciji pšenice za poboljšanje tehnoloških karakteristika brašna za različite gotove proizvode.
 - Viša prosečna koncentracija disulfidnih veza u kišnoj nego u sušnoj godini, uslovlila je da genotipovi hlebne pšenice imaju jaču glutensku mrežu u kišnoj nego

u sušnoj godini, a da genotip Cimmyt 226 sa najnižim sadržajem cisteina ima najslabiju glutensku mrežu.

- Aktivnost lipoksigenaze je u uzorcima hlebne pšenice gajene u kišnoj godini je bila viša od aktivnosti u uzorcima durum pšenice, a njen viši sadržaj u brašnu genotipova hlebne pšenice uslovio je da testo dobijeno od ovih genotipova pšenice ima povoljnije reološke karakteristike. Genotip ZP Zemunska rosa, koji je imao najvišu vrednost aktivnosti peroksidaze je imao dobre reološke karakteristike testa koje su rezultovale dobrim kvalitetom gotovog proizvoda.

2. - Korelaciona analiza je pokazala veliki uticaj proteina brašna genotipova hlebne i durum pšenice na reološka svojstva testa.

- Na stepen omekšanja testa od brašna hlebnih i durum genotipova pšenice najviše uticaja imali su α/β - i γ -glijadini, D-LMW i LMW glutenini, kao i slobodne -SH grupe i -S-S veze, dok su na moć upijanja vode pozitivan uticaj imali B+C-LMW, LMW i HMW glutenini.

- Viši sadržaj rastvorljivih glutenina u genotipovima hlebne i durum pšenice u kišnoj godini je uslovio formiranje elastičnijeg i mekšeg glutena koji je uticao na povoljnije vrednosti rastegljivosti i energije testa, dok su klimatski uslovi u sušnoj godini uticali na formiranje čvrstog, neelastičnog i krtog glutena.

- Pozitivan uticaj pojedinačnih subjedinic proteina glijadina (γ -gli, α/β -gli) na vrednosti otpora na rastezanje, rastegljivosti i energije testa hlebne pšenice, uslovio je formiranje mekšeg glutena, dok je negativna korelacija sa ovim subjedinicama kod testa durum genotipova pšenice usloвила formiranje čvrstog, neelastičnog i krtog glutena.

- Dobijene niske vrednosti viskoziteta u kišnoj godini, koje su uočene kod brašna genotipova hlebne i durum pšenice, ukazuju na povećanje aktivnost α -amilaze, koje nastaje kao posledica klimatskih uslova. Pored toga, na viskozitet testa imali su uticaja i HMW, B+C-LMW i ukupni LMW glutenini, -S-S veze i slobodne -SH grupe.

- Iako je utvrđeno da durum pšenica ima inferiornija pecivna svojstva od hlebne pšenice, selekcija u cilju poboljšanja istih bi bila veoma korisna, a takve sorte bi

imale alternativna tržišta u godinama visokog prinosa korišćenjem umesto hlebne pšenice ili najčešće u kombinaciji sa njom.

3. - Poređenjem instrumentalnih parametara hlebova od hlebne i durum pšenice, utvrđene su statistički značajne razlike u pogledu njihovih zapremina, specifičnih zapremina, čvrstoće i otpora žvakanju. Hlebovi dobijeni od brašna hlebne i durum pšenice gajenih u kišnoj godini imali bolje teksturalne karakteristike sredina, u poređenju sa hlebovima dobijenim od pšenica gajenih u sušnoj godini.
 - Ispitivanjem uticaja proteina brašna i reoloških svojstava testa na instrumentalne pokazatelje kvaliteta hleba, utvrđeno je da na zapreminu, specifičnu zapreminu i naknadnu elastičnost hleba imaju pozitivan uticaj energija testa, rastegljivost, otpor na rastezanje i stabilnost testa, kao i sve proteinske subjednice sa izuzetkom D-LMW glutenina i γ -glijadina.
 - Na čvrstoću hleba i otpor žvakanju snažan uticaj imaju moć upijanja vode i viskozitet testa, ali i D-LMW i HMW glutenini, γ -glijadini. Brašna sa višim sadržajem proteina bogatih -S-S vezama i niskom enzimskom aktivnošću daju čvršći hleb, dok viši sadržaj slobodnih -SH grupa daje hleb manje čvrstoće.
4. - Uzimajući u obzir pojedinačna senzorska svojstva posmatranih hlebova dobijenih od ispitivanih hlebnih i durum genotipova pšenice, može se uočiti da su najveće razlike ispoljene u pogledu oblika vekne, ravnomernosti i finoće pora. Bolji senzorski kvalitet ostvaren je kod hlebova dobijenih od hlebnih genotipova pšenice, a hleb od genotipa pšenice ZP 87/I gajane u kišnoj godini, koji je imao najbolji proteinski sastav i najpovoljnija reološka svojstva, pokazao je i najbolje senzorne karakteristike.
5. - Fortifikacija pšeničnog brašna integralnim brašnom kukuruza plave i bordo boje zrna, bogatog fitohemikalijama sa biološkom aktivnošću, poboljšala je funkcionalni profil gotovih proizvoda, što se uočava kroz značajno viši sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, antocijana, kao i fenolnih kiselina u hlebovima sa dodatkom kukuruza u odnosu na pšenični hleb.
 - Supstitucija 30% pšeničnog brašna integralnim kukuruznim brašnom plavog i bordo kokičara u proizvodnji hleba pruža nove mogućnosti u promovisanju ovih

proizvoda, kako sa aspekta nutritivnog i zdravstvenog efekta, tako i sa aspekta teksturalne i senzorske prihvatljivosti.

6.0. Literatura

1. American Association of Cereal Chemists. (1995): Method 14–50, Pigment. Approved methods of the AACC, 9th ed. AACC, St. Paul, MN.
2. American Association of Cereal Chemists. (2000a): Method No.08-01, Ash-Basic Method. Approved methods of the AACC, 10th ed. AACC, St. Paul, MN.
3. American Association of Cereal Chemists. (2000b): Method No. 32-10, Crude fibre in flours, feeds and feedstuffs. Approved methods of the AACC, 10th ed. AACC, St. Paul, MN.
4. American Association of Cereal Chemists. (2000c): Method No. 46-13, Crude protein-Micro-Kjeldahl method. Approved methods of the AACC, 10th ed. AACC, St. Paul, MN.
5. American Association of Cereal Chemists. (2000d): Method 38–10, Gluten-Hand washing method. Approved methods of the AACC, 10th ed. AACC, St. Paul, MN.
6. American Association of Cereal Chemists. (2000e): Method 54–21, Farinograph method for flour. Approved methods of the AACC, 10th ed. AACC, St. Paul, MN.
7. American Association of Cereal Chemists. (2000f): Method 54–10, Extensograph method for flour. Approved methods of the AACC, 8th ed. AACC, St. Paul, MN.
8. American Association of Cereal Chemists. (2000g): Method 22–10, Amylograph method for flour. Approved methods of the AACC, 8th ed. AACC, St. Paul, MN.
9. Abang Zaidel, D.N., Chin, N.L., Yusof, Y.A. (2010): A review on rheological properties and measurements of dough and gluten. *Journal of Applied Sciences* 10: 2478-2490.

10. Al-Saleh, A., and Brennan, C.S. (2012): Bread Wheat Quality: Some Physical, Chemical and Rheological Characteristics of Syrian and English Bread Wheat Samples. *Foods* 1: 3-17.
11. Abdel-Aal, E.-S.M., and Hucl, P. (1999): A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* 76: 350-354.
12. Abdel-Aal, E.-S.M., and Hucl, P. (2003): Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2174-2180.
13. Abdel-Aal El-S. M. and Rabalski I. (2013): Effect of baking on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. *Journal of Cereal Science*, 57: 312-318.
14. Abdel-Aal, E.-S.M., Salama, D.A., Hucl, P., Sosulski, F.W., Cao, W. (1996): Electrophoretic characterization of spring spelt wheat gliadins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 2117-2123.
15. Abdelrahman, E., Elagib, A., Bureng, P. L., Mohamed, B. E. (2004): Proteins and baking quality of three Sudanese wheat cultivars. The relationship between protein soluble fractions and breadmaking properties. *Journal of Agricultural Science* 12: 391-404.
16. Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M.A., Leenhardt, F., Leuillet, M. (2002): The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *Journal of Nutrition* 132: 1962–1968.
17. Adebayo, A.O., and Emmanuel, F. (2001): The protein quality of some corn-based Nigeria diets. *Journal Mgt. Technology* 3: 122–127.
18. Adom, K.K., Sorrells, M.E., Liu, R.H. (2003): Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7825-7834.
19. Anderson, O. D. and Greene, F. C. (1997): The α -gliadin gene family. II. DNA and protein sequence variation, subfamily structure, and origins of pseudogenes. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 59-65.

20. Anderson, A.K. and Ng, P.K.W. (2000): Changes in disulfide and sulfhydryl contents and electrophoretic patterns of extruded wheat flour proteins. *Cereal Chemistry* 77: 354-359.
21. Anjum, F.M., Khan, M.R., Din, A., Saeed, M., Pasha, I., Arshad, M.U. (2007): Wheat gluten: high molecular weight glutenin subunits – structure, genetics, and relation to dough elasticity. *Journal of Food Science* 72: R56–R63.
22. Andrews, J. L. and Skerritt, J. H. (1996): Wheat dough extensibility screening using a two-site enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with antibodies to low molecular weight glutenin subunits. *Cereal Chemistry* 73: 650 -657.
23. Antoine, C., Lullien-Pellerin, V., Abecassis, J., Rouau, X. (2004): Effect of bran ball-milling on fragmentation and marker extractability of the aleurone layer. *Journal of Cereal Science* 40: 275-282.
24. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (1990): Method 922.06. *Official Methods of Analysis*, 15th ed., AOAC, Inc., Arlington, VA.
25. Auerman, L.J. (1988): *Tehnologija pekarske proizvodnje*, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
26. Autran, J.C, Laignelet, B., Morel, M.H. (1987): Characterization and quantification of low molecular weight glutenins in durum wheats. *Biochimie* 69: 699-711.
27. Baic, S. (2005). Whole grains - The way to go...In the food fact sheet by the British Dietetic Association. The British Dietetic Association, United Kingdom. pp. 1-2.
28. Barać, M., Čabrilo, S., Pešić, M., Stanojević, S., Žilić, S., Mačej, O., Ristić, N. (2010); Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes. *International Journal of Molecular Sciences* 11: 4973-4990.
29. Barrett, F. (1975): Role of bread in international nutrition. *Cereal Foods World* 20: 323-325.
30. Barron, C., Surget, A., Rouau, X. (2007): Relative amounts of tissues in mature wheat (*triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of Cereal Science* 45: 88-96

31. Bean, S. R., Lyne, R. K., Tilley, K. A., Chung, O. K., Lookhart, G. L. (1998): A Rapid Method for Quantitation of Insoluble Polymeric Proteins in Flour. *Cereal Chemistry* 75: 374-379.
32. Beccari, J.B. (1745). *De Frumento. De Bononiensi Scientarium et Artium. Institute atque Academia Commentarii*, Bologna 2: 122-127.
33. Beckwith, A. C., Nielsen, H. C., Wall, J. S., Huebner, F. R. (1966): Isolation and characterization of a high-molecular-weight protein from wheat gliadin. *Cereal Chemistry* 43: 14-28.
34. Begum, R., Uddin, M. J., Rahman, M. A., Islam, M. S. (2013): Comparative study on the development of maize flour based composite bread. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 11: 133–139.
35. Belderok, B., Mesdag, J., Donner, D.A. (2000): *Bread-Making Quality of Wheat: A Century of Breeding in Europe*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands.
36. Belton, P.S. (1999). On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science* 29: 103-107.
37. Betran, J., Bocholt, A. J., Rooney, L. W. (2000): Blue corn. In *Speciality Corns*; Hallauer, A. R., Ed. CRC Press: Boca Raton, FL, pp. 293-301.
38. Bianchi, F., Careri, M., Chiavaro, E., Musci, M., Vittadini, E. (2008): Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of the Italian Protected Designation of Origin ‘Altamura’ bread volatile profile. *Food Chemistry* 110: 787–793.
39. Bietz, J. A., and Wall, J. S. (1972): Wheat gluten subunits: Molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Cereal Chemistry* 49: 416-430.
40. Birch, A.N., Petersen, M.A., Arneborg, N., Hansen, Å. S. (2013): Influence of commercial baker's yeasts on bread aroma profiles. *Food Research International* 52: 160–166.
41. Bloksma, A. H. (1990): Dough structure, dough rheology, and baking quality. *Cereal Foods World* 35: 237–244.

42. Boggini, G., Tusa, P., Pogna, N.E. (1995): Bread making quality of durum genotypes with some novel glutenin compositions. *Journal of Cereal Science* 22: 105-113.
43. Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, United Kingdom, pp. 182-186.
44. Boyaçoğlu, M.H., and D'Appolonia, B.L. (1994): Characterization and utilization of durum wheat for breadmaking. III. Staling properties of bread baked from bread wheat flours and durum wheat flours. *Cereal Chemistry* 71: 34-41.
45. Branlard, G., and Dardevet, M. (1985): Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3: 345-354.
46. Brenes, C. H., Del Pozo-Insfran, D., Talcott, S. (2005): Stability of copigmented anthocyanins and ascorbic acid in a grape juice model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 49–56.
47. Carpentier, S., Knaus, M., Suh, M. (2009): Associations between lutein, zeaxanthin, and age-related macular degeneration: an overview. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 49: 313-326.
48. Cavazos, A., Gonzalez de Mejia, E. (2013): Identification of bioactive peptides from cereal storage proteins and their potential role in prevention of chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12: 364-380.
49. Chan, K.-Y., and Wasserman, B.P. (1993): Direct colorimetric assay of free thiol groups and disulfide bonds in suspensions of solubilized and particulate cereal proteins. *Cereal Chemistry* 70: 22-26.
50. Cho, I.H., and Peterson, D.G. (2010). Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology* 19: 575-582.
51. Chung, O.K., Ohm, J., Ram, M., Park, S., Howitt, C. (2009): Wheat Lipids. In: Khan, K., Shewry, P.R. (Eds.), *Wheat: Chemistry and Technology*, fourth ed. AACC International, St. Paul, MN, USA, pp. 363-393.
52. CIE (1976): International Commission on Illumination, *Colorimetry: Official Recommendation of the International Commission on Illumination*. Publication CIE No. (E-1.31) Bureau Central de la CIE, Paris, France.

53. Cleemput G., Bleukx W., Oort M. Van, Hessing M., Delcour J.A. (1995): Evidence for the presence of arabinoxylan hydrolysing enzymes in European wheat flours. *Journal of Cereal Science* 22: 139–145.
54. Codina, G.G., Cretu, I., Paslaru, V. (2007): Sugar influence on dough's behavior. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 8: 295-298.
55. Cornish, G.B., Bekes, F., Eagles, H.A., Payne, P.I. (2006): Prediction of dough properties for bread wheat. In: Wrigley C, Bekes F, Bushuk W. (Eds.). *Gliadin and glutenin-the unique balance of wheat quality*. AACC International, St. Paul, MN, USA, pp. 243-280.
56. Courtin, C.M., and Delcour, J.A. (2002): Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science* 35: 225-243.
57. Daaloul Bouacha, O., Rhazi, L., Aussenac, T., Rezgui, S., Nouaigui, S. (2015): Molecular characterization of storage proteins for selected durum wheat varieties grown in different environments. *Journal of Cereal Science* 61, 97-104.
58. Daniel, C., and Triboi, E. (2002): Changes in wheat protein aggregation during grain development: effects of temperatures and water stress. *European Journal of Agronomy* 16: 1-12.
59. Day, L., Augustin, M. A., Batey, I. L., Wrigley, C. W. (2006): Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends in Food Science & Technology* 17: 82-90.
60. De Rosso, V. V., and Mercadante, A. Z. (2007). The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. *Food Chemistry* 103: 935-943.
61. Delcour, J.A., Joye, I.J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B. (2012): Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science Technology* 3: 469-492.
62. Delcros, J.F., Rakotozafy, L., Boussard, A., Davidou, S., Porte, C., Potus, J.J. (1998): Effect of mixing conditions on the behavior of lipoxygenase, peroxidase, and catalase in wheat flour doughs. *Cereal Chemistry* 75: 85-93.
63. Dencic, S., Mladenov, N., Kobiljski, B. (2011): Effects of genotype and environment on breadmaking quality in wheat. *International Journal of Plant Production* 5: 71-82.

64. Deutsch, J.C. (1998): Oxygen accepting antioxidants which arise during ascorbate oxidation. *Analytical Biochemistry* 265: 238-245.
65. Dewettinck, K., Van Bockstaele, F., Kühne, B., Van de Walle, D., Courtens, T. M., Gellynck, X. (2008): Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *Journal of Cereal Science* 48: 243-257.
66. Dobraszczyk, B.J. and Morgenstern, M.P (2003): Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science* 38: 229-245.
67. Dodig D., Zorić, M., Knežević, D., Dimitrijević B., Šurlan Momirović G. (2007): Assessing wheat performance using environmental information. *Genetika* 39, 413-425.
68. Dojczew, D., and Sobczyk, M. (2007): The effect of proteolytic activity on the technological value of wheat flour from pre-harvest sprouted grain. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 6: 45-53.
69. Dong, K., Ge, P., Ma, C., Wang, K., Yan, X., Gao, L., Li, X., Liu, J., Ma, W., Yan, Y. (2012): Albumin and Globulin Dynamics during Grain Development of Elite Chinese Wheat Cultivar Xiaoyan 6. *Journal of Cereal Science* 56: 615–622.
70. Dornez, E., Gebruers, K., Wiame, S., Delcour, J.A., Courtin, C.M. (2006): Insight into the distribution of arabinoxylans, endoxylanases, and endoxylanase inhibitors in industrial wheat roller mill streams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8521-8529.
71. Dowell, F.E., Maghirang, E.B., Pierce, R.O., Lookhart, G.L., Bean, S.R., Xie, F., Caley, M.S., Wilson, J.D., Seabourn, B.W., Ram, M.S., Park, S.H., Chung, O.K. (2008): Relationship of bread quality to kernel, flour, and dough properties. *Cereal Chemistry* 85: 82-91.
72. Dubreil, L., Meliande, S., Chiron, H., Compoin, J. P., Quillien, L., Branlard, G., Marion, D. (1998): Effect of puroindolines on the bread-making properties of wheat flour. *Cereal Chemistry* 75: 222-229.
73. Duodu, K. G. (2011): Effects of processing on antioxidant phenolics of cereals and legume grains. *Advances in cereal science: Implications to food processing and health promotion*. American Chemistry Society, pp. 31-54.

74. DuPont, F. M. and Altenbach, S. B. (2003): Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science* 38: 133-146.
75. Đaković (1997): Pšenično brašno. Tehnološki fakultet - Zavod za tehnologiju žita i brašna, Novi Sad.
76. Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., Liu, R.H. (2000): Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903-904.
77. Edwards N.M., Preston K.R., Paulley F.G., Gianibelli M.C., Caig T.N., Clarke J.M., Ames N.P., Dexter J.E. (2007): Hearth breadbaking quality of durum wheat varying in protein composition and physical dough properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 2000–2011.
78. Edwards, N.M., Peressini, D., Dexter, J.E., Mulvaney, S.J. (2001): Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat of different strengths. *Rheologica Acta* 40, 142-153.
79. Eliasson, A.C., and Larsson, K. (1993): *Cereals in breadmaking. A molecular colloidal approach.* Marcel Dekker, New York.
80. Ewart, J.A.D. (1967): Amino acid analyses of cereal flour proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 18: 548-552.
81. Ewart, J.A.D. (1979): Glutenin structure. *Journal of the Science and Food Agriculture* 30: 482-492.
82. Ewart, J.A.D. (1990): Comments on recent hypothesis for glutenin. *Food Chemistry* 38: 159-169.
83. Ewers, E. (1908): *Ztschr Öffentliche Chemie.* 14: 150-157.
84. FAO (2009): FAOSTAT database.<http://www.faostat.fao.org>.
85. FAO (2013): FAOSTAT database.<http://www.faostat.fao.org>
86. Feldman, M. (2001): Origin of cultivated wheat. In: Bonjean AP, Angus WJ, eds. *The world wheat book: a history of wheat breeding.* Lavoisier Publishing, Paris, France, pp. 3-56.

87. Fido, R.J., Bekes, F., Gras, P.W., Tatham, A.S. (1997): Effects of α -, β -, γ - and ω -gliadins on the dough mixing properties of wheat flour. *Journal of Cereal Science* 26: 271-277.
88. Field, J. M., Shewry, P. R., Miflin, B. J. (1983): Solubilisation and characterization of wheat gluten proteins: Correlations between the amount of aggregated proteins and baking quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34: 370-377.
89. Filipčev, B., Šimurina, O., Bodroža-Solarov, M., Obreht, D. (2013): Comparison of the bread-making performance of spelt varieties grown under organic conditions in the environment of northern Serbia and their responses to dough strengthening improvers. *Hemijska Industrija* 67: 443-453.
90. Finlay, G. J., Sapirstein, H. D., Naeem, H. A., Hussain, A., Angadiand, S.V, DePauw, R. M. (2007). Genotypic and environmental variation in grain, flour, dough and bread-making characteristics of western Canadian spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 87: 679-690.
91. Finney, K. F. and Barmore, M. D. (1948): Loaf volume and protein content of hard winter and spring wheats. *Cereal Chemistry* 25: 291-312.
92. Finney, K.F., Yamazaki, W.T., Youngs, V.L., Rubenthaler, G.L. (1987): Quality of hard, soft, and durum wheats. In: Geyne E.G. (e.d.), *Wheat and Wheat Improvement*. Medison, WI, pp. 677-748.
93. Fling, S.P., and Gregerson, D.S. (1986): Peptide and protein molecular weight determination by electrophoresis using a high-molarity tris-buffer system without urea. *Analitical Biochemistry* 155: 83-88.
94. Fra-Mon, P., Salcedo, G., Aragoncillo, C., Garcia-Olmedo, F. (1984): Chromosomal assignment of genes controlling salt soluble proteins (albumins and globulins) in wheat and related species. *Theoretical and Applied Genetics* 69: 167-172.
95. Frazier, P. J., Brimblecombe, F. A., Daniels, N. W. R., and Russell Eggitt, P. W. (1977): The effect of lipoxygenase action on the mechanical development of doughs from fat-extracted and reconstituted wheat flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28: 247-254.

96. Freitas, R.A., Gorin, P.A.J., Neves, J., Sierakowski, M.R. (2003): A rheological description of mixtures of a galactoxyloglucan with high amylose and waxy corn starches. *Carbohydrate Polymers* 51: 25-32.
97. Fuertes-Mendizabal, T., Aizpurua, A., Gonzalez-Moro, M.B., Estavillo, J.M., (2010): Improving wheat breadmaking quality by splitting the N fertilizer rate. *European Journal of Agronomy* 33: 52-61.
98. Gafurova, D.A., Tursunkhodzhaev, P.M., Kasymova, T.D., Yuldashev, P.K. (2002): Fractional and amino-acid composition of wheat grain cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds* 38: 462-465.
99. Galli, D., and Clemente, E. (2013). Influence of organic acids on the stability of anthocyanins extracted from residues of grape processing. *Food, Agriculture and Environment* 11: 36-39.
100. Gan, Z., Ellis, P. R., Schofield, J. D. (1995): Gas Cell Stabilisation and Gas Retention in Wheat Bread Dough. *Journal of Cereal Science* 21: 215-230.
101. Gao, L., Wang, A., Li, X., Dong, K., Wang, K., Appels, R., Ma, W., Yan, Y. (2009): Wheat Quality Related Differential Expressions of Albumins and Globulins Revealed by Two-dimensional Difference Gel Electrophoresis (2-D DIGE). *Journal of Proteomics*, 73: 279-296.
102. Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F., Wrigley, C. W. (2001): Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chemistry* 78: 635-646.
103. Gil-Humanes, J., Pistón, F., Rosell, C. M., Barro, F. (2012): Significant down-regulation of γ -gliadins has minor effect on gluten and starch properties of bread wheat. *Journal of Cereal Science* 56: 161-170.
104. Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., Delcour, J. A. (2005): Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology* 16: 12-30.
105. Gras P.W., Carpenter H.C., Anderssen R.S. (200): Modelling the developmental rheology of wheat-flour dough using extension tests. *Journal of Cereal Science* 31: 1-13.

106. Graybosch, R. A., Peterson, C. J., Baenziger, P. S., Shelton, D. R. (1995): Environmental modification of hard red winter-wheat flour protein-composition. *Journal of Cereal Science*, 22: 45-51.
107. Graybosch, R., Peterson, J. C., Moore, K. J., Steams, M., Grant, D.L. (1993): Comparative effects of wheat flour protein, lipid and pentosan composition in relation to baking and milling quality. *Cereal Chemistry* 70: 95-101.
108. Grosch, W., Wieser, H. (1999): Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science* 29: 1-16.
109. Guinet, R., and Godon, B. (1994). *La panification française*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier, Paris, France.
110. Gupta, R.B., Shepherd, K.W., MacRitchie, F. (1991): Genetic control and biochemical properties of some high molecular weight albumins in bread wheat. *Journal of Cereal Science* 13: 221-235.
111. Gupta, R. B., Batey, I. L., MacRitchie, F. (1992): Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chemistry* 69: 125-131.
112. Hadnađev Dapčević, T., Torbica, A., Hadnađev, M. (2011a): Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab. *Procedia Food Science* 1. 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11) 11: 328 – 334.
113. Hadnađev Dapčević, T., Pojić, M., Hadnađev, M., Torbica, A. (2011b). The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control, *Wide Spectra of Quality Control*, Dr. Isin Akyar (Ed.), InTech, pp: 335-360.
114. Hadži-Tašković Šukalović, V., Dodig, D., Žilić, S., Basić, Z., Kandić, V., Delić, N., Miritescu, M. (2013): Genotypic and environmental variation of bread and durum wheat proteins and antioxidant compounds. *Romanian Agricultural Research* 30: 1-10.
115. Halverson, J., and Lawrence, Z. (1988): Criteria of wheat quality. In: Pomeranz, Y. (Ed.), *Wheat Chemistry and Technology*, third ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 15-45.

116. Harberd N.P., Bartels D., Thompson R.D. (1986): DNA restriction-fragment variation in the gene family encoding high-molecular-weight (HMW) glutenin subunits of wheat. *Biochemical Genetics* 24: 579-595.
117. Hareland, G.A., and Puhr, D.P. (1999): Baking performance of durum and soft wheat flour in a sponge-dough breadmaking procedure. *Cereal Chemistry* 75: 830-835.
118. Hefnawy, T.M.H., El-Shourbagy, G.A., Ramadan, M.F. (2012): Impact of adding chickpea (*Cicerarietinum* L.) flour to wheat flour on the rheological properties of toast bread. *International Food Research Journal* 19: 521-525.
119. Heinio, R.-L. (2006). Sensory attributes of bakery products. In Y. H. Hui (Ed.), *Bakery products: science and technology*. Ames: Blackwell Publishing, pp. 285-298.
120. Hill, K., Horváth-Szanic, E., Hajós, Gy., Kiss, E. (2008): Surface and interfacial properties of water-soluble wheat proteins. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 319: 180-187.
121. Hilhorst, R., Gruppen, H., Orsel, R., Laane, C., Schols, H. A., Voragen, A. G. J. (2002): Effects of xylanase and peroxidase on soluble and insoluble arabinoxylans in wheat bread dough. *Journal of Food Science* 67: 497-506.
122. Hilhorst, R., Dunnewind, B., Orsel, R., Stegeman, P., van Vliet, T., Gruppen, H., Schols, H.A. (1999): Baking performance, rheology and chemical composition of wheat dough and gluten affected by xylanase and oxidative enzymes. *Journal of Food Science* 64: 808-813.
123. Holding, D.R., Hunter, B.G., Chung, T., Gibbon, B.C., Ford, C.F., Bharti, A.K., Messing, J., Hamaker, B.R., Larkins. B.A. (2008): Genetic analysis of opaque-2 modifier loci in quality protein maize. *Theoretical and Applied Genetics* 117: 157-170.
124. Holtekjølen, A.K., Bævre, A.B., Rødbotten, M., Berg, H., Knutsen, S.H. (2008): Antioxidant properties and sensory profiles of breads containing barley flour. *Food Chemistry* 110: 414-421.
125. Horvat D., Drezner G., Sudar R., Magdić D., Španić V. (2012): Baking quality parameters of wheat in relation to endosperm storage proteins. *Croatian Journal of Food Science and Technology* 4: 19-25.

126. Horváth, C. (2014): Storage proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.) and the ecological impacts affecting their quality and quantity, with a focus on nitrogen supply. *Columella - Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 1: 57-76.
127. Hosney, R.C., Finney, K.F., Shogren, M.D., Pomeranz, Y. (1969): Functional (bread making) and biochemical properties of wheat flour components. II. Role of water-solubles. *Cereal Chemistry* 46: 117-125.
128. Hrušková, M. and Novotná, D. (2003): Effect of Ascorbic Acid on rheological properties of wheat fermented dough. *Czech Journal of Food Science* 21: 137-144.
129. Hussain, A., Larsson, H., Kuktaite, R., Prieto-Linde, M.L., Johansson, E. (2012): Towards the understanding of bread-making quality in organically grown wheat: Dough mixing behaviour, protein polymerisation and structural properties. *Journal of Cereal Science* 56: 659-666.
130. Hussain, A., Larsson, H., Kuktaite, R., Prieto-Linde, M.L., Johansson, E. (2013): Amount and size distribution of monomeric and polymeric proteins in the grain of organically produced wheat: Influence of genotype and location. *Cereal Chemistry* 90: 80-86.
131. Indrani, D., and Rao, G.V. (2006): Effect of additives on rheological characteristics and quality of wheat flour parotta. *Journal of Texture Studies* 37: 315-338.
132. Jimenez, T., and Martínez-Anaya, M.A. (2001): Amylases and hemicellulases in breadmaking. Degradation by-products and potential relationship with functionality. *Food Science and Technology International* 7: 5-14.
133. Johansson, E., Prieto-Linde, M. L., Jönsson, J. Ö. (2001): Effects of wheat cultivar and nitrogen application on storage protein composition and bread-making quality. *Cereal Chemistry* 78: 19-25.
134. Johansson, E., Malik, A.H., Hussain, A., Rasheed, F., Newson, W.R., Plivelic, T., Hedenqvist, M.S., Gällstedt, M., Kuktaite, R. (2013): Wheat gluten polymer structures: the impact of genotype, environment, and processing on their functionality in various applications. *Cereal Chemistry* 90: 367-376.
135. Jones, J. M., Reicks, M., Adams, J., Fulcher, G., Marquart, L. (2004): Becoming proactive with the whole-grains message. *Nutrition Today* 39: 10-17.

136. Kaluđerski, G., i Filipović, N. (1998). Metode ispitivanja kvaliteta žita, brašna i gotovih proizvoda. Tehnološki fakultet u Novom Sadu, Zavod za tehnologiju žita i brašna, SRJ Jugoslavija, pp. 62-70.
137. Kasarda, D.D., Bernardin, J.E., Nimmo, C.C. (1976): Wheat proteins. In: Y. Pomeranz (Eds.), *Advances in cereal science and technology*, Volume 1, AACC, St Paul, MN, pp. 158-235.
138. Kasarda, D.D., Autran, J.C., Lew, E.J.L., Nimmo, C.C., Shewry, P.R. (1983): N-terminal amino acid sequences of ω -gliadins and ω -secalins: Implications for the evolution of prolamin genes. *Biochimica et Biophysica Acta* 747: 138-150.
139. Kieffer, R. (2006): The Role of Gluten Elasticity in the Baking Quality of Wheat, In: *Future of Flour - A Compendium of Flour Improvement*, L. Popper, W. Schäfer & W. Freund, (Eds.), Verlag Agrimedia, Clenze, Germany, pp. 169-178.
140. Kim, H.R., and W. Bushuk (1995): Changes in some physicochemical properties of flour proteins due to partial reduction with dithiotreitol. *Cereal Chemistry* 72: 450-456.
141. Kirchhoff, E., and Schieberle, P. (2001): Determination of key aroma compounds in the crumb of a three-stage sourdough rye bread by stable isotope dilution assays and sensory studies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 4304-4311.
142. Khatkar, B.S., Fido, R.J., Tatham, S., Schofield, J.D. (2002): Functional properties of wheat gliadins: II. Effects on dynamic rheological properties of wheat gluten. *Journal of Cereal Science* 35: 307-313.
143. Klepacka, J., and Fornal, L. (2006): Ferulic acid and its position among the phenolic compounds of wheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46: 639-647.
144. Kocadağlı, T., Žilić, S., Göncüoğlu Taş, N., Vančetović, J., Dodig, D., Gökmen, V. (2016): Formation of α -dicarbonyl compounds in cookies made from wheat, hull-less barley and colored corn and its relation with phenolic compounds, free amino acids and sugars. *European Food Research and Technology* 241: 51-60.
145. Köksel, H.F. (2009): Effects of xanthan and guar gums on quality and staling of gluten free cakes baked in microwave-infrared combination oven. MSc thesis, Middle East Technical University, Turkey.

146. Krifi, B., Chouteau, F., Boudrant, J., Metche, M. (2000): Degradation of anthocyanins from blood orange juices. *Int J Food Sci Tech* 35:275-83.
147. Kroh, L.W. (1994): Charamelisation in food and beverages. *Food Chemistry* 51, 373-379.
148. Ktenioudaki, A., Butler, F., Gallagher, E. (2011): Dough characteristics of Irish wheat varieties II. Aeration profile and baking quality. *LWT – Food Science and Technology* 44: 602-610.
149. Kudryavtsev, A.M., Boggini, G., Benedettelli S., Illichevskii, N.N. (1996): Gliadin polymorphism and genetic diversity of modern Italian durum wheat. *Journal of Genetic and Breeding* 50: 239-248.
150. Kuktaite, R. (2004): Protein quality in wheat: changes in protein polymer composition during grain development and dough processing. In *Crop Science Department*. Alnarp: Swedish University of Agricultural Science.
151. Kuktaite, R., Larsson, H., Marttila, S., Johansson, E. (2005): Effect of mixing time on gluten recovered by ultracentrifugation studied by microscopy and rheological measurements. *Cereal Chemistry* 82: 375-384.
152. Kuktaite, R., Plivelic, T.S., Cerenius, Y., Hedenqvist, M.S., Gällstedt, M., Marttila, S., Ignell, R., Popineau, Y., Tranquet, O., Shewry, P.R., Johansson, E. (2011): Structure and morphology of wheat gluten films: from polymeric protein aggregates towards superstructure arrangements. *Biomacromolecules* 12: 1438-1448.
153. Kumamaru, T., Ogawa, M., Satoh, H., Okita, T.W. (2007): Protein body biogenesis in cereal endosperms. *Plant Cell Monographs*. Springer, Berlin, Heidelberg.
154. Lampi, A.M., Nurmi, T., Piironen, V. (2010): Effects of the environment and genotype on tocopherols and tocotrienols in wheat in the HEALTHGRAIN diversity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 9306-9313.
155. Landry, J., and Delhaye S. (1993): The tryptophan content of wheat, maize and barley grains as a function of nitrogen content. *Journal of Cereal Science* 18: 259-266.
156. Larkins, B.A., Perdesen, K., Mark, M.D., Wilson, D.R. (1984): The zein proteins of maize endosperm. *Trends in Biochemical Sciences* 9: 306-308.

157. Larroque, O.R., Gianibelli, M.C., Batey, I.L., MacRitchie, F. (1996): Identification of elution subfractions from the first peak of the SE-HPLC chromatograms of wheat storage protein. In: *Gluten Proteins 1996*, Cereal Chemistry division, Royal Australian Chemical Institute, North Melbourne, Australia.
158. Lásztity R. (1984): *Gluten complex and factors influencing its rheological properties. The Chemistry of cereal Proteins.* CRC Press: Inc.Raton, Florida.
159. Lásztity, R. (1995): *Wheat proteins. The Chemistry of cereal Proteins.* CRC Press: Inc.Raton, Florida.
160. Lásztity, R. (1996): *The Chemistry of cereal Proteins.* CRC Press: Inc.Raton, Florida.
161. Laurikainen, T., Harkonen, H., Autio, K., Poutanen, K. (1998): Effects of enzymes in fibre-enriched baking. *Journal of Science and Food Agriculture* 76: 239-249.
162. Lee, L., Ng, P.K.W., Whallon, J.H., Steffe, J.F. (2001): Relationship between rheological properties and microstructural characteristics of nondeveloped, partially developed, and developed doughs. *Cereal Chemistry* 78: 447-452.
163. Lesschaeve, I., and Noble, A. C. (2005): Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *American Journal of Clinical Nutrition* 81: 330-335.
164. Letang, C., Piau, M., Verdier, C. (1999): Characterization of wheat flour-water doughs. Part I: Rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering* 41: 121-132.
165. Levine, H., and Slade, L. (1989): Interpreting the behaviour of low-moisture foods. In: Hardman, T.M. (Ed.), *Water and Food Quality.* Elsevier Applied Science, London, United Kingdom, pp. 71-134.
166. Lew, E.J.-L., Kuzmicky, D.D., Kasarda, D.D. (1992): Characterization of low molecular weight glutenin subunits by reversed-phase high-performance liquid chromatography, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, and N-terminal amino acid sequencing. *Cereal Chemistry* 69: 508-515.

167. Li, C.Y., Kim, H.W., Won, S.R., Min, H.K., Park, K.J., Park, J.Y., Ahn, M.S., Rhee, H.I. (2008): Corn husk as a potential source of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 11413-11416.
168. Li, S.S., Tayie, F.A.K., Young, M.F., Rocheford, T., White, W.S. (2007): Retention of provitamin A carotenoids in high β -carotene maize (*Zea mays*) during traditional African household processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 10744-10750.
169. Lindsay, M. P., and Skerritt, J. H. (1999): The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives. *Trends in Food Science and Technology* 10: 247-253.
170. Linko, Y.Y., Javanainen, P., Linko, S. (1997): Biotechnology of bread baking. *Trends in Food Science & Technology* 8: 339-344.
171. Liu, Q., Qiu, Y., Beta, T. (2010): Comparison of antioxidant activities of different colored wheat grains and analysis of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 9235-9241.
172. Liyana-Pathirana, C.M., and Shahidi, F. (2006): Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 1256-1264.
173. Lookhart, G., and Bean, S. (1995): Separation and characterization of wheat protein fractions by high-performance capillary electrophoresis. *Cereal Chemistry* 72: 527-532.
174. Loy, D.D., and Wright, K.N. (2003): Nutritional properties and feeding value of corn and its by-products. *Corn: Chemistry and Technology*. 2nd ed. AACC International, St. Paul, MN, pp. 571-603.
175. Luo, C., Branlard, G., Griffin, W.B., McNei, D.L. (2000): The effect of nitrogen and sulphur fertilisation and their interaction with genotype on wheat glutenins and quality parameters. *Journal of Cereal Science* 31: 185-194.
176. MacDonald, G. K. (1992): Effects of nitrogenous fertilizer on the growth, grain yield and grain protein concentration of wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 43: 949-967.

177. MacRitchie, F. (1983): Role of lipids in baking. *Lipids in cereal technology*. Academic Press, London, United Kingdom.
178. MacRitchie, F. (1987): Evaluation of contributions from wheat protein fractions to dough mixing and bread-making. *Journal of Cereal Science* 6: 259-268.
179. MacRitchie, F. (1992): Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Advances in Food Nutrition Research* 36: 1-87.
180. MacRitchie, F. (1999). Wheat proteins: characterization and role in flour functionality. *Cereal Foods World* 44: 188-193
181. MacRitchie, F., Kasarda, D. D., Kuzmick, D. D. (1991): Characterization of wheat protein fractions differing in contributions to breadmaking quality. *Cereal Chemistry* 68: 122-130.
182. Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Assadpoor, E. (2014): Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers. *Drying Technology* 32: 509-518.
183. Manu, B.T. and Prasada Rao, U.J.S. (2011): Role of peroxidase and H₂O₂ in cross-linking of gluten proteins. *Journal of Food Biochemistry* 35: 1695-1702.
184. Mares, D., and Mrva, K. (2008): Late-Maturity α -Amylase: Low Falling Number in Wheat in the Absence of Preharvest Sprouting. *Journal of Cereal Science* 47: 6-17.
185. Marquart, L., Faubion, J., HaiLiu, R., Smail, V., Fulcher, G., Scheideman, M. (2007): Moving whole grains forward: the case for a whole grain collaborative. *Cereal Foods World* 52: 196-200.
186. Martínez-Anaya, M.A., and Jiménez, T. (1997): Functionality of starch and non-starch polysaccharide hydrolysing enzymes in breadmaking. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 205: 209-214.
187. Martling S.E., Mulvaney, S.J., Cohen, C. (2004): Effect of moisture content on viscoelastic properties of hydrated gliadin. *Cereal Chemistry* 81: 207-219.
188. Masci, S., Lew, E.J.L., Lafiandra, D., Porceddu, E., Kasarda, D.D. (1995): Characterization of low molecular weight glutenin subunits in durum wheat by reversed-phase high-performance liquid chromatography and N-terminal sequencing. *Cereal Chemistry* 72: 100-104.

189. Masi, P., Cavella, S., Sepe, M. (1998): Characterization of dynamic viscoelastic behaviour of wheat flour doughs at different moisture contents. *Cereal Chemistry* 75: 428-432.
190. Masci, S., Egorov, T.A., Ronchi, C., Kuzmicky, D.D., Kasarda, D.D., Lafiandra, D. (1999): Evidence for the presence of only one cysteine residue in the D-type low molecular weight subunits of wheat subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 29: 17-25.
191. Melas, V., Morel, M.H., Autran, J.C., Feillet, P. (1994): Simple and rapid method for purifying low molecular weight subunits of glutenins from wheat. *Cereal Chemistry* 71: 234-237.
192. Menga, V., Fares, C., Troccoli, A., Cattivelli, L., Baiano, A. (2010): Effect of genotype, location and baking on the phenolic content and some antioxidant properties of cereal species. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 7-16.
193. Merlino, M., Leroy, P., Chambon, C., Branlard, G. (2009): Mapping and proteomic analysis of albumin and globulin proteins in hexaploid wheat kernels (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 18: 1321-1337.
194. Metakovsky, E.V., Wrigley, C.W., Bekes, F., Gupta, R.B. (1990): Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Australian Journal of Agricultural Research* 41: 289-306.
195. Mikhaylenko, G. G., Czuchajowska, Z., Baik, B. K., Kidwell, K. K. (2000): Environmental influences on flour composition, dough rheology, and baking quality of spring wheat. *Cereal Chemistry* 77: 507-511.
196. Miyazaki, M., van Hung, P., Maeda, T., Morita, N. (2006): Recent advances in application of modified starches for breadmaking. *Trends in Food Science & Technology* 17: 591-599.
197. Mondal, A., and Datta, A.K. (2008): Bread baking-A review. *Journal of Food Engineering* 86: 465-74.

198. Montilla, E.C., Hillebrand, S., Antezana, A., Winterhalter, P. (2011): Soluble and Bound Phenolic Compounds in Different Bolivian Purple Corn (*Zea mays* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7068-7074.
199. Moore, J., Hao, Y., Yhou, K., Luther, M., Costa, J., Yu, L. (2005): Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 6649-6657.
200. Morita, N., Maeda, T., Miyazaki, M., Yamamori, M., Miura, H., Ohtsuka, I. (2002): Dough and baking properties of high-amylose and waxy wheat flours. *Cereal Chemistry* 79: 491-495.
201. Muralikrishna, G. and Rao, M.V.S.S.T.S. (2007): Cereal non-cellulosic polysaccharides: Structure and function relationship - An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 599-610.
202. Nanditha, B., and Prabhasankar, P. (2009): Antioxidants in Bakery Products: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49: 1-27.
203. Nash, D., Lanning, S. P., Fox, P., Martin, J. M., Blake, N. K., Souza, E., Graybosch, R. A., Giroux, M. J., Talbert, L. E. (2006): Relationship of Dough Extensibility to Dough Strength in a Spring Wheat Cross. *Cereal Chemistry* 83: 255-258.
204. Nieto-Taladriz, M.T., Perretant, M.R., Rousset, M. (1994): Effect of gliadins and HMW and LMW subunits of glutenin in the F6 recombinant inbred lines from a bread wheat cross. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 81-88.
205. Nikkhan, W., Khaymay, M., Heidari, R., Jamee, R. (2007): Effect of sugar treatment on stability of anthocyanin pigments of berries. *Journal of Biological Science* 7: 1412-1417.
206. Nikolić, N., Stojanović, J., Stojanović, G., Mastilović, J., Karabegović, I., Petrović, G., Lazić, M. (2013): The effect of some protein rich flours on farinograph properties of wheat flour. *Advanced technologies* 2: 20-25.
207. Nizar, M.A. (2002): Gliadins polymorphism and cluster analyses of Syrian grown durum wheat. *Plant Breeding and Seed Science* 46: 45-56.

208. Nurit, E., Tiessen, A., Pixley, K.V., Palacios-Rojas, N. (2009): Reliable and inexpensive colorimetric method for determining protein-bound tryptophan in maize kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 7233–7238.
209. Nurul Islam, M.D., and Johansen, H.B. (1987): Physicochemical tests - a basis for selecting the size of wheat flour. *Journal of Food Science and Technology* 24: 136-138.
210. Oak, M.D., Tamhankar, S.A., Rao, V.S., Bhosale, S.B. (2004): Relationship of HMW, LMW Glutenin subunit and gliadin with gluten strength in Indian Durum wheat. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 13: 51-55.
211. Ognean, M., Ognean, C.F., Draghici, O., Danciu, I. (2008): Factors affecting the viscosities of wheat flours extracts. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology* 7: 17-26.
212. Okarter, N., Liu, C., Sorrells, M.E., Liu, R.H. (2010): Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chemistry* 199: 249-257.
213. Osborne, T.B. (1924): *The Vegetable Proteins*. Longmans & Green, London, United Kingdom.
214. Ozturk, A., and Aydin, F. (2004): Effect of water stress at various growth stages on some quality characteristics of winter wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* 190: 93-99.
215. Panfili, G., Fratianni, A., Irano, M. (2004): Improved 368 normal-phase high-performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6373-6377.
216. Panozzo, J. F. and Eagles, H. A. (2000): Cultivar and environmental effects on quality characters in wheat. II. Protein. *Australian Journal of Agricultural Research* 51: 629-636.
217. Parchment, O., Shewry, P.R., Tatham, A.S., Osguthorpe, D.J. (2001): Molecular Modeling of Unusual Spiral Structure in Elastomeric Wheat Seed Protein. *Cereal Chemistry* 78: 658-662.

218. Parker, R., and Ring, S. G. (2001): Aspects of the Physical Chemistry of Starch. *Journal of Cereal Science* 34: 1-17.
219. Pasqualone, A., Bianco, A.M., Paradiso, V.M., Summo, C., Gambacorta G., Caponio, F. (2014): Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract. *Food Research International* 65: 385-393.
220. Payne, P. I., Law, C. N., Mudd, E. E. (1980): Control of homologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics* 58: 113-120.
221. Payne, P.I. (1986): Varietal improvement in bread making quality of wheat: contributions from biochemistry and genetics and future prospects from molecular biology B CPO Mono. *Biotechnology and crop improvement* 34: 69-81.
222. Payne, P.I., Seekings, J.A., Worland, A.J., Jarvis, M.G., Holt, L.M. (1987): Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F5 progeny from 'Chinese spring' x 'Chinese spring' (Hope1A). *Journal of Cereal Science* 6: 103-118.
223. Peña R.J. (2002): Wheat for Bread and Other Foods. In: Curtis, B.C., Rajaram, S. and Macpherson, H.G., Eds., *Bread Wheat-Improvement and Production*, FAO Plant Production and Protection Series, Rome.
224. Peña, R.J., Zarco-Hernandez, J., Amaya-Celis, A., Mujeeb-Kazi, A. (1994): Relationship between chromosome 1B-encoded glutenin subunit compositions and breadmaking quality characteristics of some durum wheat (*Triticum turgidum*) cultivars. *Journal of Cereal Science* 19: 234-249.
225. Penella, J. M. S., Collar, C., Haros, M. (2008): Effect of wheat bran and enzyme addition on dough functional performance and phytic acid levels in bread. *Journal of Cereal Science* 48: 715-721.
226. Perez Borla, O.P., Leonor Motta, E., Saiza, A., Fritza, R. (2004): Quality parameters and baking performance of commercial gluten flours. *LWT- Food Science and Technology* 37: 723-729.

227. Perez-Jimenez, J., and Saura-Calixto, F. (2005): Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5036-5040.
228. Permyakova, M. D. and Trufanov, V. A. (2011): Effect of soybean lipoxygenase on baking properties of wheat flour. *Applied Biochemistry and Microbiology* 47: 315-320.
229. Peruffo, A. D. B., Pogna, N. E., Curioni, C. (1996): Evidence for the presence of disulfide bonds between beta-amylase and low molecular weight glutenin subunits. In: L. O'Brien, A. B. Blakeney, A. S. Ross, and C. W. Wrigley (Eds.), *Proceedings of 6th International Gluten Workshop "Gluten 96"*. Royal Aust. Chem. Inst., Melbourne, Australia.
230. Pestorić, M., Pojić, M., Mastilović, J., Šimurina, O., Tasić, T., Živančev, D., Šoronja Simović, D. (2008): Sensory evaluation of traditional bread in Vojvodina. *Food Processing Quality and Safety* 35: 99-112.
231. Peterson, C. J., Graybosch, R. A., Baenziger, P. S., Grombacher, A. W. (1992): Genotype and environment effects on quality characteristics of hard red winter wheat. *Crop Science* 32: 98-103.
232. Peterson, C.J., Johnson, V.A., Mattern, P.J. (1983): Evaluation of variation in mineral element concentrations in wheat flour and bran of different cultivars. *Cereal Chemistry* 60: 450-455.
233. Petronijević, B.Ž. (2000): *Opšta i primenjena enzimologija*. Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet, Leskovac.
234. Pirozi, M. R., Margiotta, B., Lafiandra, D., MacRitchie, F. (2008): Composition of polymeric proteins and bread-making quality of wheat lines with allelic HMW-GS differing in number of cysteines. *Journal of Cereal Science* 48: 117-122.
235. Pojić, M., Spasojević, N., Atlas, M. (2014): Chemometric Approach to Characterization of Flour Mill Streams: Chemical and Rheological Properties. *Food Bioprocess Technology* 7: 1298-1309.
236. Pomeranz, Y. (1968): Relation between chemical composition and bread-making potentialities of wheat flour. *Advances in Food Research* 16: 335-455.

237. Pomerantz, Z., Chung, O., Robinson, J. (1996): Lipids in the wheat from various classes and varieties. *Journal of the American oil chemists society* 43: 511-514.
238. Pommet, M., Redl, A., Guilbert, S., Morel, M.H. (2005): Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic materials. *Journal of Cereal Science* 42: 81-91.
239. Prabhasankar, P., Kumar, M., Lokesh, B., Rao, P. (2000): Distribution of free lipids and their fractions in wheat flour milled streams. *Food Chemistry* 71: 97-103.
240. Preston, K.R., Hucl, P., Townley-Smith, T.F., Dexter, J.E., Williams, P.C., Stevenson, S.G. (2001): Effects of cultivar and environment on farinograph and Canadian short process mixing properties of Canada western red spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 81: 391-398.
241. Primo-Martin, C., Valera, R., Martinez-Anaya, M.A. (2003): Effect of pentosanase and oxidases on the characteristics of doughs and the glutenin macropolymer (GMP). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4673-4679.
242. Quaglia, G. (1988): Other durum wheat products. In: Fabriani, G., Lintas, C. (Eds.), *Durum Wheat: Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, Minnesota, pp. 263-274.
243. Rababah, T.M., Ereifej, K.I., Howard, L. (2005): Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 4444-4447.
244. Rakita, S., Pojić, M., Tomić, J., Torbica, A. (2014): Determination of free sulphhydryl groups in wheat gluten under the influence of different time and temperature of incubation: Method validation. *Food Chemistry* 150: 166-173.
245. Rao, V.K., Mulvaney, S.J., Dexter, J.E., Edwards, N.M., Peressini, D. (2001): Stress-relaxation properties of mixograph semolina-water doughs from durum wheat cultivars of variable strength in relation to mixing characteristics and bread-making and pasta-making performance. *Journal of Cereal Science* 34: 215-232.
246. Reboul, E., Richelle, M., Perrot, E., Desmoulins-Malezet, C., Pirisi, V., Borel, P. (2006): Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8749-8755.

247. Reddie, K.G., Carroll, K.S., 2008. Expanding the functional diversity of proteins through cysteine oxidation. *Current Opinion in Chemical Biology* 12: 746-754.
248. Rhazi, L., Cazalis, R., Aussenac, T. (2003) : Sulphydryl-disulfide changes in storage proteins of developing wheat grain: influence on the SDS-unextractable glutenin polymer formation. *Journal of Cereal Science* 38: 3-13.
249. Rojas, J.A., Rosell, C.M., Benedito de Barber, C. (1999): Pasting properties of different wheat four-hydrocolloid systems. *Food Hydrocolloids* 13: 27-33.
250. Rosell, C., Rojas, J., Beedito, B. (2001): Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids* 15: 5-81.
251. Ruibal-Mendieta, N. L., Rozenberg, R., Delacroix, D. L., Petitjean, G., Dekeyser, A., Baccelli, C., Marques, C., Delzenne, N. M., Meurens, M., Habib-Jiwan, J.L. (2004): Spelt (*Triticum spelta* L.) and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) wholemeals have similar sterol profiles, as determined by quantitative liquid chromatography and mass spectrometry analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 4802-4807.
252. Scanlon, M.G., Sapirstein, H.D., Fahloul, D. (2000): Mechanical properties of bread crumb prepared from flours of different dough strength. *Journal of Cereal Science* 32: 235-243.
253. Schropp, P., and Wieser, H. (1996): Effects of high molecular weight subunits of glutenin on the rheological properties of wheat gluten. *Cereal Chemistry* 73: 410-413.
254. Scossa, F. (2008): Comparative transcriptional and proteomic profiling of bread wheat cv. Bobwhite and its derived transgenic line over-expressing a LMW-GS gene. PhD thesis. Università della Tuscia, Viterbo.
255. Serpen, A. and Gökmen, V. (2006): A proposed mechanism for the inhibition of soybean lipoxygenase by β -carotene. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 401-406.
256. Serpen, A., Gökmen, V., Pellegrini, N., Fogliano, V. (2008): Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *Journal of Cereal Science* 48: 816-820.

257. Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y., Bao, J.S. (2009): Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science* 49: 106-111.
258. Simmonds, D.H. (1989): Inherent Quality Factors in Wheat. *Wheat and Wheat Quality in Australia*. Australia Wheat Board, Melbourne, pp. 31–61.
259. Shazadi N., Sadiq Butt M., Rehman S.U., Sharif K. (2005): Rheological and baking characters of composite flours. *International Journal of Agriculture and Biology (Pakistan)* 7: 100-104.
260. Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y., Bao, J. (2009): Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science* 49: 106-111.
261. Sheweta, B., Mudgil D., Khatkar, B.S. (2013): Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. *LWT - Food Science and Technology* 51: 211-217.
262. Sheu, S.C., Chen, A.O. (1991): Lipoxygenase as blanching index for frozen vegetable soybeans. *Journal Food Science* 56: 448-451.
263. Shewry, P.R. (1999): The synthesis, processing, and deposition of gluten proteins in the developing wheat grain. *Cereal Foods World* 44: 587-589.
264. Shewry, P.R. (2003): Wheat gluten proteins. *Wheat Gluten Protein Analysis*, ed. P.R. Shewry and G.L. Lookhart. St Paul, Minnesota, pp. 1-17.
265. Shewry, P.R., Tatham, A.S., Forde. J., Kreis, M., Mifflin, B.J. (1986): The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *Journal of Cereal Science* 4: 97-106.
266. Shewry, P.R. and Tatham, A.S. (1990): The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Journal of Biochemistry* 267: 1-12.
267. Shewry, P.R., Halford, N.G., Tatham, A.S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 15: 105-120.
268. Shewry, P.R., Tatham, A.S., Fido, R., Jones, H., Bercelo, P.,Lazzeri, P.A. (2000): Improving the end use properties of wheat by manipulating the grain protein

- composition. Wheat in Global Environment. In: Proc. 6th Int.Wheat Conf., Budapest, Hungary.
269. Shewry, P. R., and Halford, N. G. (2002): Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53: 947-958.
 270. Shewry, P.R., Halford, N.G., Belton, P.S., Tatham, A.S. (2002): The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transaction of the Royal Society B* 357: 133-42.
 271. Shewry, P.R. (2000): Seed proteins. In: Black M, Bewley JD, eds. *Seed technology and its biological basis*. Sheffield, UK: Sheffield Academic Press, pp. 42-84.
 272. Shewry, P.R. (2009): Wheat. *Journal of Experimental Botany* 60: 1537-1553.
 273. Shewry, P.R., Halford, N.G., and Tatham, A.S. (1989): The high molecular weight subunits of wheat, barley, and rye: Genetics, molecular biology, chemistry, and role in wheat gluten structure and functionality. *Oxford Survey of Plant Molecular and Cell Biology* 6: 163-219.
 274. Shewry, P. R., Halford, N. G., Tatham, A. S., Popineau, Y., Lafiandra, D., Belton, P. S. (2003): The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties. In *Advances in Food and Nutrition Research* 45: 219-302.
 275. Shukla R., Cheryan M. (2001): Zein: the industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products* 13:171-192.
 276. Shogren, R.L., Mohamed, A.A., Carriere, C.J. (2003): Sensory analysis of whole wheat/soy flour breads. *Journal of Food Science* 68: 2141-2145.
 277. Siddiq, M., Nasir, M., Ravi, R., Butt, M.S., Dolan, K.D., Harte, J.B. (2009): Effect of defatted maize germ flour addition on the physical and sensory quality of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology* 42:464-470.
 278. Singh, N.K. and Shepherd, K.W. (1987): Solubility behaviour, synthesis, degradation and subcellular location of a new class of disulfide-linked proteins in wheat endosperm. *Australian Journal of Plant Physiology* 14: 245-252.

279. Singh, N.K., and Shepherd, K.W. (1985): The structure and genetic control of a new class of disulfide-linked proteins in wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics* 71: 79-92.
280. Singh, N.K., Shepherd, K.W., Langridge, P., Gruen, L.C. (1991): Purification and biochemical characterization of triticin, a legumin-like protein in wheat endosperm, *Journal of Cereal Science* 13: 207-219.
281. 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.
282. Slavin, J. (2003): Why whole grains are protective: biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 129-134.
283. Slavin, M., Lu, Y., Kaplan, N., Yu, L.L. (2013): Effects of baking on cyanidin-3-glucoside content and antioxidant properties of black and yellow soybean crackers. *Food Chemistry* 141: 1166-1174.
284. Song, Y.H., Zheng, Q. (2007): Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends Food Science and Technology* 18: 132-138.
285. Snape, J., Pánková, K. (2006): *Triticum aestivum* (wheat). In: Marquart L, Jacobs DR Jr, McIntosh GH, Poutanen K, Reicks M, eds. *Encyclopedia of life sciences*. John Wiley & Sons Ltd.
286. Soupe, J. (1995): New trends in applications of industrial enzymes in the food industry. In: 75th Anniversary of IQS. Barcelona: Instituto Químico Sarriá
287. Spiertz, J.H.J., Hamer, R.J., Xu, H., Primo-Martin, C., Don, C., van der Putten, P. E. L. (2006): Heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.): Effects on grain growth and quality traits. *European Journal of Agronomy* 25: 89-95.
288. Stehno, Z., Dvořáček, V., Dotlačil, L. (2008): Wheat protein fractions in relation to grain quality characters of the cultivars registered in the Czech Republic 2004–2006. In: *Proceedings of 11th International Wheat Genetics Symposium* (edited by R. Apples, R. Eastwood, E. Lagudah, P. Langridge, M. Mackay, L. McIntyre, P. Sharp). Brisbane, QLD, Australia. pp. 556-559.

289. Stintzing, F.C., Stintzing, A.S., Carle, R., Frei, B., Wrolstad, R.E. (2002): Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6172-6181.
290. Suetsuna, K. and Chen, J.R. (2002): Isolation and characterization of peptides with antioxidant activity derived from wheat gluten. *Food Science and Technology Research* 8: 227-230.
291. Surrey, K., 1964. Spectrophotometric method for determination of lipoxidase activity. *Plant Physiology* 39: 65-70.
292. Taghouti, M., Gaboun, F., Nsarellah, N., Rhrib, R., ElHaila, M., Kamar, M., Abbad-Andaloussi, F., Udupa, S.M. (2010): Genotype × Environment interaction for quality traits in durum wheat cultivars adapted to different environments. *African Journal of Biotechnology* 9: 3054-3062.
293. Takizawa, T., Arakawa, H., Tokuyama, K., Morikawa, A. (2001): Identification of allergen fractions of wheat flour responsible for anaphylactic reactions to wheat products in infants and young children. *International Archives of Allergy and Immunology* 125: 51-56.
294. Tao, H.P., and Kasarda, D.D. (1989). Two-dimensional gel mapping and N terminal sequencing of LMW-glutenin subunits. *Journal of Experimental Botany* 40: 1015-1020.
295. Tatham, A.S. and Shewry, P.R. (1995): The S-poor prolamins of wheat, barley and rye. *Journal of Cereal Science* 22: 1-16.
296. Taylor, J.R.N., and Belton, P. (2002). *Pseudocereals and Less Common Cereals*. Springer, Berlin, Heidelberg.
297. Thannhauser T.W., Konishi Z., Scheraga H.A. (1987): Analysis for disulfide bonds in peptides and proteins. *Methods in Enzymology* 143: 115-119.
298. Thewissen, B.G., Celus, I., Brijs, K., Delcour, J.A. (2011): Foaming properties of wheat gliadin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 1370-1375.
299. Tomić, J., Torbica, A., Popovic, L., Strelec, I., Vaštag, Ž., Pojić, M., Rakita, S. (2015): Albumins Characterization in Relation to Rheological Properties and

Enzymatic Activity of Wheat Flour Dough. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 805-816

300. Tomić, J., Pojić, M., Torbica, A., Rakita, S., Živančev, D., Janić Hajnal, E., Dapčević Hadnađev, T., Hadnađev, M. (2013): Changes in the content of free sulphhydryl groups during postharvest wheat and flour maturation and their influence on technological quality. *Journal of Cereal Science* 58: 495-501.
301. Torbica, A., Živancev, D., Mastilovic, J., Knežević, D., Bodroža-Solarov, M. (2011): Impact of Changes in Climate Conditions on the Technological Quality of Wheat. *Proceedings of 46th Croatian & 6th International Symposium on Agriculture*, pp. 617-621.
302. Totlani, V.M., Peterson, D.G. (2006): Epicatechin carbonyl-trapping reactions in aqueous Maillard systems: Identification and structural elucidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7311-7318.
303. Trono, D., Pastore, D., Di Fonzo, N. (1999): Carotenoid dependent inhibition of durum wheat lipoxygenase. *Journal of Cereal Science* 29: 99-102.
304. Tronsomo, K.M., Magnus, E.M., Baardseth, P., Schofield, J.D., Aamond, A., Færgestad, E.M. (2003): Comparison of small and large deformation rheological properties of wheat dough and gluten. *Cereal Chemistry* 80: 587-595.
305. Tsai, C.L., Sugiyama, J., Shibata, M., Kokawa, M., Fujita, K., Tasuta, M., Nabetani, H., Araki, T. (2012): Changes in the Texture and Viscoelastic Properties of bread containing Rice porridge during storage. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 79: 331-335.
306. Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., Osawa, T. (2003): Dietary cyanidin 3-O-βD-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Journal of Nutrition* 133: 2125-2130.
307. Uthayakumaran, S., Tömösközi, S., Tatham, A., Bekes, F. (2001): Effects of Gliadin Fractions on Functional Properties of Wheat Dough Depending on Molecular Size and Hydrophobicity. *Cereal Chemistry* 78:138-141.

308. Vaiciulyte-Funk, L., Juodeikiene, G., Bartkiene, E. (2015): The relationship between wheat baking properties, specific high molecular weight glutenin components and characteristics of varieties. *Zemdirbyste-Agriculture* 102: 229-238.
309. van den Broeck, H.C., van Herpen, T., Schuit, C., Salentijn, E.M.J., Dekking, L., Bosch, D., Hamer, R.J., Smulders, M.J.M., Gilissen, L., van der Meer, I.M. (2009): Removing celiac disease-related gluten proteins from bread wheat while retaining technological properties: a study with Chinese Spring deletion lines. *BMC Plant Biology* 9, 12.
310. van Lonkhuijsen, H. J., Hamer, R. J., Schreuder, C. (1992): Influence of specific gliadins on the breadmaking quality of wheat. *Cereal Chemistry* 69:174-177.
311. Veraverbeke, W. S., and Delcour, J. A. (2002): Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to bread making functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42: 179-208.
312. Vensel, W.H., Tanaka, C.K., Cai, N., Wong, J.H., Buchanan, B.B., Hurkman, W.J. (2005). Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* 5: 1594-1611.
313. Vhangani, L. N., and Van Wyk, J. (2013): Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) derived from fructose-lysine and riboselysine model systems. *Food Chemistry* 137: 92-98.
314. Vukić M., Hadnađev M., Tomić J., Mastilović V., Torbica A., Grujić R. (2013). Alveograph and breadmaking quality of wheat dough as affected by added glucose oxidase. *Quality of life* 4: 49-54.
315. Wang, J., Zhao, M., Zhao, Q., Jiang, Y. (2007): Antioxidant properties of papain hydrolysates of wheat gluten in different oxidation systems. *Food Chemistry* 101: 1658-1663.
316. Wang, Y.G., Khan, K., Hareland, G., Nygard, G. (2006): Quantitative Glutenin Composition from Gel Electrophoresis of Flour Mill Streams and Relationship to Breadmaking Quality. *Cereal Chemistry* 83: 293-299.

317. Wang, W.X., Si, H., Zhang, Z. (2012) Quantitative structure –activity relationship study on antitumour activity of a series of flavonoids. *Molecular Simulation* 38: 38-44.
318. Weegels, P.L., Marseille, J.P., Bosveld, P., Hamer, R.J. (1994): Large-scale separation of gliadins and their breadmaking quality. *Journal of Cereal Science* 20: 253-264.
319. Weipert, D. (1990): The Benefits of Basic Rheometry in Studying Dough Rheology. *Cereal Chemistry* 67: 311-317.
320. Weipert, D. (2006): Fundamentals of rheology and spectrometry. In: L. Popper, W. Schafer, W. Freund (Eds.), *Future of flour a compendium of flour improvement*. Clenze: Agrimedia, Germany, pp. 117-146.
321. Weiss, W., Huber, G., Engel, K.H. (1997): Identification and characterization of wheat grain albumin/globulin allergens. *Electrophoresis* 18: 826-33.
322. Wellner, N., Mills, E.N.C., Brownsey, G., Wilson, R.H., Brown, N., Freeman, J., Halford, N.G., Shewry, P.R., Belton, P.S. (2005): Changes in protein secondary structure during gluten deformation studied by dynamic Fourier transform infrared spectroscopy. *Biomacromolecules* 6: 255-261.
323. Wieser, H. (1996): Relation between gliadin structure and coeliac toxicity. *Acta Paediatrica* 412: 3-9.
324. Wieser, H. (2007): Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology* 24: 115-119.
325. Wieser, H and Kieffer, R. (2001): Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a microscale. *Journal of Cereal Science* 34: 19-27.
326. Wrigley, C.W. (1996). Giant proteins with flour power. *Nature* 381: 738-739.
327. Wrigley, C.W. and Bietz, J.A. (1988): *Proteins and amino acids*: St. Paul American Association of Cereal Chemistry.
328. Yaseen, A.A., Abd El-Hafeez, S.A., Ramadan, M.T. (2010): Corn-Wheat Pan Bread Quality as Affected by Hydrocolloids. *Journal of American Science* 6: 721-727.
329. Yi, L., Kerr, W.L., Johnson, J.W. (2009): Effects of waxy wheat flour and water on frozen dough and bread properties. *Journal of Food Science* 74: 278-284.

330. Yu, L., Nanguet, A.L., Beta, T. (2013): Comparison of Antioxidant Properties of Refined and Whole Wheat Flour and Bread. *Antioxidants* 2: 370-383.
331. Zanoni, B., Peri, C. (1993). A study of the bread-baking process. I: a phenomenological model. *Journal of Food Engineering* 19: 389-398.
332. Zhang, Y., He, Z. H., Ye, G. Y., Aimin, Z., Van Ginkel, M. (2004): Effect of environment and genotype on bread-making quality of spring-sown spring wheat cultivars in China. *Euphytica* 139: 75-83.
333. Žeželj, M. (2005): Tehnologija žita i brašna: prerada brašna, Glas javnosti, Beograd
334. Žilić, S., Dodig, D., Hadži-Tašković Šukalović, V., Maksimović, M., Saratlić, G., Škrbić, B. (2010): Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and lipoxygenase and peroxidase activities. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 1360-1367.
335. Žilić, S., Barać, M., Pešić, M., Dodig, D., Ignjatović-Micić, D. (2011a). Characterization of proteins from grain of different bread and durum wheat genotypes. *International Journal of Molecular Science* 12: 5878-5894.
336. Žilić, S., Barać, M., Pešić, M., Hadži-Tašković Šukalović, V., Dodig, D., Mladenović Drinić, S., Janković, M. (2011b). Genetic variability of albumin-globulin content, and lipoxygenase, peroxidase activities among bread and durum wheat genotypes. *Genetika* 43: 503-516.
337. Žilić S., A. Serpen, G. Akıllıoğlu, M. Janković, V. Gökmen (2012a): Distributions of phenolic compounds, yellow pigments and oxidative enzymes in wheat kernels and their relation to antioxidant capacity of bran and debranned flour. *Journal of Cereal Science* 56: 652-658.
338. Žilić, S., Akıllıoğlu, G., Serpen, A., Barać, M, Gökmen, V. (2012b): Effects of isolation, enzymatic hydrolysis, heating, hydration and Maillard reaction on the antioxidant capacity of cereal and legume proteins. *Food Research International* 49: 1-6.
339. Žilić S., Serpen A., Akıllıoğlu G., Gökmen V., Vančetović J. (2012c). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea mays* L.) Kernels. *J. Agric.Food Chem.*, 60, 1224–1231

340. Žilić, S., Basić, Z., Hadži-Tašković Šukalović, V., Maksimović, V., Janković, M., Filipović, M. (2014): Can the sprouting process applied to wheat improve the contents of vitamins and phenolic compounds and antioxidant capacity of the flour? *International Journal of Food Science and Technology* 49: 1040-1047.
341. Žilić, S., Kocadagli, T., Vančetović, J., Gokmen, V. (2016): Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT- Food Science and technology* 65: 597-603.

Biografija

Marijana Janković je rođena 14.09.1984. godine u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Diplomirala je u februaru 2009. godine, na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu na odseku za Prehrambenu tehnologiju – Tehnologija biljnih proizvoda, sa prosečnom ocenom 8,19. Doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu, smer Prehrambena tehnologija, upisala je školske 2010/2011 godine. Od februara 2011. godine radi u Institutu za kukuruz “Zemun Polje” u svojstvu mlađeg istraživača u Grupi za prehrambenu tehnologiju i biohemiju. Od 2011. godine angažovana je na projektu Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije TR 31069 pod nazivom: “Korišćenje biljnih izvora proteina, dijetalnih vlakana i antioksidanasa u proizvodnji hrane”. Osnovnu istraživačku aktivnost razvija u oblasti prehrambene tehnologije i biohemije koja se odnosi na nutritivna, funkcionalna i tehnološka svojstva proteina žita, kao i uticaj bioaktivnih komponenata na nutritivni i funkcionalni profil gotovih proizvoda.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а **Маријана Јанковић**
број уписа **10/10**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

**„Протеински профили пшенице и њихов утицај на технолошка својства
брашна“**

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

Потпис докторанда

У Београду, 04.04.2016.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора **Маријана Јанковић**

Број уписа **10/10**

Студијски програм **Прехрамбена технологија**

Наслов рада **„Протеински профили пшенице и њихов утицај на технолошка
својства брашна“**

Ментор **Проф. др Мирољуб Бараћ**

Потписани **Маријана Јанковић**

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања 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 докторанда

У Београду, 04.04.2016.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

„Протеински профили пшенице и њихов утицај на технолошка својства брашна“

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 04.04.2016.

1. Ауторство - Дозвољавате 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. Дозвољавате 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 прераде. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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 прераде. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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.