Izoliranje, modificiranje i karakteriziranje škroba pšenice

Ačkar, Đurđica

Doctoral thesis / Disertacija

2010

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:071762

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Đurđica Ačkar, dipl. ing.

IZOLIRANJE, MODIFICIRANJE I KARAKTERIZIRANJE ŠKROBA PŠENICE

DOKTORSKI RAD

Osijek, studeni, 2010.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
doktorski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju ugljikohidrata
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

UDK: 664.231 : 664.058.4(043.3)
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 1. srpnja 2010.
Voditelj: Dr. sc. Drago Šubarić, red. prof.
Suvoditelj: Dr. sc. Jurislav Babić, doc.

IZOLIRANJE, MODIFICIRANJE I KARAKTERIZIRANJE ŠKROBA PŠENICE

Đurđica Ačkar, dipl. ing.

Sažetak:

Cilj ovoga rada bio je ispitati utjecaj sorte na svojstva škroba pšenice: želatinizaciju, retrogradaciju, kapacitet bubrenja, indeks topljivosti, boju škroba, bistroću škrobne paste, reološka svojstva paste, udio rezistentnog škroba, stabilnost paste tijekom ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje i čvrstoću škrobnog gela, provesti kemijsku modifikaciju škroba epiklorhidrinom u udjelima 0,1, 0,3 i 0,5 % (s.tv. škroba) i smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarna, glutarna, adipinska i azelainska kiselina) i acetanhidrida (omjer kiselina:anhidrid 1:30) u udjelima 4, 6 i 8 % (s.tv. škroba) te ispitati fizikalna i kemijska svojstva nastalih modificiranih škrobova. U tu svrhu provedeno je izoliranje škroba iz dviju sorata pšenice: *Golubica* i *Srpanjka*.

Rezultati su pokazali da su izolirani i modificirani škrobovi imali visok stupanj čistoće. Sorta pšenice nije imala utjecaj na ispitivana svojstva nativnog škroba, ali je utjecala na reakciju sa reagensima za modifikaciju. Modifikacija škroba epiklorhidrinom rezultirala je porastom temperature želatinizacije i sniženjem retrogradacije nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C. Osim toga, došlo je i do porasta stabilnosti paste pri visokim temperaturama i tijekom hlađenja, sniženja kapaciteta bubrenja, indeksa topljivosti te stabilnosti u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje.

Temperature želatinizacije i početka stvaranja paste te retrogradacija škroba snižene su modifikacijom smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida. Adhezija gelova, kapacitet bubrenja i indeks topljivosti porasli su, a stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje snizila se modifikacijama smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida.

Ključne riječi: Škrob pšenice, epiklorhidrin, dikarboksilne kiseline, termofizikalna svojstva, fizikalna svojstva

Rad sadrži:
155 stranica
89 slika
37 tablica
0 priloga
155 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	dr. sc. *Daniela Horvat,* znan. savjetnica	predsjednik
2.	dr. sc. *Drago Šubarić,* red. prof.	član-voditelj
3.	dr. sc. *Jurislav Babić,* doc.	član-suvoditelj
4.	dr. sc. *Žaneta Ugarčić-Hardi,* red. prof.	zamjena člana

Datum obrane: 3. studenog 2010.

Rad je pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek; Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europske avenije 24; Rektoratu Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku, Trg Sv. Trojstva 3; Sveučilišnoj knjižnici Rijeka, Dolac 1; Sveučilišnoj knjižnici Split, Zagrebačka 3; Sveučilišnoj knjižnici Pula, Herkulov prolaz 1; Sveučilišnoj knjižnici Zadar, Obala kralja Petra Krešimira IV br. 2 i Sveučilišnoj knjižnici Dubrovnik, Ćira Carića 4.

BASIC DOCUMENTATION CARD
dissertation

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technology
Subdepartment of Carbohydrate Technology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

UDK: 664.231 : 664.058.4(043.3)
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. IX held on July 1st 2010.
Mentor: Drago Šubarić, PhD, full professor
Co-mentor: Jurislav Babić, PhD, assistant professor

ISOLATION, MODIFICATION AND CHARACTERISATION OF WHEAT STARCH

Đurđica Ačkar, dipl. ing.

Summary:

The aim of this research was to determine the influence of wheat variety on starch properties: gelatinisation, retrogradation, swelling power, solubility, starch colour, paste clarity, pasting properties, resistant starch, freeze-thaw stability and texture, to chemically modify starch with epichlorohydrin in 0.1, 0.3 and 0.5 % (d.m.) and mixtures of dicarboxylic acids (succinic, glutaric, adipic, azelaic) and acetanhydride (acid:anhydride ratio 1:30) in 4, 6 and 8 % (d.m.), and determine physical and chemical properties of obtained modified starches. For this purpose starches were isolated from two wheat varieties: *Golubica* and *Srpanjka.*

Results showed that isolated and modified starches had high purity. Wheat variety didn't influence examined starch properties, but it influenced reactivity of starch towards modification reagents. Modification with epichlorohydrin resulted in increase of gelatinisation temperature and decrease of retrogradation after 7 day storage at 4 °C. In addition, stability of paste at high temperatures and during storage increased, while swelling power, solubility and freeze-thaw stability decreased.

Gelatinisation and pasting temperatures and retrogradation decreased by modification with mixtures of dicarboxylic acids and acetanhydride. Gel adhesion, swelling power and solubility increased, while freeze-thaw stability decreased by afore mentioned modification.

Key words: Wheat starch, epichlorohydrin, dicarboxylic acids, thermophysical properties, physical properties

Thesis contains:
155 pages
89 figures
37 tables
0 supplements
155 references

Original in: Croatian language

Defense committee:

1. *Daniela Horvat*, PhD — chair person
2. *Drago Šubarić*, PhD, prof. — supervisor
3. *Jurislav Babić*, PhD, assistant prof. — co-supervisor
4. *Žaneta Ugarčić-Hardi*, PhD, prof. — stand-in

Defense date: November 3rd 2010.

Thesis is printed and deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača

20, Osijek; National and University Library in Zagreb, Hrvatske bratske zajednice bb; City and University Library Osijek, Europske avenije 24; University of J. J. Strossmayer in Osijek, Trg Sv. Trojstva 3; University Library Rijeka, Dolac 1; University Library Split, Zagrebačka 3; University Library Pula, Herkulov prolaz 1; University Library Zadar, Obala kralja Petra Krešimira IV br. 2 and University Library Dubrovnik, Ćira Carića 4.

Zahvaljujem se svojem mentoru prof. dr. sc. Dragi Šubariću i komentoru doc. dr. sc. Jurislavu Babiću na pomoći oko odabira teme, vođenju i savjetima tijekom izrade ovoga rada.
Hvala Danieli na pomoći u radu i moralnoj podršci.
Hvala svim kolegicama i kolegama na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu, Odjelu za kemiju i Poljoprivrednom institutu koji su mi savjetom, posudbom aparata i materijala, te svojom nesebičnosti i susretljivošću pomogli u radu.
Veliko hvala Ivanu, mojoj obitelji i prijateljima koji su bili velika podrška na ovome putu.

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. Pšenica 4
2.2. Izolacija škroba iz pšenice 7
2.2.1. Izolacija škroba iz brašna 7
2.2.2. Izolacija škroba iz zrna 11
2.3. Škrob 12
2.4. Svojstva škroba 19
2.4.1. Želatinizacija 19
2.4.2. Retrogradacija 23
2.4.3. Viskoznost škrobne paste 24
2.4.4. Tekstura škrobnog gela 26
2.5. Modificirani škrobovi 27
2.5.1. Kemijski postupci modifikacije škroba 27
2.5.1.1. Azelainska kiselina 37
2.5.1.2. Glutarna kiselina 38
2.5.1.3. Jantarna kiselina 38
2.5.2. Fizikalni postupci modifikacije škroba 39
2.5.3. Primjena nativnog i modificiranih škrobova pšenice u prehrambenoj industriji 40
2.6. Rezistentni škrob 41
2.6.1. Vrste rezistentnog škroba i njihova svojstva 41
2.6.2. Uvjeti stvaranja rezistentnog škroba 43
2.6.3. Proizvodnja i upotreba rezistentnog škroba 46
2.6.4. Metode određivanja udjela rezistentnog škroba 47
2.6.5. Utjecaj rezistentnog škroba na zdravlje 50
3. EKSPERIMENTALNI DIO 52
3.1. Definiranje zadatka 53
3.2. Materijali 54
3.3. Metode 54
3.3.1. Analiza kemijskog sastava pšenice 54
3.3.2. Izolacija škroba iz pšenice 55
3.3.3. Analiza kemijskog sastava nativnog škroba 56
3.3.4. Određivanje udjela amiloze u škrobu pomoću kita Megazyme K-AMYL 04/06 56
3.3.5. Modifikacija škroba epiklorhidrinom 56
3.3.6. Modifikacija škroba smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida 57
3.3.7. Određivanje čistoće škroba 57
3.3.8. Određivanje stupnja supstitucije u škrobovima modificiranim smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida 58
3.3.9. Određivanje strukture škroba primjenom FT-IR uređaja 59
3.3.10. Određivanje termofizičkih svojstava 61
3.3.11. Određivanje svojstava paste 62
3.3.12. Određivanje teksture škrobnih gelova 63
3.3.13. Određivanje kapaciteta bubrenja (KB) i indeksa topljivosti (IT) škrobova 63
3.3.14. Određivanje boje škroba kromametrom 64
3.3.15. Određivanje bistroće škrobnih pasti 65
3.3.16. Određivanje stabilnosti škrobne paste u ciklusima zamrzavanje - odmrzavanje 65
3.3.17. Određivanje udjela rezistentnog škroba metodom AOAC 2002.02. 66
3.3.18. Statistička obrada podataka 67
3. REZULTATI 68
4. RASPRAVA 118
5. ZAKLJUČCI 141
6. LITERATURA 145

Popis oznaka, kratica i simbola

A	Acetanhidrid
ADA	Smjesa adipinske kiseline i acetanhidrida
AOAC	Međunarodno udruženje službenih analitičkih kemičara
AZA	Smjesa azelainske kiseline i acetanhidrida
DMK	Diferencijalna motridbena kalorimetrija
DMSO	Dimetilsulfoksid
DP	Stupanj polimerizacije
DS	Stupanj supstitucije
E	Epiklorhidrin
FAO	Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda
FT-IR	Infracrvena spektroskopija s Furierovom transformacijom
G	Pšenica sorte *Golubica*
GA	Smjesa glutarne kiseline i acetanhidrida
IT	Indeks topljivosti
IUPAC	Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju
JA	Smjesa jantarne kiseline i acetanhidrida
KB	Kapacitet bubrenja
NMR	Nuklearna magnetska rezonancija
RDS	Brzo probavljivi škrob
RS	Rezistentni škrob
RVA	Rapid micro-visco-analyzer
S	Pšenica sorte *Srpanjka*
SDS	Sporo probavljivi škrob
SEM	Scanning Electrone Microscope
STMP	Natrijev trimetafosfat

1. UVOD

Pšenica je druga žitarica po uzgoju u svijetu, iza kukuruza, a ispred riže te najvažnija krušarica. Osim u proizvodnji brašna, kruha, tjestenine i ostalih proizvoda na bazi pšenice, pšenica je važna sirovina i u proizvodnji škroba. Udio škroba u zrnu pšenice kreće od 62 do 73 %, a danas je oko 33 % škroba u Europskoj uniji proizvedeno iz pšenice.

Škrob ima značajnu primjenu u prehrambenoj industriji gdje se koristi kao sredstvo za ugušćivanje, stabiliziranje koloidnih sustava, zadržavanje vlage, vezanje arome, kao sredstvo za želiranje, poboljšanje kakvoće proizvoda i dr. Nativni škrob zbog svojih svojstava kao što su retrogradacija, nestabilnost u kiselim uvjetima, a što rezultira sinerezom i nestabilnom teksturom, zatim malom stabilnošću pri visokim temperaturama te problemima vezanim za želatinizaciju ima relativno malu i ograničenu primjenu u prehrambenoj industriji. Različitim postupcima modifikacije primjenom kemijskih, fizikalnih i enzimskih postupaka ili njihovom kombinacijom moguće je dobiti veliki broj modificiranih škrobova svojstava bitno drugačijih od svojstava nativnih škrobova te time i različitih mogućnosti primjene kako u prehrambenoj, tako i u drugim industrijama. Kemijski postupci modifikacije škroba podrazumijevaju esterifikaciju (npr. acetanhidridom ili vinil-acetatom), eterifikaciju (npr. hidroksipropiliranje) i umrežavanje (npr. fosfor-oksikloridom, natrijtripolifosfatom, epiklorhidrinom) te kombinaciju navedenih postupaka.

Umrežavanje škroba epiklorhidrinom jedna je od najpoznatijih reakcija modificiranja polisaharida, a koristi se za dobivanje diškrobnih glicerola koji su, zahvaljujući stvaranju eterskih veza, izrazito stabilni pri niskim pH vrijednostima i na djelovanje mehaničkog naprezanja pri visokim temperaturama. U novije vrijeme sve se više istražuje modificiranje škroba dikarboksilnim kiselinama ili njihovim anhidridima, kao što su smjesa adipinske kiseline i acetanhidrida, anhidrid maleinske kiseline, te oksalna, malonska i jantarna kiselina. Rezultati istraživanja pokazuju da se navedenim modifikacijama postižu velike razlike u svojstvima modificiranih škrobova, što je posljedica reakcije škroba s dikarboksilnim kiselinama ili njihovim anhidridima pri čemu može doći do supstitucije i/ili do umrežavanja.

Cilj ovoga rada bio je ispitati utjecaj sorte na svojstva škroba: želatinizaciju, retrogradaciju, kapacitet bubrenja, indeks topljivosti, boju škroba, bistroću škrobne paste, reološka svojstva paste, udio rezistentnog škroba, stabilnost paste tijekom ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje i čvrstoću škrobnog gela. U tu svrhu škrob je izoliran iz dviju sorata pšenice: *Golubica* i *Srpanjka*.

Osim toga, provedena je i kemijska modifikacija škroba epiklorhidrinom u udjelima 0,1, 0,3 i 0,5 % (s. tv. škroba) te smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarna, glutarna, adipinska i azelainska kiselina) i acetanhidrida (omjer kiselina:anhidrid 1:30) u udjelima 4, 6 i 8 % (s. tv. škroba) te su ispitana fizikalna i kemijska svojstva nastalih modificiranih škrobova.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Pšenica

Prema pronađenim zapisima i nalazima utvrđeno je kako je pšenica poznata više od 10000 godina, kada je uzgajana u Iraku, Maloj Aziji, Kini i Egiptu. Prije 5000 godina uzgajana je u istočnom dijelu Europe, a nakon otkrića Amerike i Australije počeo je uzgoj pšenice na tim kontinentima (Pomeranz, 2000).

Pšenica (**Slika 1**) je druga žitarica po uzgoju u svijetu, iza kukuruza, a ispred riže te najvažnija krušarica. Prema podacima FAO, u 2007. godini proizvedeno je 725 milijuna metričkih tona pšenice (**Tablica 1**).

To je jednogodišnja biljka vrste *Triticum* koja se ubraja u porodicu *Poaceae*, a može biti ozima i jara. Na sorte se dijeli prema genomu, tako da razlikujemo diploidne, tetraploidne i heksaploidne sorte. Komercijalno najvažnije vrste pšenice su *Triticum aestivum* ili krušna pšenica (aloheksaploidna vrsta) i *Triticum durum*, jedina komercijalno važna tetraploidna vrsta, tzv. pšenica za proizvodnju tjestenine.



Slika 1 Pšenica

Tablica 1 Svjetska proizvodnja pšenice 2007. godine (FAO)

Proizvođač	Količina pšenice (milijuni tona)
Europska unija	124,7
Kina	104
Indija	69,3
SAD	49,3
Rusija	44,9
Kanada	25,2
Pakistan	21,7
Turska	17,5
Argentina	15,2
Iran	14,8
Ukupno u svijetu	725

Golubica je ozima, srednje rana visokorodna i visokokvalitetna krušna sorta pšenice prosječne visine stabljike 77 cm. Osim u Hrvatskoj, priznata je i u Republici Makedoniji. U **Tablici 2** prikazana su farinografska i ekstenzografska svojstva brašna pšenice sorte *Golubica*.

Tablica 2 Farinografska i ekstenzografska svojstva brašna pšenice sorte *Golubica* (Kovačević, 2009)

Farinogram		**Ekstenzogram**	
Upijanje vode	63,0 %	Vrijeme	135 min
Razvoj tijesta	5,5 min	Energija	85 cm^2
Stabilnost	2,6 min	Otpor	226 EJ
Rezistencija	8,1 min	Rastezljivost	183 mm
Stupanj omekšanja	36 FJ	Maksimalni otpor	360 EJ
Grupa kvalitete	A1	Omjer O/R	1,2

Srpanjka je najraširenija sorta ozime pšenice u Republici Hrvatskoj. To je rana, stabilna, visokorodna, visokokvalitetna sorta pšenice otporna na polijeganje i bolesti, visine stabljike oko 64 cm. U **Tablici 3** prikazana su njena farinografska i ekstenzografska svojstva.

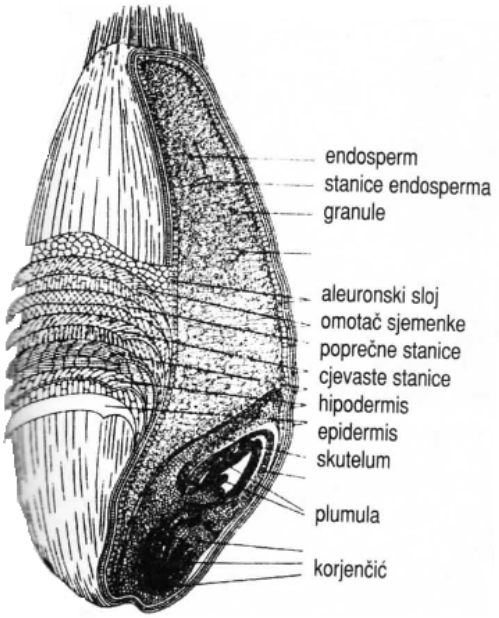
Tablica 3 Farinografska i ekstenzografska svojstva brašna pšenice sorte *Srpanjka* (Kovačević, 2009)

Farinogram		**Ekstenzogram**	
Upijanje vode	57,4 %	Vrijeme	135 min
Razvoj tijesta	1,9 min	Energija	88 cm^2
Stabilnost	0,4 min	Otpor	304 EJ
Rezistencija	2,3 min	Rastezljivost	145 mm
Stupanj omekšanja	28 FJ	Maksimalni otpor	478 EJ
Grupa kvalitete	A2	Omjer O/R	2,1

Građa i kemijski sastav zrna pšenice

Zrno (caryopsis) je plod pšenice, a može biti različite krupnoće (krupno, srednje i sitno), ovisno o vrsti i sorti. U klasu se obično razvije oko 30 – 40 zrna. Po dužini zrna nalazi se brazdica, a na vrhu bradica (**Slika 2**). Jasno se razlikuju trbušna, leđna i bočna strana. Trbušna strana je ona strana na kojoj se nalazi brazdica. Apsolutna masa zrna kreće se od 35 do 45 g, a hektolitarska u rasponu 60 – 84 kg/hL.

Zrno se sastoji od omotača, klice (najmanji, ali biološki najvažniji dio, jer se u njoj nalaze svi budući organi biljke), te endosperma (čini najveći dio (oko 86 %) ukupne mase zrna, a u njemu su smještene pričuve hranjivih tvari).



Slika 2 Uzdužni presjek zrna pšenice (Kljusurić, 2000)

Udio vode u zrnu pšenice kreće se u granicama 10 – 14 %. Sadržaj vode iznad 15 % je nepovoljan zbog otežanog skladištenja zrna. Mast u zrnu nalazi se u udjelu od 1,5 do 2 % i to najvećim dijelom u klici. Pri složenoj meljavi klica se odvaja pa se brašno može duže čuvati. Celuloza se nalazi u pšeničnoj ljusci s udjelom oko 2 – 3 % mase zrna. Sadržaj celuloze je veći kod pšenice koja je uzgajana u vlažnijim krajevima i kod sitnozrnih u odnosu na krupnozrne sorte (Kljusurić, 2000).

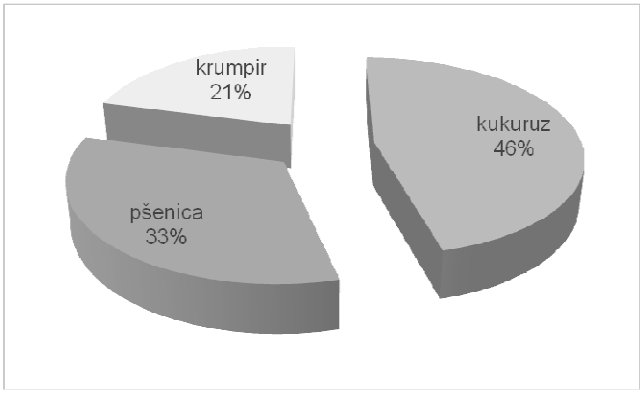
Ugljikohidrati čine 64 – 69 % zrna, smješteni su uglavnom u endospermu, a škrob im je glavni sastojak.

Sadržaj bjelančevina, najvažnijeg sastojka zrna pšenice ovisi o puno čimbenika, ponajprije vrsti i sorti, klimatskim uvjetima, tipu tla i njegovim kemijskim svojstvima (plodnost i agrotehnika). Ozima pšenica sadrži manje bjelančevina od jare, meka manje od tvrde, brašnava manje od staklaste. Pšenice iste sorte uzgajane na aridnim područjima sadrže više bjelančevina od onih u vlažnim (Kljusurić, 2000).

Mineralne tvari čine fosfor (50 %), kalij (20 – 30 %), kalcij, magnezij, silicij, željezo i ostali elementi. Vitamini (B1, B2, E, K, PP) se najviše nalaze u klici, a manje u drugim dijelovima zrna.

2.2. Izolacija škroba iz pšenice

Osim u proizvodnji brašna, kruha, tjestenine i sličnih proizvoda, pšenica je važna sirovina i u proizvodnji škroba. Oko 33 % škroba proizvedenog u Europskoj uniji čini škrob pšenice (**Slika 3**).



Slika 3 Sirovine u proizvodnji škroba u Europskoj uniji

Kako tijekom izolacije škroba iz zrna pšenice može doći do oštećenja škroba i glutena, izoliranje se najčešće vrši iz brašna kao polazne sirovine. Brašno za komercijalnu proizvodnju škroba iz pšenice mora zadovoljavati sljedeće uvjete: imati visoki udio proteina (>11 %), minimalno oštećenje škroba, nizak udio pepela (mali udio mekinja) te ne sadržavati α-amilazu (visoki broj padanja) (BeMiller i Whistler, 2009). U većini industrijskih procesa škrob se od glutena odvaja postupcima centrifugiranja, dekantiranja ili u hidrociklonima na osnovi različite veličine čestica škroba i glutena (Van der Borght i sur., 2005).

Prema nekim autorima, škrob i gluten se iz pšenice mogu izdvajati na 15 načina (15 procesa), od kojih se tek nekoliko intenzivno primjenjuje u industriji. Van der Borght i sur. (2005) dali su pregled metoda izolacije škroba iz pšenice i pšeničnog brašna.

2.2.1. Izolacija škroba iz brašna

Martinov proces

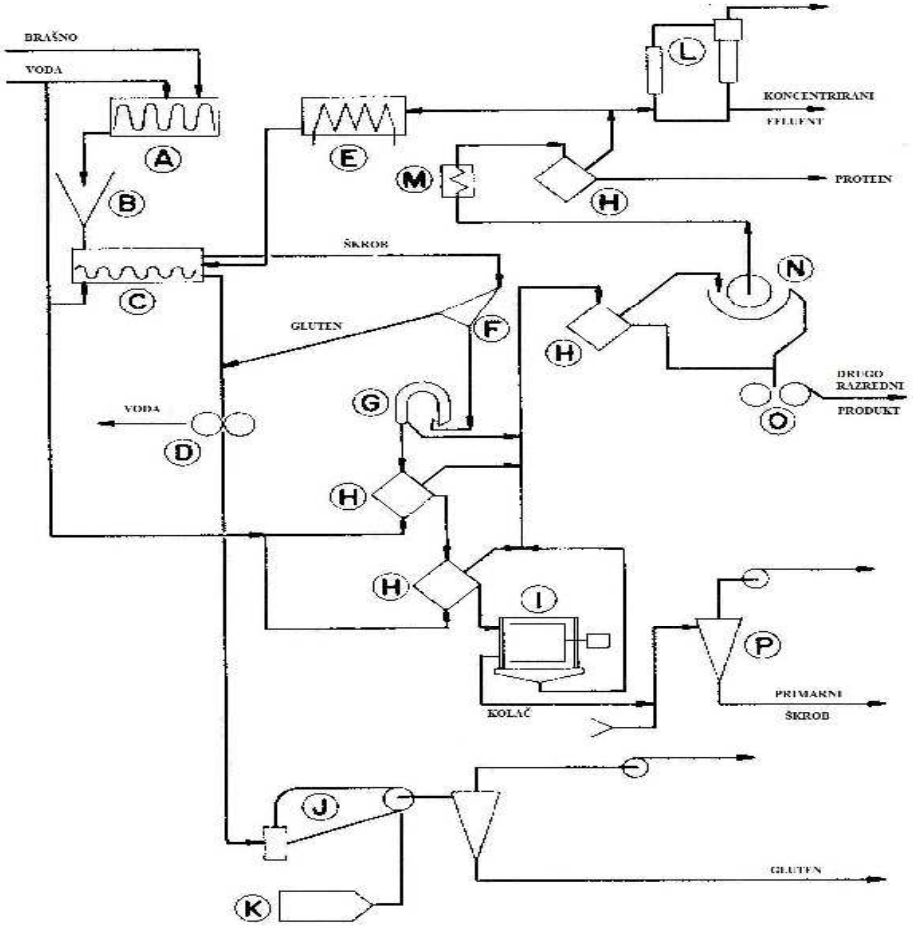
Martinov proces jedan je od najstarijih procesa proizvodnje škroba iz pšenice. Sastoji se od pet osnovnih koraka: miješanje brašna i vode te formiranje tijesta, ispiranje škroba, sušenje glutena, pročišćavanje škroba i sušenje škroba (**Slika 4**).

Brašno i voda miješaju se u omjeru 10:6 – 7 ili 2:1, čime se dobiva „razvijeno“ tijesto s mrežom glutena. Utrošak vode za pripremu zamjesa ovisi o tipu pšenice. Tvrda pšenica formira čvrsto elastično tijesto pa zahtijeva veći utrošak vode, za razliku od meke pšenice, koja daje tijesto što se mrvi i lako kida. Voda koja se koristi za pripravu zamjesa (temperatura

vode 20 °C) mora sadržavati mineralne soli jer meka voda uzrokuje stvaranje sluzavog glutena.

Dobiveno tijesto ispire se vodom, čime se vrši razdvajanje čistog glutena i škrobnog mlijeka. Utrošak vode za ispiranje je vrlo velik – na jednu jedinicu škroba troši se 10 – 15 dijelova vode. Za olakšavanje razdvajanja mlijeka od glutena koriste se rotirajući bubnjevi, korita s dvostrukim pužem i miješalice različitih izvedbi.

Škrobno mlijeko prelazi preko vibracijskih sita da bi se uklonio eventualno zaostali gluten i mekinje, a zatim odlazi na pročišćavanje i koncentriranje, te razdvajanje A- i B-granula i sušenje. Izolirani škrob sadrži oko 0,3 % proteina i 10 – 12 % vode (Knight i Olson, 1984).



Slika 4 Martinov proces: A) miješalica, B) lijevak za punjenje, C) ekstraktor, D) valjci, E) pločasti izmjenjivač topline, F) sito, G) rešeto, H) centrifuga, I) kružna centrifuga, J) sušnica, K) grijač, L) uparivač, M) cijevni izmjenjivač topline, N) filter, O) valjci, P) sušnica (Knight i Olson, 1984)

Postupak rijetkog tijesta (dough-batter)

Pri izdvajanju škroba ovom metodom najprije se pripravlja čvrsti zamjes tijesta pa se glutenski matriks dispergira miješanjem s vodom. Nastalo rijetko tijesto propušta se kroz sita ili se centrifugira. Prinos škroba je 69 – 79 % (Van Der Borght i sur., 2005; Knight i Olson, 1984).

Postupak žitkog tijesta

Miješanjem približno jednake količine brašna i vode pripravlja se meki zamjes koji se mehanički razbija dodatkom vode, čime nastaje suspendirani gruš glutena koji sadrži male količine rezidua škroba. Primjenjuju se temperature 40 – 55 °C. Na sitima se odvaja gluten, a škrobno mlijeko odlazi na centrifugiranje ili razdvajanje *na stolovima* pa na sušenje. Prinos sirovog škroba je 68 – 77 % u odnosu na brašno (Van Der Borght i sur., 2005).

Fesca proces ili postupak izravnog centrifugiranja

Pšenično brašno brzo se miješa s vodom kako bi se dobilo vrlo rijetko tijesto. Aglomeracija glutena sprječava se miješanjem i primjenom niže temperature (30 °C) u odnosu na postupak žitkog tijesta. Škrob se od glutena odvaja centrifugiranjem kojim se dobiju tri sloja: primarni škrob, sekundarni škrob, te polubistri supernatant koji sadržava proteine i tvari topljive u vodi. U odnosu na ukupni škrob u brašnu, prinos škroba je 63 – 87 % (Van Der Borght i sur., 2005; Knight i Olson, 1984).

Raisio proces

Ovaj proces zapravo je modifikacija Fesca procesa. Miješanjem brašna i vode dobiva se suspenzija u kojoj ne dolazi do aglomeracije glutena. Kontinuiranim centrifugiranjem suspenzije izdvaja se primarni škrob, a daljnjim pročišćavanjem supernatanta izdvaja se gluten (Van Der Borght i sur., 2005).

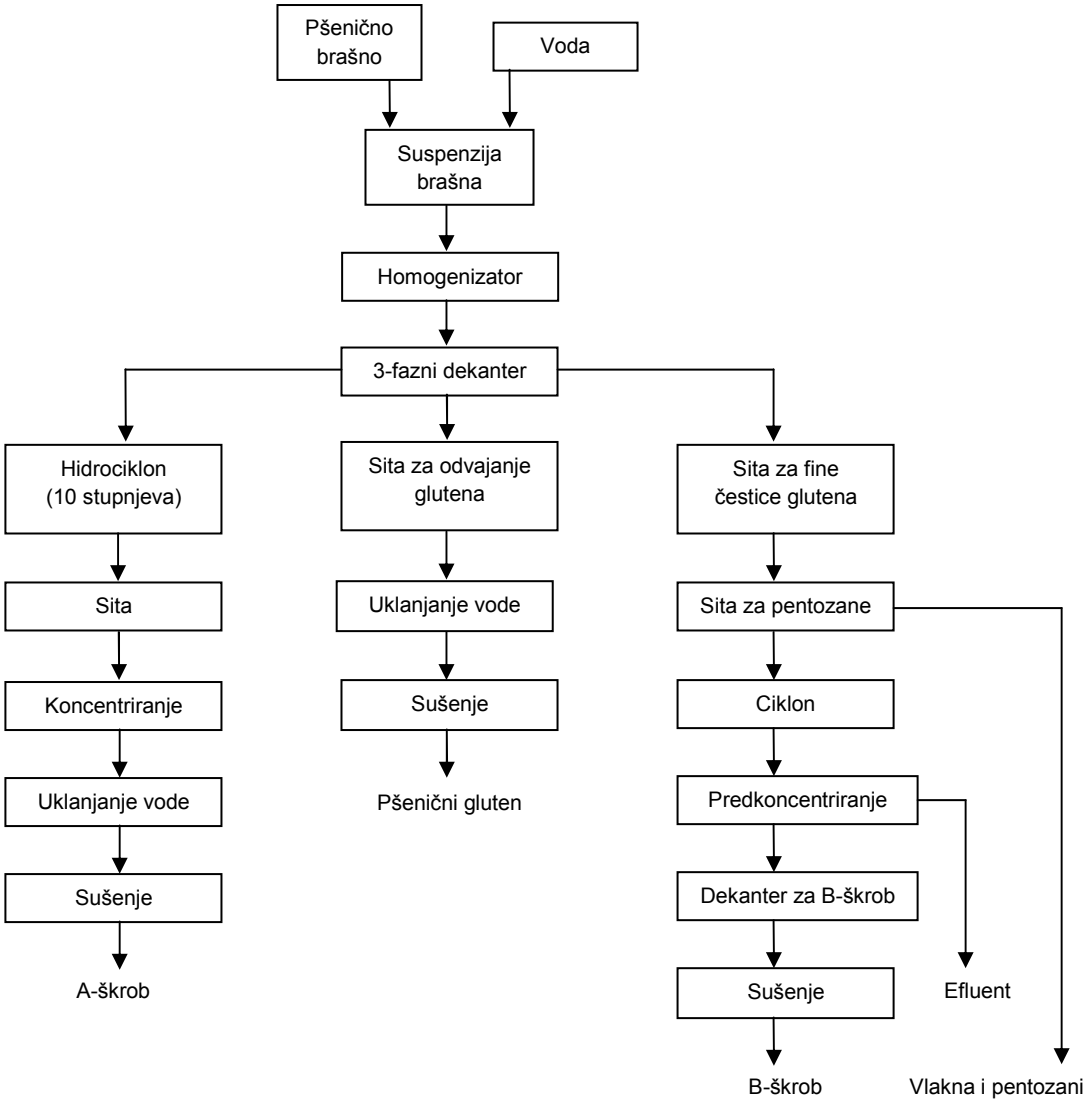
Alkalni postupak

Brašno se suspendira u 0,03M NaOH ili amonijaku. Suspenzija se centrifugira ili odvodi na razdvajanje na stolovima. Oko 70 – 80 % škroba izdvaja se u obliku primarnog škroba (Van Der Borght i sur., 2005).

Visokotlačni proces (HD; High-pressure disintegration process & Tricanter process)

Pšenično brašno miješa se s vodom (u omjeru 1:0,85 – 0,95) pri 35 °C u kontinuiranim miješalicama da se dobije glatko, rijetko tijesto. Trakastim nosačima tijesto se zatim prenosi u visokotlačnu pumpu (tlakovi do 100 bara), kojom se tjera kroz

homogenizacijski ventil. Visoke sile, koje se stvaraju uslijed smicanja, oslobađaju škrob iz hidratiziranog endosperma te uzrokuju aglomeraciju glutena u mikrometarske čestice.



Slika 5 Dijagram toka proizvodnje pšeničnog škroba visokotlačnim (HD) postupkom (BeMiller i Whistler, 2009)

Tijesto se zatim razrjeđuje s vodom na oko 30 % suhe tvari pa se odvodi u centrifugalni dekanter za odjeljivanje u tri toka u kojem se brzo: a) odvaja, koncentrira i izdvaja A-škrob; b) B-škrob i gluten se odvajaju u tok srednje gustoće; c) viskozni pentozani i druge topljive tvari odvajaju se u gornjem toku najmanje gustoće (**Slika 5**). Uklanjanjem topljivih pentozana, poglavito arabinoksilana, poboljšava se kasnija aglomeracija glutena u toku srednje gustoće.

Tok srednje gustoće pumpom se odvodi u perforirane bubnjeve u kojima se ispire B-škrob. Fine čestice glutena zaostale u B-škrobu i pentozani izdvajaju se na vibrirajućim sitima.

Frakcija A-škroba se nakon centrifugalnog dekantera prosijava te se najčešće rafinira u hidrociklonima ili separatorima i dekanterima. Pročišćavanje i koncentriranje A-škroba provodi se u višestepenim hidrociklonima. Osnovne prednosti HD procesa su smanjenje utroška vode i povećanje prinosa A-škroba za 10 %. Osim toga, na proces ne utječe kvaliteta brašna, kao što je slučaj u drugim procesima, a primjenjiv je i za izolaciju škroba iz krumpira, graha, graška i kukuruza (BeMiller i Whistler, 2009).

2.2.2. Izolacija škroba iz zrna

Halle fermentacija

Pšenica se natapa u vodi pri 25 °C tijekom tjedan dana kako bi se omekšalo zrno. Zrno se melje, a kaša fermentira pri čemu se proteini otapaju ili cijepaju. Škrob se ispire u rotirajućim bubnjevima, centrifugira, pročišćava i suši (Van Der Borght i sur., 2005).

Alzaški postupak

Provodi se nefermentativno močenje zrna 1 – 2 dana pri 30 – 35 °C, pšenica se grubo melje pa se ispire u perforiranim žljebovima s rotirajućim polugama. Škrobno mlijeko se centrifugira, a prinos škroba je 45 – 70 % (Van Der Borght i sur., 2005).

Longford-Slotter proces

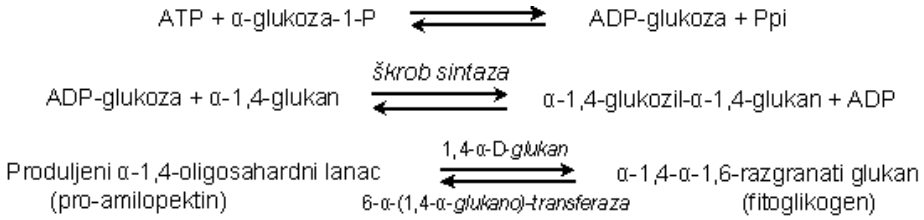
Ovaj proces je modifikacija Alzaškog procesa te jako sliči industrijskoj proizvodnji škroba iz kukuruza. Pšenica se moči 24 h pri 37 °C u vodi koja sadrži 0,3 – 0,5 % sumporovog dioksida. Sniženi pH povećava topljivost glutena i inhibira rast mikroorganizama, a SO_2 oslabljuje matriks škrob/gluten. Slijedi mljevenje i prosijavanje kaše, te odvajanje škroba od glutena na stolovima. Prinos škroba je 55 – 60 % (Van Der Borght i sur., 2005).

Far-Mar-Co proces

Zrno pšenice temperira se u vodi i usitnjava, te miješa s vodom u jako razrijeđenu homogenu kašu u kojoj se postiže maksimalno dispergiranje škroba i glutena, a razdvajanje frakcija vrši se centrifugiranjem (Van Der Borght i sur., 2005).

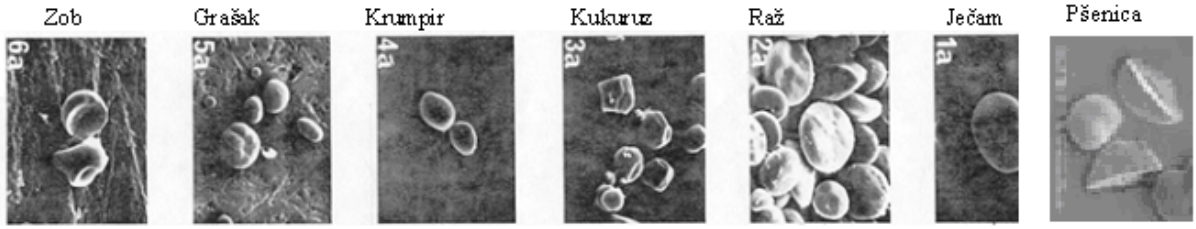
2.3. Škrob

Škrob je polisaharid opće formule $(C_6H_{10}O_5)_n$. Gotovo sve zelene biljke nagomilavaju ga u različitim tkivima i organima (sjemenkama, plodovima, gomoljima) s osnovnom funkcijom skladištenja glukoze. Asimilacijski (ili primarni) škrob nastaje fotosintezom biljaka (u kloroplastima) tijekom osvjetljenja (**Slika 6**). Primarni proizvod fotosinteze je glukoza, koja se kondenzira u netopljivi škrob da se osmotski tlak u stanici ne bi povećao. Preko noći škrob se postepeno razgrađuje i transportira u druga tkiva te se u amiloplastima izgrađuju zrnca rezervnog škroba. Tijekom klijanja sjemenke, odnosno gomolja, te tijekom zrenja voća dolazi do razgradnje ovoga škroba, a nastali produkti koriste se kao izvor energije i ugljika. Taj škrob je i glavni izvor ugljikohidrata i energije u ljudskoj prehrani. Gomolj krumpira može sadržavati 30 %, a pšenična zrna do 70 % škroba (Eliasson, 2004).



Slika 6 Sinteza škroba u biljkama i algama (Eliasson, 2004)

Oblik i veličina škrobnih granula karakteristični su za pojedinu biljnu vrstu pa se prema njihovom obliku može odrediti iz koje vrste biljaka potječe škrob (**Slika 7**). Granule škrobova žitarica uglavnom su mali poliedri, dok je u krumpiru škrob u obliku velikih elipsoidnih granula. Granule škroba sastoje se od dva polimera: amiloze i amilopektina (Eliasson, 2004; BeMiller i Whistler, 2009).



Slika 7 Škrobovi različitih biljaka promatrani pomoću „scanning“ elektronskog mikroskopa (landfood.ubc.ca)

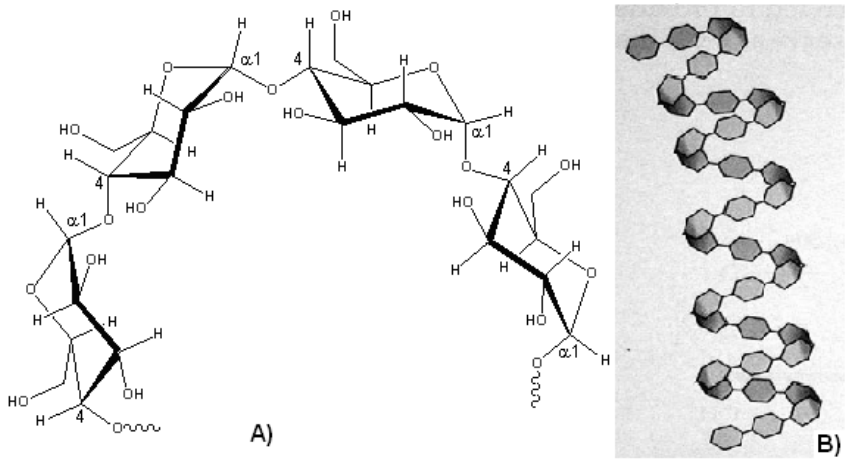
Amiloza

Amiloza je pretežno ravnolančana molekula u kojoj su jedinice glukoze vezane α-(1→4)-glikozidnom vezom u ravni lanac (**Slika 8**). Većina škrobova, međutim, sadrži i vrlo mali udio slabo razgranatih amiloznih lanaca u kojima su jedinice glukoze na mjestima grananja vezane α-(1→6)-glikozidnom vezom (Eliasson, 2004). Razgranate molekule veće su od ravnolančanih i sadrže 5 – 20 bočnih lanaca po molekuli. Molekulska masa amiloze kreće se 50 – 500×10^6 (BeMiller i Whistler, 2009), a stupanj polimerizacije iznosi 0,51 – 6,34×10^3 (Eliasson, 2004).

Aksijalno-ekvatorijalni smještaj (1→4)-veza u amiloznom lancu ima za posljedicu uvijanje lanca u obliku desne uzvojnice (BeMiller i Whistler, 1996). Unutrašnjost uzvojnice, koja je lipofilna, sadrži samo vodikove atome, a hidroksilne skupine smještene su na vanjskom dijelu lanca.

Istraživanjima pomoću difrakcije x-zraka utvrđena je prisutnost amiloze tipa A i tipa B. Strukturni elementi tipa B su dvostruke uzvojnice, antiparalelno *pakirane* u heksagonalne jedinice. Centralni kanal je okružen sa 6 dvostrukih uzvojnica i ispunjen vodom (36 mol H_2O/ gradivna jedinica). Tip A je vrlo sličan tipu B, a razlika je u tome što je centralni kanal okružen sa paralelnom dvostrukom uzvojnicom pa mu je struktura kompaktnija. U tipu A nalazi se 8 mol H_2O po jedinici između dvostrukih uzvojnica (Sajilata i sur., 2006).

Zahvaljujući hidrofobnoj unutrašnjosti uzvojnice, amiloza s jodom tvori kompleks plave boje koji se koristi za dokazivanje škroba u namirnicama (BeMiller i Whistler, 1996).



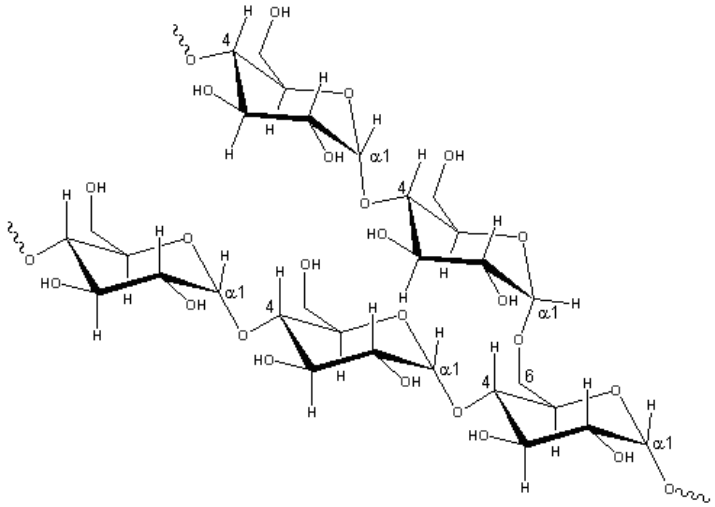
Slika 8 Struktura molekule (A) i oblik uzvojnice (B) amiloze

Otopljene molekule amiloze pri nižim koncentracijama teže ka kristalizaciji (retrogradaciji), dok pri višim koncentracijama formiraju gel. Retrogradacija amiloze ovisi i o stupnju polimerizacije pa tako molekule stupnja polimerizacije oko 80 imaju najvišu tendenciju retrogradacije, dok su molekule nižeg i višeg stupnja polimerizacije stabilnije.

Stupanj polimerizacije slično utječe i na topljivost molekula. Molekule stupnja polimerizacije od 80 do 100 su vrlo teško topljive, a topljivost se povećava u smjeru povećanja i sniženja stupnja polimerizacije (Walter, 1998).

Amilopektin

Amilopektin je razgranata molekula u kojoj su glukozne jedinice vezane α-(1→4)-vezom u ravni lanac te α-(1→6)-vezom na mjestima grananja (**Slika 9**). Stupanj polimerizacije amilopektina je oko 2 milijuna, a molekulska masa 10^7 - 10^9. Molekula amilopektina sastoji se od lanaca različite duljine: kratki lanci sa stupnjem polimerizacije (DP) 12 – 20, dugi lanci sa DP 30 – 45 te vrlo dugi lanci sa DP > 60 (BeMiller i Whistler, 2009).



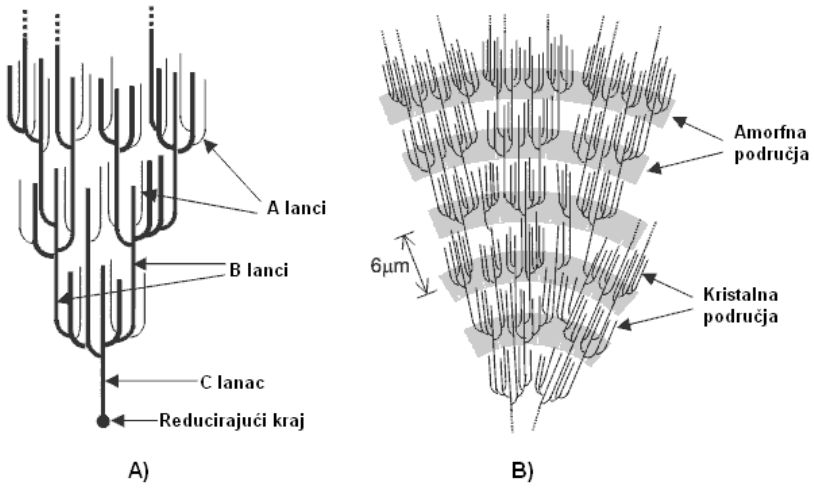
Slika 9 Struktura molekule amilopektina

Osim toga, lanci amilopektina dijele se i na A-, B- i C-lance. *A-lanci* su ravnolančani dio u kojem su molekule glukoze povezane α-(1→4) vezama; kraći su (DP 12 -16) te mogu tvoriti dvostruku uzvojnicu, a poredani su u *grozdove*. *B-lanci* na sebi imaju jedan ili više A-lanaca, a molekule glukoze povezane su α-(1→4) i α-(1→6) vezama. Stupanj polimerizacije ovih lanaca kreće se od 40 do 110 (Oates, 1997). *C-lanac* je jedini lanac u molekuli amilopektina koji sadrži reducirajući kraj molekule.

U novije vrijeme utvrđeno je da se bočni ogranci amilopektina uvijaju prema glavnom lancu, čineći tako gustu trodimenzionalnu strukturu u kojoj su lanci paralelno poredani (BeMiller i Whistler, 2009; Biliaderis, 1998). Na mjestima grananja postoje konformacije glikozidnih veza koje omogućuju organizaciju molekula u kojoj se dvostruke uzvojnice mogu povezati preko α-(1→6)-veza, uz minimalna naprezanja. Ovaj model, po kojem amilopektin ima sposobnost stvaranja dvostrukih uzvojnica, uklapa se i u model „grozda“ koji je ranije opisao Hizukuri, a prema kojemu lanci amilopektina postoje kao jednostruki grozdovi ili služe

za međusobno povezivanje dva ili više grozdova (**Slika 10**) (BeMiller i Whistler, 2009; Biliaderis, 1998).

Amilopektin je djelomično kristaličan polimer u kojemu se izmjenjuju kristalna područja građena od dvostrukih uzvojnica i amorfne zone gusto zbijenih razgranatih lanaca i dugolančanih segmentata koji povezuju „grozdove“ (**Slika 10**) (Biliaderis, 1998).



Slika 10 Organizacija lanaca u model „grozda“ (A) i raspodjela amorfnih i kristalnih područja u molekuli amilopektina (B)

Zbog svoje razgranate strukture amilopektin ne može formirati stabilne komplekse s jodom, a zbog kratkih bočnih lanaca veže samo manju količinu joda (<0,6 %) u kompleks crveno-smeđe boje (λ_{max}≈530 – 540) (BeMiller i Whistler, 1996).

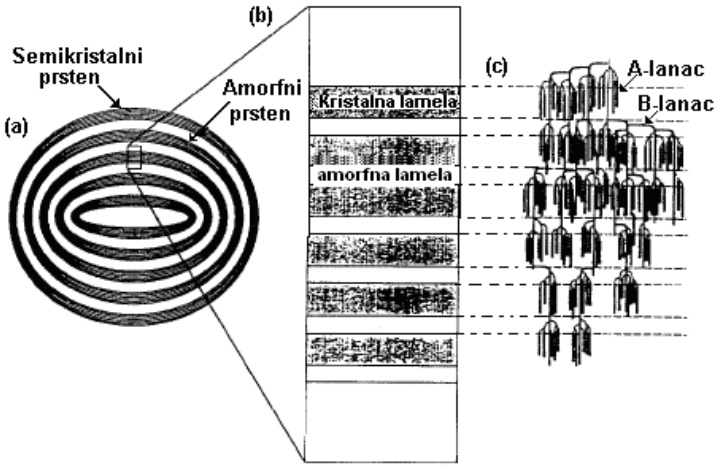
Škrobna granula

Amiloza i amilopektin radijalno se povezuju u škrobnu granulu čiji veličina i oblik ovise o botaničkom podrijetlu škroba. Izmjenjivanjem amorfnih i kristalnih područja u granuli nastaju tzv. prsteni rasta (**Slika 11**), a radijalna organizacija granule rezultira optičkom aktivnošću škroba, tzv. birefrigencijom.

Osim škroba, u škrobnoj granuli nalaze se i neškrobne komponente, od kojih su najznačajniji proteini, lipidi i fosfor.

Lipidi su najvažniji neškrobni sastojci škrobne granule. Udio lipida u škrobnoj granuli najčešće se kreće od 5 do 10 g/kg, a glavni sastojci su slobodne masne kiseline i fosfolipidi (u žitaricama prvenstveno lizofosfolipidi), povezani s amilozom. Od masnih kiselina, u škrobnoj granuli su najzastupljenije palmitinska i linolenska. Najveći dio lipida nalazi se vezan na površini granule. Kompleksi lipid:škrob smanjuju kontakt između enzima i supstrata i tako utječu na probavljivost škroba. Osim toga, količina kompleksa lipid:škrob u negativnoj je vezi sa stupnjem bubrenja, vjerojatno zbog povećanja hidrofobnosti. To može imati dodatni utjecaj na probavljivost jer je voda neophodna za enzimsku razgradnju. Male

škrobne granule imaju viši udio lipida od velikih, što može biti uzrokovano većom ukupnom vanjskom površinom granula (većina lipida veže se na površini granule) (Svihus, Uhlen i Harstad, 2005).



Slika 11 Shematski prikaz strukture škrobne granule; (a), koncentrični prstenovi koji izgrađuju škrobnu granulu, svaki prsten sadrži kristalne i amorfne lamele; (b), amorfne i kristalne lamele; (c), položaj lanaca molekule amilopektina u granuli

Škrobne granule sadrže najviše 3 g/kg proteina. Udio proteina raste prema površini škrobne granule. Na površini granule prevladavaju proteini veličine 5 – 60 kDa, dok su u unutrašnjosti uglavnom proteini veličine 60 – 150 kDa. Na površini granula škroba pšenice utvrđena je prisutnost proteina friabilina koji utječe na čvrstoću endosperma, što pak utječe na mljevenje i probavljivost škroba (Svihus, Uhlen i Harstad, 2005).

Mineralne tvari su slabo zastupljene u škrobu žitarica, dok su u većim udjelima prisutne u škrobu krumpira (Svihus, Uhlen i Harstad, 2005).

Pšenični škrob

Škrob pšenice čine dva tipa granula: A-tip, koje su u obliku diska ili leće, promjera većeg od 10 μm i B-granule, sfernog ili poligonalnog oblika, promjera manjeg od 10 μm. A-granule formiraju se u fazi stvaranja endosperma, dok se B-granule formiraju kasnije, u fazi stvaranja ljuske. Tijekom *nalijevanja* zrna pšenice može doći i do stvaranja C-granula, manjih od 5 μm (Park, Wilson i Seabourn, 2009). Unatoč brojnim istraživanjima, priroda mikrostruktura A i B-granula u pšenici još nije u potpunosti razjašnjena.

A-granule razvijaju se asimetrično te imaju karakterističnu brazdu u ekvatorijalnom području. Njihov broj i veličina povećavaju se u ranim fazama razvoja, tijekom diobe stanica endosperma. Nastaju iz početne jezgre sfernog oblika stvaranjem tankog sloja u ekvatorijalnom području. Sloj raste iznad i ispod ekvatorijalnog područja sve dok granula ne

poprimi oblik leće ili diska. Nakon diobe stanica broj A-granula se ne mijenja, ali im raste veličina u fazi *nalijevanja* zrna (BeMiller i Whistler, 2009).

B-granule se razvijaju simetrično, a broj im raste sve do faze zrelosti zrna kada čine oko 90 % ukupnog broja granula, ali samo 20 – 35 % ukupnog volumena (BeMiller i Whistler, 2009).

Promatrana SEM-om, površina neoštećene zrele granule pšeničnog škroba izgleda glatko. Međutim, pore i kanali postoje, naročito duž ekvatorijalne osi A-granula. B-granule nemaju ekvatorijalnu brazdu, no u unutrašnjosti sadrže šupljine koje „izlaze“ na površinu (BeMiller i Whistler, 2009).

Kim i Huber (2008) ispitivali su tzv. „kanale“ u granulama škroba tipa A i B meke pšenice. Rezultati su pokazali da i u A i u B granulama voštanog i normalnog pšeničnog škroba postoje kanalne strukture. Kanali u granulama meke pšenice najčešće su ispunjeni proteinima koji se, barem djelomično, uklanjaju proteolitičkim enzimima. U granulama tipa A utvrđeno je prisustvo velikih kanala, i to prvenstveno u području ekvatorijalne brazde, te manjih kanala na drugim površinama granule.

Suprotno tome, B-granule sadržavale su slabije izražene kanale nalik šupljinama koji su bili blokirani ili ispunjeni proteinima. Pretpostavlja se da u oba tipa granula kanali služe za prijenos kemijskih spojeva u unutrašnjost granule. Međutim, hidratacijom i uklanjanjem proteina vezanih uz kanale djelomično je pospješen taj efekt. Stoga se može zaključiti da kanali olakšavaju protok kemijskih sredstava u unutrašnjost granule te utječu na putove kemijskih reakcija tijekom modifikacije. Kako su kanali dovoljno veliki da mogu primiti i enzime, mogu imati veliku važnost u razumijevanju i predviđanju hidrolize škroba.

Na omjer granula tipa A i B utječu vrsta i sorta pšenice te uvjeti uzgoja.

Li WY i sur. (2008) uspoređivali su veličinu škrobnih granula mekih i tvrdih pšenica uzgajanih u Kini. Zaključili su da tvrda pšenica u usporedbi s mekom pšenicom sadrži više granula B tipa (<9,9 μm), a manje A-granula (veličine 22,8 – 42,8 μm).

Dai i sur. (2008) ispitivali su utjecaj prirodno dostupne vode i umjetnog navodnjavanja na veličinu granula škroba pšenice. U odnosu na umjetno navodnjavano tlo, tlo pod kišom utjecalo je na distribuciju škrobnih granula u zrnu obje ispitivane sorte pšenice (Lumai 21 i De-99-3) povećanjem volumena i površine granula <9,8 μm i smanjenjem istih kod granula >18,8 μm. Nedostatak vode u tlu uzrokovao je smanjenje udjela amiloze i škroba u žitu, te povećanje udjela proteina, maksimalnu i završnu viskoznost.

Osim po veličini i obliku, A i B tip granula razlikuju se i po kemijskom sastavu (udio amiloze, lipida i fosfora), molekulskoj strukturi, funkcionalnim svojstvima, svojstvima želatinizacije i kvaliteti tijekom pečenja, reaktivnosti prema sredstvima za modifikaciju itd., pa stoga imaju i različite primjene (Kim i Huber, 2008).

Općenito se može reći da A granule sadrže nešto veće količine amiloze i lipida (BeMiller i Whistler, 2009). Dai i sur. (2008) utvrdili su da je udio amiloze i škroba u zrnu u negativnoj korelaciji s volumenom granula <9,8 μm, a udio proteina u zrnu u snažnoj pozitivnoj korelaciji s njim. Stoga se može reći da male škrobne granule sadrže nizak udio amiloze i škroba a visok udio proteina, dok je u velikim škrobnim granulama udio amiloze i škroba visok.

Yoo i Jane (2002) istraživali su strukturna i fizikalna svojstva škrobova izoliranih iz *voštane* pšenice, pšenice sa smanjenim udjelom amiloze (Kanto 107) i ozime tvrde pšenice (sorte Centura i komercijalni škrob). Udio amiloze u navedenim škrobovima bio je <0,2, 21,5, 26,2 i 26,6 %. Amilopektin *voštane* pšenice imao je najveću molekulsku masu te kod njega nije utvrđeno prisustvo jako dugih bočnih ogranaka. Utvrđeno je da je molekulska masa amilopektina u negativnoj korelaciji s udjelom amiloze, dok je udio jako dugih bočnih ogranaka amilopektina s njom u pozitivnoj korelaciji. Struktura *voštanog* amilopektina puno je kompaktnija od strukture drugih amilopektina. Početna temperatura želatinizacije iznosila je 55,7, 57,5, 55,6 i 54,9 °C redom za: škrob voštane pšenice, škrob sorti Kanto107, Centura i komercijalni pšenični škrob, dok je entalpija taljenja iznosila 13,6, 11,8, 10,7 i 10,6 J/g. Razlike u temperaturi želatinizacije i maksimalnoj viskoznosti bile su izraženije između voštanih i normalnih škrobova pšenice nego kod odgovarajućih škrobova kukuruza. Nepostojanje amiloze u voštanom škrobu nije utjecalo na kristalni polimorfizam, veličinu granula, morfologiju i temperaturu želatinizacije, ali je značajno utjecalo na stupanj kristaliničnosti.

Van Hung, Maeda i Morita (2006) opisali su svojstva, funkcionalnost i primjenu voštanih i visokoamiloznih škrobova i brašna pšenice. Utvrdili su da je struktura amilopektina voštane pšenice slična strukturi nevoštanih sorti. Nije utvrđena značajna razlika u duljini lanaca i stupnju polimerizacije amilopektina, što ukazuje da voštani karakter ima jako mali utjecaj na duljinu lanaca molekule amilopektina. Difrakcija X-zraka pokazala je i da voštani škrob sadrži A-tip granula i ima viši stupanj kristaliničnosti od nevoštanih škrobova zbog višeg udjela amilopektina.

U škrobu visokoamilozne pšenice, međutim, struktura amilopektina znatno je promijenjena. Udio kratkih lanaca (DP 6 – 10) u molekuli amilopektina se povećava, a udio lanaca s DP 11 – 25 je umanjen.

Park, Wilson i Seabourn (2009) ispitali su distribuciju veličine škrobnih granula tvrdih ozimih i jarih sorti pšenice te njihov utjecaj na mijesenje tijesta i kakvoću kruha. B-granule zauzimale su veći volumen kod jarih pšenica (prosječno 47,3 %) u odnosu na ozime sorte pšenice (39,9 %). Udio proteina bio je u obrnuto proporcionalnoj vezi s promjerom i volumenom B-granule. Veličina granula škroba ispitanih u radu utjecala je na fizikalno-kemijska svojstva brašna i pšenice te kakvoću kruha.

Vezano za različita svojstva granula tipa A i B, različita je i njihova primjena. Tako se B-granule između ostalog koriste kao zamjene za masti u proizvodima sa smanjenom kalorijskom vrijednosti, dok A-granule, na primjer, imaju primjenu u proizvodnji biorazgradive plastike (Xie i sur., 2008).

Pšenični škrob posjeduje jedinstvena svojstva koja su važna za njegovu primjenu u prehrambenoj industriji. Prvenstveno je to njegova izrazito bijela boja koja ukazuje na to da ne sadrži pigmente. Osim toga, sadrži malo proteina, pepela i vlakana i ne sadrži sulfite.

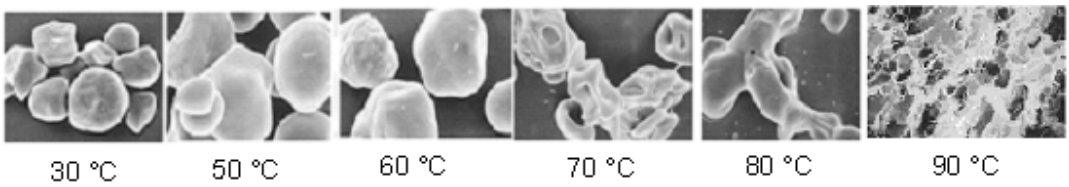
Udio proteina u pšeničnom škrobu kreće se od 0,06 – 0,22 %. Proteine u škrobu pšenice čine prvenstveno škrob sintaza vezana na granulu i friabilin koji se nalazi na površini granule.

Lizofosfolipidi zarobljeni u granuli pšeničnog škroba sadrže dušik u skupinama kolina i etanolamina, pa utječu na detekciju udjela proteina jer povećavaju količinu dušika koji se detektira metodama za njihovo određivanje. Dobro pročišćeni škrob meke pšenice sadrži 0,014 – 0,019 % dušika porijeklom iz lizofosfolipida, 0,0034 – 0,0086 % dušika friabilina i 0,013 – 0,014 % dušika škrob sintaze vezane na granulu.

Pšenični škrob sadrži oko 1 % lipida koji su uglavnom prisutni u obliku lizofosfolipida.

2.4. Svojstva škroba

Neoštećene škrobne granule netopljive su u hladnoj vodi, no reverzibilno upijaju male količine vode. Zagrijavamo li škrobnu suspenziju u vodi, doći će do želatinizacije i otapanja škrobnih granula (**Slika 12**).



Slika 12 Želatinizacija škroba praćena „scanning“ elektronskim mikroskopom (povećanje 2000 puta) (Perry i Donald, 2002)

2.4.1. Želatinizacija

Želatinizacija je proces kroz koji prolaze škrobne granule kada se podvrgnu povišenoj temperaturi u prisustvu vode, iako se isti rezultat može postići i pod utjecajem tlaka, smicanja, drugih otapala i mljevenja (Sopade i sur., 2004). Tijekom ovog procesa dolazi do narušavanja strukture unutar granule, njenog ireverzibilnog otapanja, gubitka optičke aktivnosti i kristalne strukture te povećanja probavljivosti škroba. Proces želatinizacije odvija

se u određenom temperaturnom rasponu, ovisnom o vrsti škroba i utjecaju različitih faktora. Dok pšenični i tapiokin škrob počinju želatinizirati oko 52 °C, kukuruzni škrob želatinizira tek oko 62 °C. Temperatura želatinizacije povisit će se dodatkom šećera i drugih poliola (Perry i Donald, 2002).

Iako procesi koji se odvijaju tijekom želatinizacije nisu u potpunosti razjašnjeni, općenito se prihvaća sljedeće objašnjenje: voda najprije prodire u amorfna područja granule, koja imaju staklastu strukturu, pri čemu dolazi do bubrenja granule. Kada se granule zagrijavaju u dovoljnoj količini vode (najmanje 60 %), pri dostizanju specifične temperature (t_g, temperatura staklastog prijelaza) dolazi do promjene faze iz staklaste u „gumenu“. Energija koja se apsorbira tijekom spomenutog prijelaza ne može se registrirati diferencijalnom motridbenom kalorimetrijom (DMK) jer odmah nakon staklastog prijelaza dolazi do otapanja kristalnih dijelova amilopektina, povezanih kovalentnom vezom s amorfnim dijelovima. Budući da je entalpija staklastog prijelaza znatno niža od početne entalpije otapanja kristala, ne može se evidentirati. Nadalje dolazi do još većeg bubrenja granule i izlaženja molekula amiloze i amilopektina iz granule u otopinu. Miješanjem se pospješuje „razbijanje“ granule i otapanje molekula amilopektina i amiloze. Što se otapa veći broj molekula, to se više povećava viskoznost sustava.

Ratnayake i Jackson (2007) ispitali su promjene koje se odvijaju tijekom želatinizacije sedam vrsta škrobova: kukuruzni, visokoamilozni kukuruzni, voštani kukuruzni, pšenični, rižin, tapiokin i krumpirov. Uočili su da tijekom zagrijavanja dolazi do strukturnih promjena u granulama, prije nego nastanu vidljive morfološke promjene koje se odvijaju tijekom želatinizacije. Priroda ovih strukturnih promjena ovisila je o tipu škroba. Na osnovi provedenog istraživanja zaključili su da je želatinizacija škroba proces koji se sastoji od niza procesa što se progresivno odvijaju, a ne „brzi“ ili iznenadni proces koji se odvija u uskom temperaturnom području. Proces želatinizacije započinje pri niskim temperaturama i nastavlja se do potpune degradacije granula.

Tijekom prvog dijela fazne promjene voda koju apsorbiraju škrobne granule povećava mobilnost škrobnih polimera, naročito amiloze u amorfnim područjima, čime se olakšava njihova reorganizacija – ponovno poravnavanje i stvaranje novih intermolekulskih sila. Povećanje vrijednosti entalpije tijekom zagrijavanja suspenzije škroba ispod temperature želatinizacije (utvrđeno pomoću DMK) potvrđuje ovaj fenomen. Promjene u relativnoj kristaličnosti pri nižim temperaturama ukazuju da strukturne promjene uključuju i promjene u kristalnim područjima granule. Promjene u kristalnim područjima, određene difrakcijom X-zraka, ovise o vrsti škroba.

Daljnjim zagrijavanjem polimeri škroba postaju još mobilniji, interakcije među polimerima se smanjuju ili potpuno nestaju i škrobne granule pucaju (osim visokoamiloznog škroba tretiranog pri <85 °C). Početak i napredovanje ovog razdoblja faznog prijelaza može

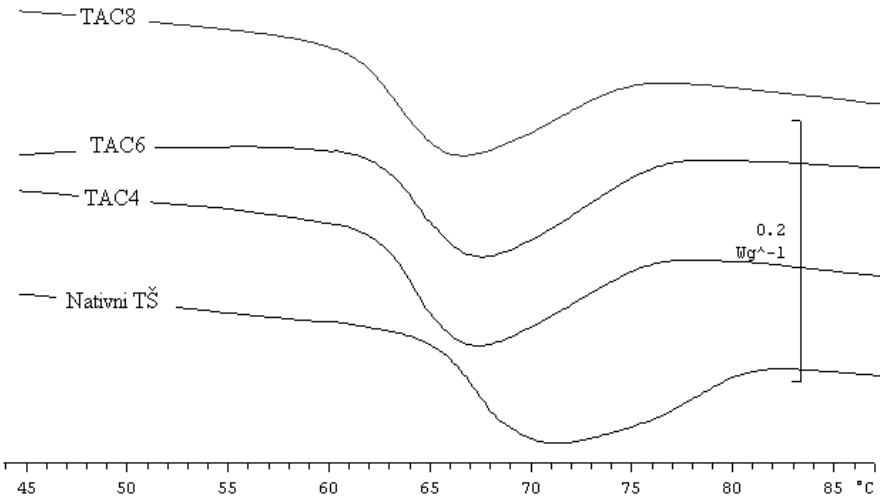
se utvrditi mikroskopiranjem i DMK-om. Rezultati dobiveni promatranjem procesa pod mikroskopom i difrakcijom X-zraka pokazuju da su razlike u DMK krivuljama rezultat razlika u intermolekulskim interakcijama i stabilnosti granula. Neke granule kukuruznog, pšeničnog, rižinog, krumpirovog i tapiokinog škroba nešto su stabilnije pri intenzivnijim hidrotermičkim tretmanima.

Na kraju je zaključeno da je želatinizacija proces koji se sastoji od tri stupnja: 1) apsorpcija vode u škrobnim granulama i povećanje mobilnosti polimera u amorfnim područjima granule; 2) reorganizacija polimera u amorfnim područjima i stvaranje novih intermolekulskih veza; 3) s povećanjem hidrotermičkog tretmana, polimeri su sve mobilniji, intermolekulske sile prestaju djelovati i gubi se struktura granule.

Energija koju apsorbiraju granule ne samo da dovodi do taljenja kristalne strukture tijekom želatinizacije, nego i olakšava reorganizaciju i stvaranje novih veza među molekulama pri temperaturama nižim od temperature želatinizacije. Ovaj proces, koji se ujedno razlikuje od procesa „bubrenja“ (annealing), kao i priroda procesa reorganizacije prije pucanja granule, ovise o tipu škroba.

Želatinizacija škroba je endotermni proces, stoga se za mjerenje parametara želatinizacije, kao što su temperatura i entalpija, najčešće upotrebljava *diferencijalna motridbena kalorimetrija (*DMK; *eng. Differential Scanning Calorimetry, DSC)*.

Rezultat mjerenja je krivulja (**Slika 13**) iz koje se očitavaju četiri vrijednosti: početna temperatura želatinizacije (t_o, eng. onset temperature), temperatura vrha (t_p, eng. peak temperature) i završna temperatura želatinizacije (t_e, eng. endset temperature) i entalpija želatinizacije (ΔH).



Slika 13 Krivulje želatinizacije nativnog i modificiranih škrobova tapioke (30 %). TAC4-dodatak 4 %, TAC6-dodatak 6 % i TAC8-dodatak 8 % acetanhidrida na s. tv. škroba tijekom modificiranja (Babić, 2007).

Mnogi su istraživači primjenom DMK određivali temperature i entalpije želatinizacija različitih škrobova pri čemu su dobiveni različiti rezultati, kako za pojedine, tako i za različite vrste škrobova, ovisno o uvjetima pri kojima je provođen proces (**Tablica 4**).

Tablica 4 Parametri želatinizacije različitih vrsta škrobova dobiveni pomoću diferencijalne motridbene kalorimetrije (DMK)

Škrob	**Omjer škrob:voda**	t_o **[°C]**	t_p **[°C]**	t_e **[°C]**	ΔH_{gel} **[J/g s. tv. škroba]**
Kukuruzni[a]	1:1,5	62,3	67,7	84,3	14,0
Kukuruzni[b]	1:9	65,7	71,0	-	12,0
Pšenični[a]	1:1,5	51,2	56,0	76,0	9,0
Pšenični[c]	1:2:3	51,2	56,0	76,0	9,0
Rižin[a]	1:1,5	62,0	67,4	97,5	11,0
Rižin[d]	1:9	57,7	65,1	-	11,5

T_o = početna temperatura; T_p = temperatura vrha; T_e = završna temperatura; ΔH_{gel} = entalpija želatinizacije; [a]Jenkis i Donald, 1998.; [b]Li i Yeh, 2001.; [c]Sasaki i sur., 2000.; [d]Sodhi i Singh, 2002.

Sodhi i Singh (2005) su proučavali parametre želatinizacije rižinog škroba dobivenog iz pet različitih sorata riže (PR-106, PR-114, IR-8, PR-103, PR-113), te utjecaj acetiliranja na parametre želatinizacije navedenih sorata. Singh i sur. (2004) istraživali su utjecaj acetiliranja na svojstva kukuruznog i krumpirovog škroba, a Babić i sur. (2006) utjecaj laktoze i sirutke u prahu na želatinizaciju i retrogradaciju nativnog i acetiliranog tapiokinog škroba. Ortega i Eliasson (2001) proučavali su svojstva želatinizacije i retrogradacije različitih škrobova (kukuruzni, krumpirov i ječmeni) i njihovih smjesa.

Termička svojstva voštanih i visokoamiloznih pšenica, određena DMK-om (Van Hung, Maeda i Morita, 2006), značajno se razlikuju i specifična su za svaku sortu. Visokoamilozni škrobovi daju dva endotermna pika. Prvi pik predstavlja želatinizaciju škroba, a drugi taljenje kompleksa amiloza-lipid. Kod voštanih škrobova postoji samo jedan pik – želatinizacija škroba. Temperature i entalpije želatinizacije visokoamiloznih pšeničnih škrobova značajno su niže u odnosu na voštane i obične škrobove pšenice. Temperature i entalpije želatinizacije voštanih pšeničnih škrobova značajno su više od običnih škrobova, što ukazuje da amilopektin zbog visokog stupnja kristaliničnosti zahtijeva više energije. Voštani pšenični škrobovi imaju visoku otpornost na retrogradaciju. Tijekom 3-tjednog skladištenja došlo je do male promjene entalpije, dok se kod običnih škrobova entalpija udvostručila.

Blazek i sur. (2009) primjenom DMK su ispitali termofizikalna svojstva škroba pšenice s obzirom na razlike u udjelu amiloze. Utvrdili su da se želatinizacija škroba pšenice odvija u

temperaturnom rasponu 61,5 – 65,4 °C. Voštani škrob imao je višu temperaturu želatinizacije (66,8 °C) zbog višeg stupnja kristaliničnosti.

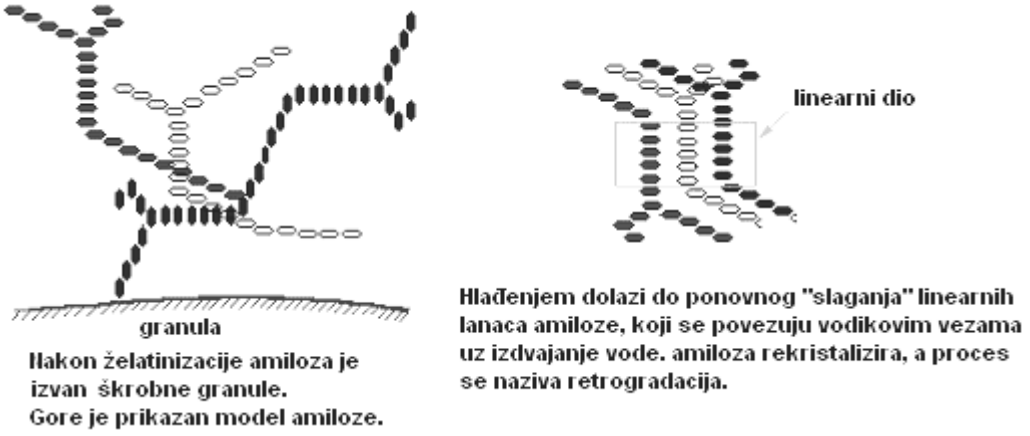
2.4.2. Retrogradacija

Hlađenjem želatiniziranog škroba dolazi do procesa *retrogradacije*, u kojem se molekule rekristaliziraju (**Slika 14**). Molekule amiloze povezuju se u strukturu dvostruke uzvojnice, dok se molekule amilopektina međusobno povezuju kratkim vanjskim lancima (Singh i sur., 2003). Zbog svoje razgranate strukture, molekule amilopektina znatno slabije rekristaliziraju. Retrogradacija ovisi o nizu čimbenika: prirodi škroba, koncentraciji škroba u otopini, temperaturi želatinizacije, pH, prisustvu drugih tvari (lipida, elektrolita, šećera) i uvjetima skladištenja (Walter, 1998). Najviše je izražena pri pH 5 – 7, usporena pri pH < 2, a pri pH > 10 prestaje. Stupanj retrogradacije raste sa sniženjem temperature i povećavanjem udjela škroba, a opada u prisutnosti soli jednovalentnih aniona i kationa, $Ca(NO_3)_2$ i uree.

Liu i Thompson (1998) proučavali su retrogradaciju škroba nakon različitih termičkih tretiranja tijekom želatinizacije (**Slika 15**). Rezultati su pokazali da s porastom temperature želatinizacije raste brzina retrogradacije tijekom skladištenja. Stupanj retrogradacije raste i s porastom sadržaja vode i vremena skladištenja (Jouppila i Ross, 1997; Liu i Thompson, 1998).

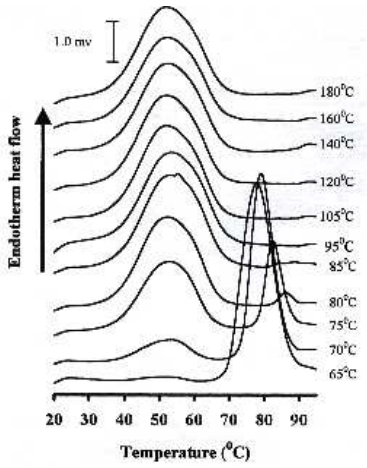
Retrogradacija škrobne paste ima sljedeće učinke:

- porast viskoznosti,
- pojava neprozirnosti i mutnoće,
- stvaranje netopljive „kore“ na vrućoj pasti,
- taloženje netopljivih čestica škroba i
- sinereza.



Slika 14 Shematski prikaz procesa retrogradacije (www.lanford.ubc.ca)

Retrogradacija može znatno narušiti organoleptička svojstva prehrambenih proizvoda (starenje kruha, gubitak viskoznosti, taloženje u juhama i umacima). Dodatkom različitih polarnih lipida, poput monogliceridа i njihovih derivata, produljuje se trajnost pekarskih proizvoda (Eliasson, 2004).



Slika 15 Retrogradacija škroba nakon različitih temperatura želatinizacija i skladištenja 12 dana pri 4 ºC (Liu i Thompson, 1998)

2.4.3. Viskoznost škrobne paste

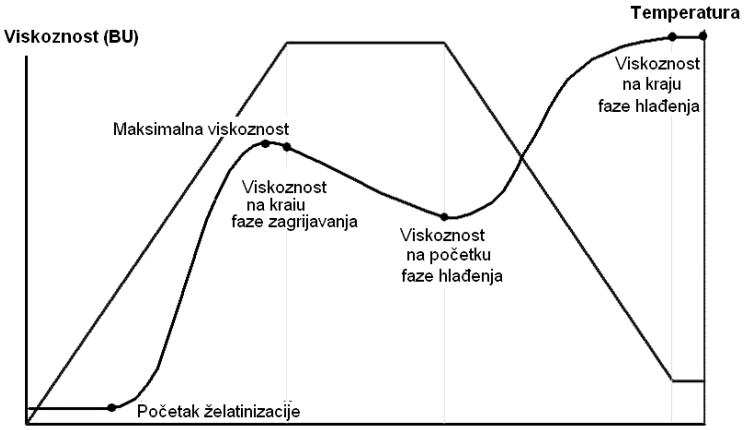
Kontinuiranim zagrijavanjem škrobne suspenzije uz miješanje doći će do *otapanja* granula i porasta viskoznosti otopine pri čemu nastaje *pasta*. Pasta je dvofazni sustav koji se sastoji od dispergirane faze nabubrenih škrobnih granula i kontinuirane faze otopljene amiloze i/ili amilopektina. Dobivena pasta se opisuje i kao složeni polimerni sustav u kojemu su nabubrene granule uklopljene u matriks molekula amiloze (Cui, 2005).

Reološka svojstva škroba važna su kako za kakvoću proizvoda kojima je škrob sastavni dio, tako i u vođenju industrijskih procesa, prije svega miješanja, transporta, prijenosa topline itd. Za određivanje reoloških svojstava škroba razvijene su brojne tehnike, no najčešće se primjenjuje Brabenderov viskoamilograf i RVA (Rapid ViscoAnalyzer) (Cui, 2005).

Brabender-ov viskoamilograf koristi se za karakterizaciju promjene viskoznosti škrobnih suspenzija tijekom zagrijavanja, te reoloških svojstava nastalih škrobnih pasti nakon hlađenja (BeMiller i Whistler, 1996). Rezultat mjerenja je krivulja (**Slika 16**) iz koje se određuje šest točaka:

1. početna temperatura želatinizacije;
2. maksimalna viskoznost (eng. peak viscosity) – maksimalna viskoznost paste izražena u Brabenderovim jedinicama (BU);

3. viskoznost pri 95 °C izražena u Brabenderovim jedinicama (BU);
4. viskoznost nakon 1 h stajanja na 95 °C – stabilnost paste tijekom zagrijavanja pri relativno malom naponu smicanja izražena u Brabenderovim jedinicama (BU);
5. viskoznost pri 50 °C izražena u Brabenderovim jedinicama (BU);
6. viskoznost nakon 1 h stajanja na 50 °C – stabilnost paste izražena u Brabenderovim jedinicama (BU).



Slika 16 Krivulja promjene viskoznosti otopine uzrokovane otapanjem škroba, mjerene pomoću Brabender-ovog viskoamilografa

RVA daje podatke iste kao i Brabender-ov viskoamilograf, uz nešto univerzalnije parametre. Prednosti RVA tehnike su u korištenju manjih količina uzoraka, kraćem vremenu testiranja te mogućnosti mijenjanja uvjeta mjerenja (Cui, 2005).

Prema svojstvima paste, škrobovi se dijele u četiri kategorije:

1. škrobovi visokog kapaciteta bubrenja (krumpirov, tapiokin, voštani škrobovi žitarica), koji imaju visoku maksimalnu viskoznost te veliki pad viskoznosti tijekom daljnjeg zagrijavanja;
2. škrobovi srednjeg kapaciteta bubrenja, koji imaju nešto nižu maksimalnu viskoznost i manji pad viskoznosti tijekom daljnjeg zagrijavanja (škrobovi žitarica);
3. škrobovi s malim kapacitetom bubrenja (umreženi škrobovi), koji imaju manje izraženu viskoznost vrha i visoku viskoznost koja se ne mijenja ili se čak povećava tijekom zagrijavanja;
4. škrobovi koji imaju izrazito mali kapacitet bubrenja (visokoamilozni kukuruzni škrob) i ne bubre dovoljno da bi se stvorila viskozna otopina (Cui, 2005).

Na viskoznost paste pšeničnog škroba utječe nekoliko čimbenika, među kojima su najvažniji sorta pšenice, udio amiloze, sorta ili genetika, brzina zagrijavanja, pH, veličina granula, udio škroba, modifikacija i interakcije s ostalim sastojcima u hrani (BeMiller i Whistler, 2009).

Viskoznost paste pšeničnog škroba niža je od vrijednosti viskoznosti paste kukuruznog škroba (**Tablica 5**). Zbog toga pšenični škrob ima prednost u primjeni u juhama, umacima i preljevima. Razlika u viskoznosti objašnjava se višim kapacitetom bubrenja, većom molekulskom masom amilopektina i manjim udjelom fosfolipida u kukuruznom škrobu u odnosu na pšenični.

Tablica 5 Svojstva paste nekih komercijalnih vrsta škroba (Cui, 2005)

Vrsta škroba	**Maksimalna viskoznost (cP)**	**Završna viskoznost (cP)**	**„Setback“ (cP)**	**Početak želatinizacije (°C)**
Kukuruzni	2974±17	3157±5	1308±30	81,1±0,5
Voštani kukuruzni	2437±6	1053±13	226±7	70,9±0,3
Krumpirov	5523±8	2352±19	480±5	65,6±0,1
Tapiokin	2249±13	1437±11	551±6	69,5±0,5
Pšenični	2499±25	3272±21	1302±13	85,5±0,5
Rižin	2000±13	2380±13	767±16	89,2±0,1

Poznato je da je viskoznost paste u negativnoj korelaciji s udjelom amiloze u rasponu 23 – 43 %, što je najvjerojatnije uzrokovano negativnim utjecajem amiloze na kapacitet bubrenja. Međutim, zbog visoke *vrijednosti kidanja* (razlika maksimalne viskoznosti i viskoznosti nakom 20 min miješanja pri 95 °C) završna viskoznost paste voštanog pšeničnog škroba manja je od viskoznosti paste pšeničnih škrobova koji sadrže amilozu.

Neionske površinski aktivne tvari dovode do porasta temperature stvaranja paste i smanjuju viskoznost nevoštanih pšeničnih škrobova, no na paste voštanih škrobova imaju jako mali utjecaj.

2.4.4. Tekstura škrobnog gela

Hlađenjem paste dolazi do dodatnog povećanja viskoznosti i, pri dovoljnoj koncentraciji škroba, nastanka gela. Čvrstoća gela ovisi o količini prisutne vode i prisustvu različitih sastojaka kao što su masti, proteini, šećeri i kiseline (Eliasson, 2004).

Tekstura i mehanička svojstva škrobnog gela u najvećoj mjeri ovise o reološkim svojstvima kontinuirane faze, volumnom udjelu nabubrenih granula, njihovoj deformaciji te interakcijama između kontinuirane i dispergirane faze (Choi, 2001).

Zagrijavanje pri visokim temperaturama (>125 °C) i/ili uz miješanje uzrokuje narušavanje strukture škrobne granule, promjene u reološkim i strukturnim svojstvima škrobnog gela, što za rezultat ima smanjenje čvrstoće gela (Choi, 2001).

Važnu ulogu u razvoju teksture i mehaničkih svojstava škrobnih gelova i namirnica na bazi škroba ima voda. Inaba i sur. (1994) istraživali su utjecaj udjela vode na teksturu škrobnog gela. Utvrdili su da se sila kompresije i rad povećavaju s povećanjem koncentracije škroba, dok elastičnost i kompresibilnost o njoj ne ovise (Choi, 2001).

Chung i Lee (1991) istraživali su povezanost teksture proizvoda na bazi škroba i kapaciteta vezanja vode. Utvrdili su da vezana voda u gelu surimija pripravljenom sa škrobom krumpira značajno utječe na silu kompresije.

Čvrstoća gela pšeničnog škroba veća je od čvrstoće gela kukuruznog škroba ukoliko je koncentracija škroba veća od 6 %. Pri koncentracijama manjima od 6 %, čvršći gel daje kukuruzni škrob (BeMiller i Whistler, 2009).

2.5. Modificirani škrobovi

Nativni škrob je lako dostupan i ekonomičan, no ograničenja u njegovim funkcionalnim svojstvima čine ga neprikladnim za većinu zahtjeva u prehrambenoj i drugim industrijama (BeMiller i Whistler, 2009). Stoga se provodi modifikacija škroba kemijskim, fizikalnim, enzimskim, ili kombinacijom navedenih postupaka.

2.5.1. Kemijski postupci modifikacije škroba

U kemijske postupke modifikacije škroba ubrajaju se esterifikacija, eterifikacija, kationizacija, oksidacija i umrežavanje, te kombinacije navedenih postupaka.

Esterifikacija

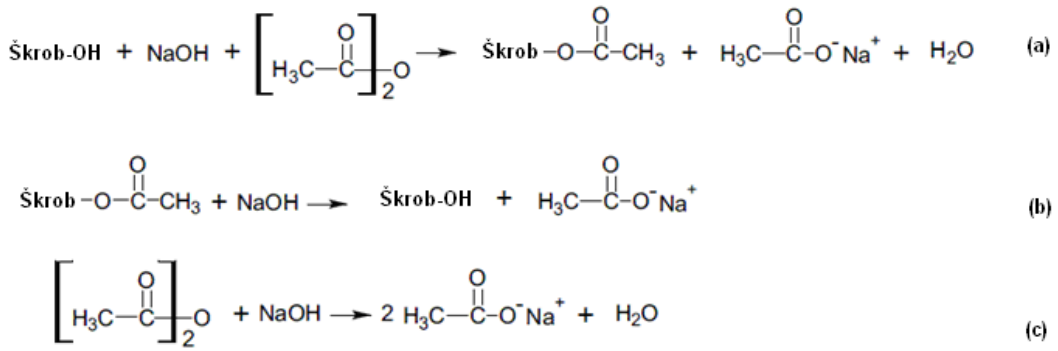
Škrobni esteri nastaju zamjenom hidroksilne skupine škroba esterskom vezom. Količina supstituiranih skupina u škrobnom lancu najčešće se izražava preko stupnja supstitucije (DS), koji se definira kao broj mola supstituenta po molu anhidroglukozne jedinice. Maksimalni stupanj supstitucije iznosi 3,0 jer se na svakoj glukoznoj jedinici mogu supstituirati maksimalno tri –OH skupine (Cui, 2005).

Za pripravu organskih i anorganskih škrobnih monoestera namijenjenih za upotrebu u prehrambenoj industriji dozvoljena je upotreba acetanhidrida, vinil-acetata, sukcinanhidrida, okt-1-enilsukcinanhidrida i natrijevog tripolifosfata (Cui, 2005).

Škrobni acetati

Acetiliranje škroba u vodenoj suspenziji i pri alkalnim uvjetima komercijalni je način proizvodnje acetiliranih škrobova niskog stupnja supstitucije. U alkalnim uvjetima škrob prvo reagira s lužinom stvarajući alkalni kompleks koji u reakciji s anhidridom daje škrobni ester

uz oslobađanje karboksilata i vode (**Slika 17**). Tijekom reakcije acetiliranja odvijaju se i dvije sporedne reakcije: deacetiliranje škroba i nastajanje natrijevog acetata.

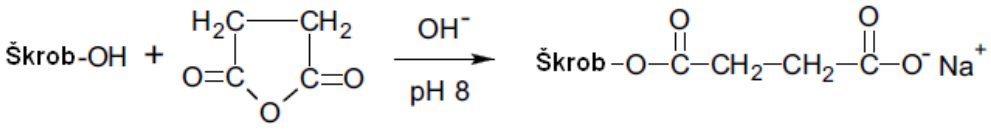


Slika 17 Reakcija acetiliranja škroba (a) i prateće reakcije: deacetiliranje škroba (b) i nastajanje natrijevog acetata (c)

Difrakcija X-zraka pokazala je da se reakcija acetiliranja odvija u amorfnim područjima škroba koja su dostupnija reagensu i katalizatoru. Temperatura želatinizacije acetiliranog škroba značajno je niža u odnosu na nativni. Maksimalna viskoznost nešto je viša, a hlađenjem se viskoznost acetiliranog škroba u odnosu na nativni snižava. Osim toga, acetiliranjem se smanjuje retrogradacija, povećava kapacitet bubrenja i bistroća paste. Međutim, škrobni acetati imaju manju stabilnost u kiselim uvjetima i tijekom miješanja pri visokim temperaturama (Cui, 2005).

Škrobni sukcinati

Škrobni sukcinat je poluester koji se dobiva reakcijom škroba sa sukcinanhidridom (**Slika 18**). Udio sukcinanhidrida u škrobu prema Američkoj agenciji za hranu i lijekove ne smije prelaziti 4 %.

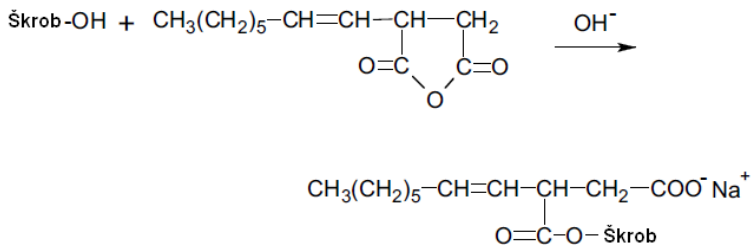


Slika 18 Reakcija sukciniranja škroba

Škrobni sukcinat sadrži slobodne karboksilatne skupine koje povećavaju kapacitet vezanja vode i kapacitet bubrenja u hladnoj vodi. Hidrofilna sukcinatna skupina značajno povećava i viskoznost škrobne paste, stabilnost tijekom ciklusa zamrzavanje/odmrzavanje i bistroću paste.

Škrobni alkenilsukcinati

Okt-1-enilsukcinanhidrid dozvoljen je od strane Američke agencije za hranu i lijekove za modifikaciju škroba namijenjenog upotrebi u prehrambenoj industriji u maksimalnom udjelu od 3 %. Reakcija škroba s okt-1-enilsukcinatom prikazana je **Slikom 19**.



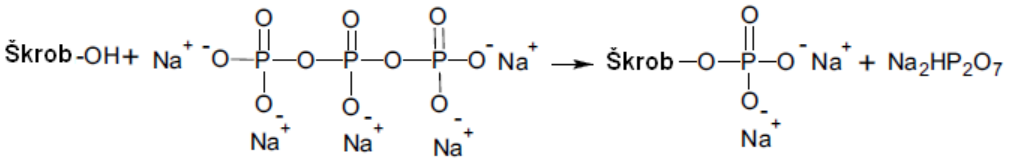
Slika 19 Reakcija škroba s 1-oktenilsukcinatom

U usporedbi s nativnim škrobom, natrijev škrob(1-oktenil)-sukcinat daje paste značajno više maksimalne viskoznosti i viskoznosti pri 50 °C. Porast viskoznosti paste tijekom zagrijavanja, održavanja temperature i hlađenja pripisuje se djelovanju ugljikovodičnih i alkenil-sukcinatnih skupina koje uzrokuju odbijanje među lancima polimera i time dovode do porasta kapaciteta bubrenja. Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008) natrijev škrob(1-oktenil)-sukcinat dozvoljen je za upotrebu u prehrambenoj industriji (E 1450).

Škrobni alkenilsukcinati sadrže i hidrofilne i hidrofobne skupine te u emulzijama usporavaju razdvajanje faza i koalescenciju.

Škrobni fosfati

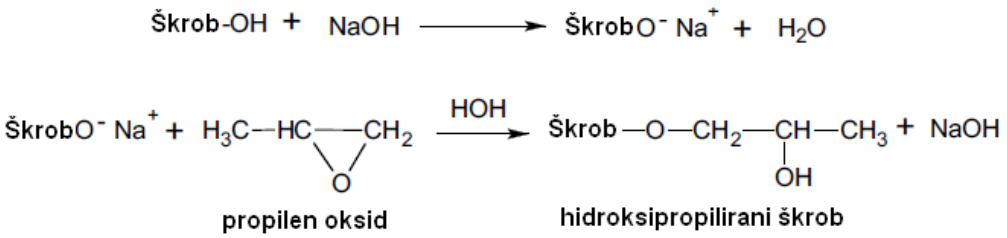
Reakcija nastajanja fosfatnog monoestera škroba prikazana je na **Slici 20**. Škrobni fosfati su polimeri s izraženim svojstvima aniona koji daju paste visoke viskoznosti, veće bistroće i stabilnosti, uz manju sklonost retrogradaciji. Temperatura želatinizacije smanjuje se s povećanjem stupnja supstitucije, a u odnosu na druge modificirane škrobove, škrobni fosfati imaju iznimnu stabilnost tijekom ciklusa zamrzavanje/odmrzavanje. Zbog svojih ionskih svojstava, škrobni fosfati su i dobri emulgatori, a u prehrambenoj industriji koriste se kao aditivi pod oznakom E 1410 (Pravilnik o prehrambenim aditivima NN81/2008).



Slika 20 Reakcija nastajanja fosfatnog monoestera škroba

Eterifikacija (Cui, 2005)

Za razliku od estera škroba, škrobni eteri su puno stabilniji, čak i u uvjetima visokih pH vrijednosti. Hidroksipropilirani škrob dobiva se reakcijom propilen-oksida sa škrobom u alkalnim uvjetima (**Slika 21**).



Slika 21 Reakcija dobivanja hidroksipropiliranog škroba

Uvođenje hidroksipropilnih skupina u molekulu škroba smanjuje njegovu probavljivost i u sirovom i u želatiniziranom obliku, i to proporcionalno stupnju supstitucije.

Osim toga, hidroksipropilna skupina narušava i unutrašnju strukturu škroba te dovodi do sniženja temperature želatinizacije. Paste hidroksipropiliranih škrobova imaju veću bistroću, stabilniju viskoznost i smanjenu tendenciju retrogradaciji. Hidroksipropilirani škrob je prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008) dozvoljen za upotrebu u prehrambenoj industriji pod oznakom E 1440.

Kationizacija (Cui, 2005)

Kationski škrobovi su važni derivati škroba u kojima škrob uvođenjem amonijevog kationa, amino ili imino skupine, sulfonij ili fosfonij kationa dobiva pozitivan naboj. Koriste se u industriji papira, uključujući i kartonsku ambalažu za namirnice.

Mogu se pripravljati reakcijom škroba s različitim dialkilaminoalkil-kloridima, kvarternim amonijevim solima, etileniminom, cijanamidom, ili supstituiranim hidrazin ili hidrazid spojevima koji sadrže tercijarne amino ili kvarterne amonijeve skupine.

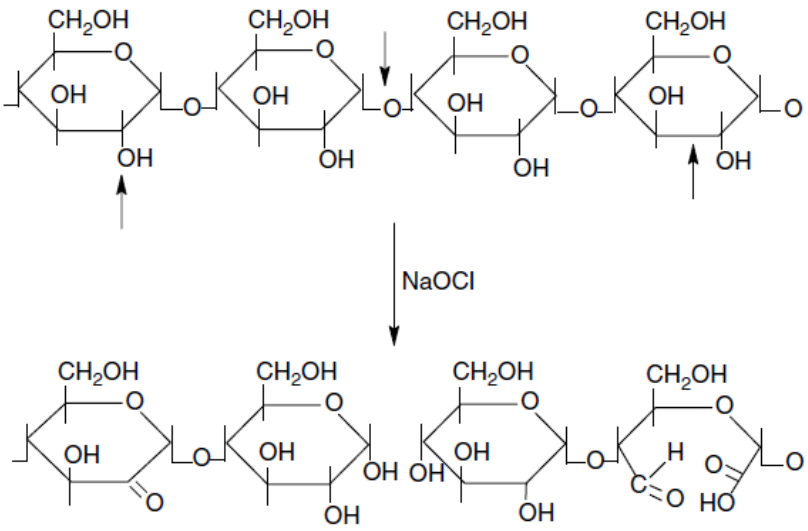
Temperatura želatinizacije kationskih škrobova smanjuje se s povećanjem stupnja supstitucije (DS) te pri DS 0,07 škrobovi bubre već u hladnoj vodi. Osim toga, povećava se i topljivost škroba te stabilnost i bistroća škrobne paste.

Oksidacija (Cui, 2005)

Oksidirani škrobovi pripravljaju se reakcijom škroba sa hipokloritom, vodikovim peroksidom, perjodatom, permanganatom, dikromatom, persulfatom ili kloritom. Najveću

primjenu imaju u papirnoj i tekstilnoj industriji, no u posljednje vrijeme zahvaljujući maloj viskoznosti, visokoj stabilnosti i bistroći, sve više raste njihova upotreba u prehrambenoj industriji (prehrambeni aditiv E 1404, Pravilnik o prehrambenim aditivima NN81/2008). Oksidirani škrobovi za prehrambenu industriju najčešće se pripravljaju reakcijom sa natrijevim hipokloritom.

Oksidirani škrobovi bjelji su od nativnih zbog izbjeljivanja pigmenata na površini granule. Reakcija uzrokuje cijepanje glikozidnih veza i oksidaciju –OH skupine u karbonilnu i karboksilnu skupinu (**Slika 22**).



Slika 22 Oksidacija škroba hipokloritom

Cijepanjem glikozidnih veza dolazi do depolimerizacije amiloze i amilopektina što uzrokuje sniženje kapaciteta bubrenja i viskoznosti paste. Oksidacijom hipokloritom u manjim udjelima, međutim, dolazi do porasta viskoznosti paste. Karbonilne i karboksilne skupine koje se nalaze na pojedinim mjestima u glikozidnom lancu, dovode do pada temperature želatinizacije, porasta topljivosti, te smanjenja termičke stabilnosti škroba, što uzrokuje posmeđivanje. Kako karboksilne i karbonilne skupine sterički ometaju udruživanje amiloznih lanaca, paste oksidiranih škrobova su bistrije i manje sklone retrogradaciji.

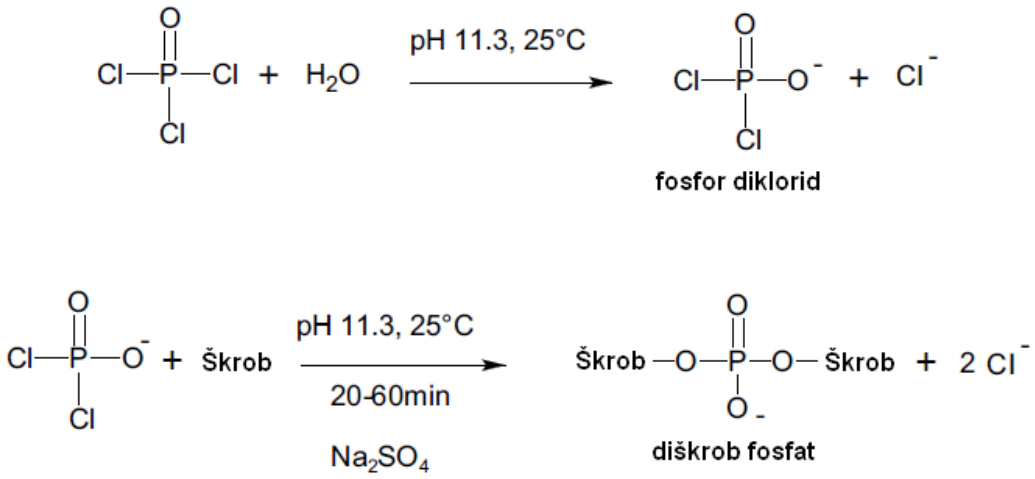
Umrežavanje

Škrob sadrži dva tipa hidroksilnih skupina: primarnu na atomu C-6 i sekundarne na 2. i 3. C atomu. Oba tipa –OH skupina mogu reagirati sa multifunkcionalnim reagensima dajući umrežene škrobove. Cilj umrežavanja je dobiti škrob nižeg kapaciteta bubrenja da bi se ograničila želatinizacija škroba tijekom zagrijavanja (Cui, 2005).

Smatra se da umrežavanje škroba utječe na viskoznost paste preko dva osnovna mehanizma koja imaju suprotno djelovanje. Umrežavanjem se smanjuje gubitak topljivih tvari iz granule te se učvršćuje sama granula, što uzrokuje povećanje viskoznosti. Istovremeno se ograničava bubrenje granule i smanjuje njihov volumni udio u vodenoj fazi, a to djeluje na smanjenje viskoznosti paste (Cui, 2005).

Umrežavanje fosfor-oksikloridom

Umrežavanje škroba fosfor-oksikloridom je brza reakcija u kojoj nastaje diškrob fosfat. Učinkovitost reakcije povećava se pri pH vrijednostima višim od 11 i u prisutnosti natrijevog sulfata. Reakcija umrežavanja sastoji se od dva stupnja. U prvom stupnju fosfor-oksiklorid brzo reagira s vodom dajući fosfor-diklorid koji u drugom stupnju reagira sa škrobom dajući diškrob fosfat (**Slika 23**)



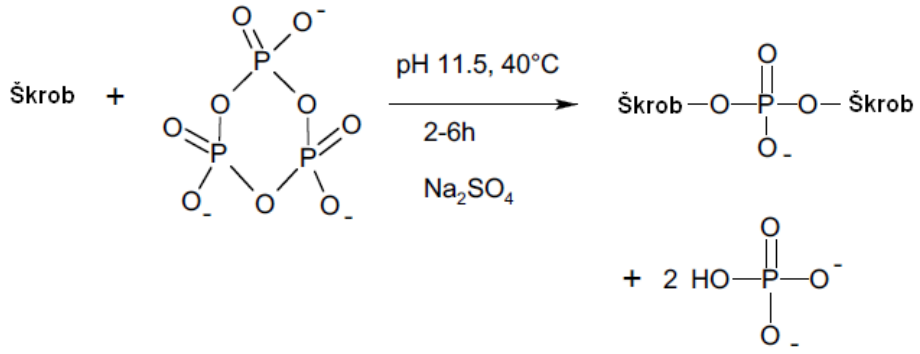
Slika 23 Kemijska reakcija pripravljanja diškrob fosfata reakcijom škroba s fosfor-oksikloridom

Voštani pšenični škrob umrežen fosfor-oksikloridom daje paste otporne na miješanje, visoke konzistencije (Reddy i Seib, 2000). Povećanjem udjela fosfor-oksiklorida u škrobu od 0,013 do 0,050 % dobivene su paste niže konzistencije.

Temperatura želatinizacije pšeničnog škroba umreženog sa 0,03 % fosfor-oksiklorida se ne mijenja značajno, dok je pri 0,2 % fosfor-oksiklorida došlo do porasta temperature želatinizacije. Pšenični diškrob fosfati pripravljeni sa 0,005 % $POCl_3$ daju paste visoke maksimalne viskoznosti, viskoznosti pri 50 °C i visoke „setback“ vrijednosti, uz malu vrijednost kidanja. Povećavanjem stupnja umreženja na udio reagensa 0,03 % $POCl_3$ došlo je do porasta temperature želatinizacije i sposobnosti ugušćivanja, a do pada topljivosti u vodi. Pšenični škrobovi modificirani sa 0,02 i 0,03 % $POCl_3$ daju paste koje su jako stabilne tijekom miješanja pri visokim temperaturama (BeMiller i Whistler, 2009).

Umrežavanje natrijevim trimetafosfatom

Umrežavanje škroba natrijevim trimetafosfatom (STMP) je spora reakcija nastajanja diškrob fosfata (**Slika 24**). Reakcija se ubrzava dodatkom natrijevog sulfata i/ili povećanjem pH vrijednosti.



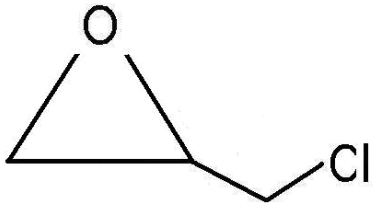
Slika 24 Umrežavanje škroba trimetafosfatom

Istraživanja su pokazala da je optimalno vrijeme reakcije za umrežavanje i postizanje morfološke stabilnosti škrobnih mikrosfera 6 sati. Osim toga, STMP djeluje u unutrašnjosti i na površini granule, a zahvaljujući negativno nabijenim fosfatnim skupinama škrob dobiva svojstva aniona (Li i sur., 2009).

Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008), esterificirani škrobni difosfat, fosfatizirani diškrobni fosfat i acetilirani škrobni difosfat dozvoljeni su za upotrebu u prehrambenim proizvodima, a označavaju se kao: E 1412, E 1413 i E1414.

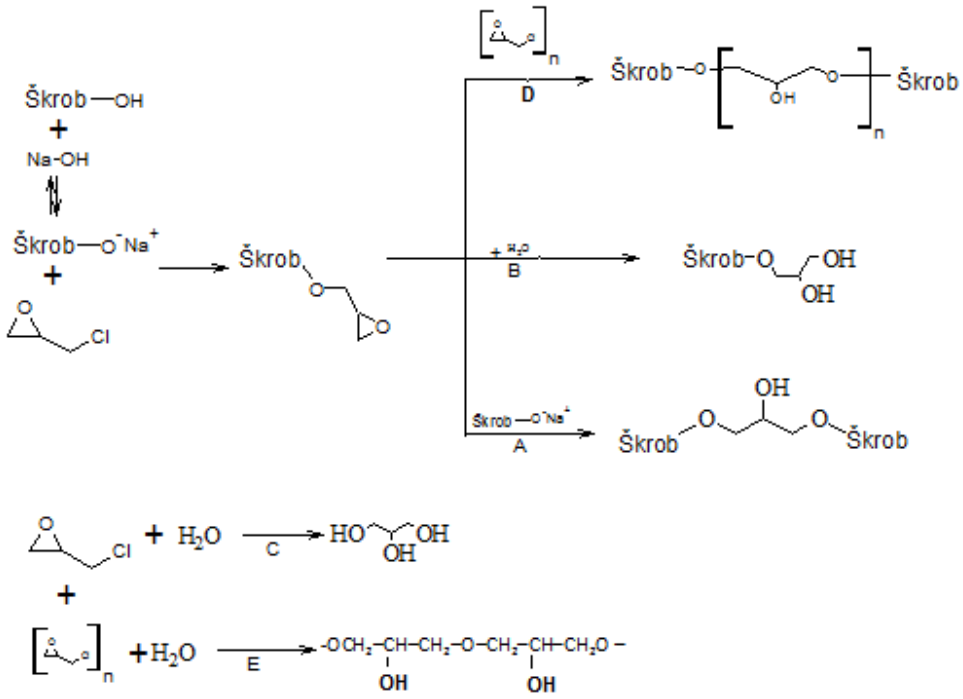
Umrežavanje epiklorhidrinom

Epiklorhidrin je bezbojna tekućina mirisa po kloroformu. Slabo je topljiv u vodi, miješa se s alkoholom, eterom, kloroformom, trikloretilenom i ugljikovim tetrakloridom. Sporo hidrolizira pri sobnoj temperaturi, a proces se ubrzava povišenjem temperature i u prisutnosti tragova kiselina. Kada se zagrije na temperaturu razlaganja, oslobađa toksične pare kloridne kiseline i drugih spojeva klora. Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi naziva se klorometiloksiran, a drugi su mu nazivi: 1-kloro-2,3-epoksipropan i glicidil klorid. Strukturna formula epiklorhidrina prikazana je na **Slici 25**.



Slika 25 Strukturna formula epiklorhidrina

Reakcija škroba s epiklorhidrinom sastoji se od tri stupnja. U prvom stupnju škrob u alkalnim uvjetima djeluje kao slaba kiselina i brzo stvara škrobni anion. U drugom stupnju anion škroba nukleofilno napada molekulu epiklorhidrina. Otvara se epoksidni prsten te se stvara nova molekula epoksida škroba uz oslobađanje NaCl. U trećem koraku molekula NaOH djeluje na škrob slično kao u prvom koraku uzrokujući umrežavanje. Molekula epiklorhidrina može tvoriti most između dviju molekula škroba (**Slika 25A**) ili glicerol monoeter (**Slika 25B**). U nekim slučajevima može doći i do stvaranja di- ili triglicerolnih dietera (**Slika 25D**) (Hamdi i Ponchel, 1999).



Slika 25 Moguće reakcije epklorhidrina sa škrobom: (A) umrežavanje; (B) stvaranje glicerol monoetera; (C) hidroliza epiklorhidrina; (D) umrežavanje s više od jedne jedinice epklorhidrina; (E) polimerizacija epiklorhidrina.

Diškrobni gliceroli koji nastaju reakcijom škroba s epiklorhidrinom otporni su na promjene pH i mehaničko naprezanje, a modificirane granule škroba gomolja i korijenja hidratiziraju u većoj mjeri u odnosu na nativne (Jyothi i sur., 2006).

Probavljivost škroba modificiranog epiklorhidrinom ovisi o broju blokirajućih skupina uvedenih u mrežu gela, uključujući i mjesta umreženja i glicerol monoeterske skupine. Stoga se promjenom uvjeta umrežavanja epiklorhidrinom može utjecati na brzinu enzimske digestije škroba bez utjecaja na kapacitet bubrenja škrobnih granula (Hamdi i Ponchel, 1999).

Jyothi i sur. (2006) utvrdili su da umrežavanje epiklorhidrinom u malim udjelima povećava vrijednost viskoznosti vrha škroba tapioke. S porastom stupnja umreženja, međutim, došlo je do smanjenja viskoznosti vrha. Kapacitet bubrenja, topljivost i bistroća paste bili su niži kod modificiranih škrobova. Kod škroba umreženog epiklorhidrinom došlo je i do pada početne, temperature vrha i završne temperature želatinizacije, a entalpija želatinizacije porasla je proporcionalno stupnju umreženja. *In vitro* probavljivost umreženih škrobova postupno se smanjivala s porastom stupnja umreženja.

Carmona-Garcia i sur. (2009) uočili su da umrežavanje epikorhidrinom snižava kapacitet bubrenja i topljivost, te dovodi do porasta temperature i pada vijednosti entalpije želatinizacije škroba izoliranog iz banane.

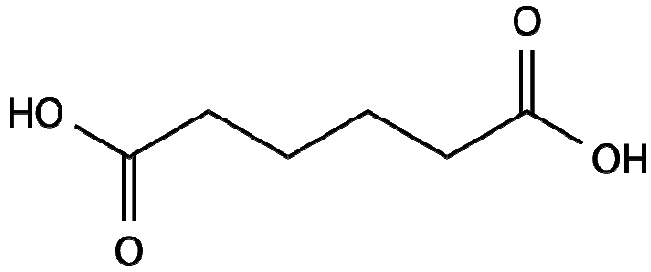
Spojevi škroba s organskim kiselinama

Umrežavanje smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida

Adipinska kiselina je bijeli kristalinični prah bez mirisa. Slabo je topljiva u vodi i dobro topljiva u alkoholu i acetonu. Industrijski se proizvodi iz cikloheksana oksidacijskim procesima, a u prehrambenoj industriji se koristi kao sredstvo za zakiseljavanje i rahljenje. Njeni derivati – halogenidi, anhidridi, esteri, amidi i nitrili koriste se u proizvodnji aroma, plastifikatora, boja itd.

Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008) adipinska kiselina (E 355) i njene soli natrija (E 356) i kalija (E 357) primjenjuju se u punilima i preljevima za fine pekarske proizvode (do 2 g/kg), u suhim mješavinama za deserte u prahu (1 g/kg), desertima nalik na žele (6 g/kg), desertima s okusom voća (1 g/kg) te instant proizvodima za pripravu pića (10 g/L).

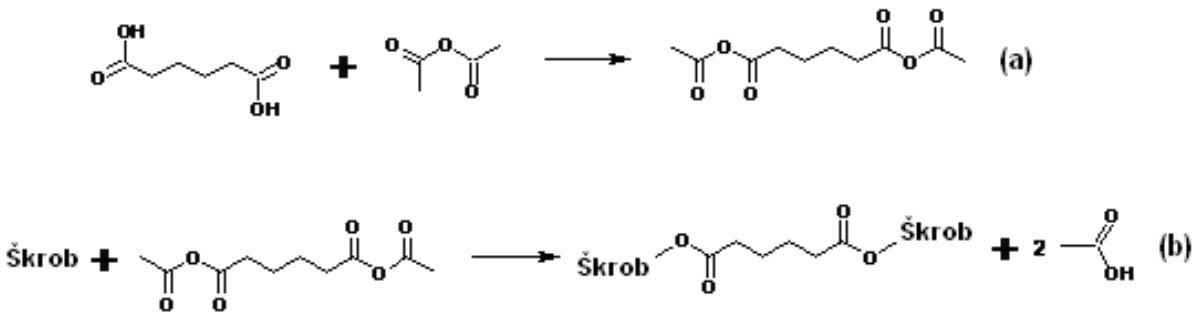
Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi, adipinska kiselina naziva se 1,4-butan dikarboksilna kiselina, a sinonimi su joj i 1,6-heksandioična kiselina, acifloktin. Strukturna formula adipinske kiseline prikazana je na **Slici 26**.



Slika 26 Strukturna formula adipinske kiseline

Adipinska kiselina u reakciji sa škrobom može dati umreženi škrob, ali i monosupstituirane derivate škroba. Reakcija se provodi u vodenoj suspenziji, u alkalnim uvjetima, dokapavanjem smjese acetanhidrida i adipinske kiseline.

Miješanjem acetanhidrida i adipinske kiseline nastaje anhidrid octene i adipinske kiseline (**Slika 27a**) koji u reakciji sa škrobom daje diškrobni adipat i octenu kiselinu (**Slika 27b**). Pri pH 8 reakcija se odvija brzo, no reagens je potrebno dodavati polagano, uz održavanje pH dokapavanjem NaOH, jer je reakcija egzotermna (Cui, 2005).



Slika 27 Pripravljanje diškrobnog adipata reakcijom sa acetanhidridom i adipinskom kiselinom (Kricheldorf, 1992).

Diškrobni adipati u odnosu na nativne škrobove imaju sljedeće prednosti: povećana stabilnost pri povišenoj temperaturi, pH, miješanju te u ciklusima zamrzavanje/odmrzavanje (Mali i Grossmann, 2001). Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008), acetilirani diškrobni adipat dozvoljen je za upotrebu u prehrambenoj industriji pod oznakom E 1440.

Acetilirani diškrob adipat pripravljen od velikih granula pšeničnog škroba imao je svojstva koja su ovisila o stupnju umreženja. Modifikacija sa 0,02 ili 0,04 % smjese adipinske kiseline i acetanhidrida uz naknadno acetiliranje do stupnja supstitucije 0,087 rezultirala je visokom viskoznošću i 16 – 18 °C nižom temperaturom želatinizacije, no pasta je bila ljepljiva. Povećavanjem udjela reagensa za umrežavanje na 0,10-0,14 % uz stupanj supstitucije acetilom 0,083 – 0,089 pasta je imala viskoznost sličnu pasti sa 0,02 – 0,04 % smjese adipinske kiseline i acetanhidrida, ali je umreženiji produkt dao *glađu i kraću* teksturu (shorter & smoother), te je imao 8 – 9 °C nižu temperaturu želatinizacije (BeMiller i Whistler, 2009).

Luo i sur. (2009) su modifikacijom voštanog krumpirovog škroba smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida pripravili acetilirani diškrobni adipat kojemu se nije promijenila struktura škrobne granule u odnosu na nativni škrob, ali je poboljšana stabilnost škrobne paste, otpornost na djelovanje kiselina i soli, te je smanjena vrijednost kidanja.

Acetilirani diškrobni adipat proizveden uz primjenu ekstruzije dao je bistriju škrobnu pastu, a nakon skladištenja pri 10 °C tijekom 15 dana nije došlo do sinereze (Mali i Grossman, 2001).

Osim sa smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida, pripravljeni su i spojevi škroba s drugim organskim kiselinama.

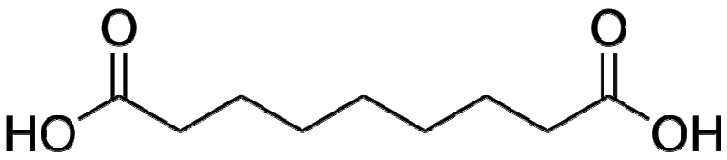
Škrobni ferulat pripravljen je reakcijom škroba sa kloridom ferulične kiseline. Pripravljeni modifikat imao je visoku hidrofilnost i loša mehanička svojstva, no pospješena je resorpcija ferulične kiseline u crijevima te je tako povećana njena biodostupnost. Kako je ferulična kiselina prirodni sastojak stanične stjenke mnogih biljaka sa jakim antioksidativnim svojstvima, ovaj škrobni modifikat mogao bi imati primjenu u tzv. funkcionalnoj hrani (Mathew i Abraham, 2007).

John i Raja (1999) pripravili su *komplekse škroba sa oksalnom, malonskom i jantarnom kiselinom*. Kompleksi škroba sa oksalnom i malonskom kiselinom imali su povećanu topljivost i povećani udio karboksilnih skupina što im je snizilo pH vrijednost. U ovim uzorcima umanjen je i udio amiloze.

Kim MJ i sur. (2008) su pripravili *škrobni glutarat* s različitim udjelima glutarne kiseline. Utvrdili su da se navedenom modifikacijom smanjuje probavljivost škroba, a primjenom FT-IR-a i NMR-a utvrdili su prisutnost mjesta umreženja. Škrobni glutarati imali su i manju topljivost kao i manju entalpiju želatinizacije, a zbog ograničenog bubrenja uslijed umrežavanja toplinski tretman nije uzrokovao smanjenje udjela rezistentnog škroba.

2.5.1.1. Azelainska kiselina

Azelainska kiselina (**Slika 28**) je zasićena dikarboksilna kiselina koja se u prirodi nalazi u pšenici, raži i ječmu, a na zdravoj koži ju proizvodi i kvasac *Malassezia furfur*. Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi naziva se 1,9 nonandioična kiselina ili heptandikarboksilna kiselina.



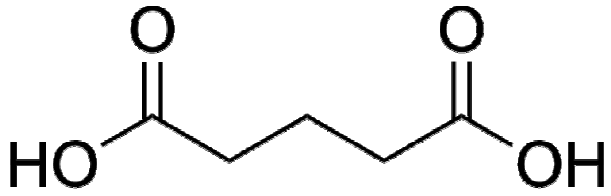
Slika 28 Strukturna formula azelainske kiseline

To je bijeli prah topljiv u etanolu i eteru te slabo topljiv u vodi. Industrijski se može proizvoditi ozonolizom. Azelainska kiselina i njeni derivati imaju široku primjenu u industriji gdje se koriste kao plastifikatori, lubrikanti, prekursori za dobivanje aromatičnih spojeva, antiseptika, boja, u sintezi poliamidnih i alkilnih smola.

Nije akutno niti kronično toksična, neteratogena je i nemutagena. Ima antibakterisjko i antioksidativno djelovanje pa se koristi i u liječenju kožnih oboljenja, a pokazala se i kao dobro antibakterijsko sredstvo za potencijalnu upotrebu u hrani (Moniharapon i sur, 2005.).

2.5.1.2. Glutarna kiselina

Glutarna kiselina (pentandioična kiselina, **Slika 29**) je dikarboksilna kiselina koja se u prirodi nalazi u biljnim i životinjskim tkivima, krvi i urinu. Nastaje kao proizvod metabolizma lizina, hidroksilizina i triptofana.



Slika 29 strukturna formula glutarne kiseline

To je bijeli prah najnižeg tališta od svih karboksilnih kiselina (98 °C). Dobro je topljiva u vodi te daje jako kiselu otopinu. Koristi se u proizvodnji poliesterskih poliola, poliamida, esterskih plastifikatora i inhibitora korozije. Koristi se i u sintezi lijekova, površinski aktivnih tvari i tvari za zaštitu metala. Prema Europskoj direktivi o predmetima koji dolaze u doticaj s hranom (90/128/EEC), dozvoljena je njena upotreba u materijalima za pakiranje namirnica, a prepoznata je i kao dobro potencijalno sredstvo za regulaciju kiselosti u prehrambenim proizvodima (Merten i Bachman, 2006).

2.5.1.3. Jantarna kiselina

Jantarna (butandioična) kiselina je dikarboksilna kiselina građena od 4 ugljikova atoma, prirodno rasprostranjena u biljnim i životinjskim tkivima gdje ima važnu ulogu u Krebsovom ciklusu (ciklusu limunske kiseline). Nastaje i kao nusproizvod fermentacije šećera pa vinu i pivu daje karakterističan okus slanosti, gorčine i kiselosti.

To je bezbojna kristalična krutina tališta 185 – 187 °C, topljiva u vodi, no slabo topljiva u etanolu, eteru, acetonu i glicerolu. Za industrijske potrebe najčešće se dobiva katalitičkom hidrogenacijom maleinske kiseline ili njenog anhidrida.

Jantarna kiselina i njeni derivati imaju primjenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN81/2008), jantarna kiselina (E 363) dozvoljena je za upotrebu u desertima (do 6 g/kg), juhama i bujonima (5 g/kg), te napitcima u prahu koji se pripravljaju za upotrebu dodatkom vode ili tekućine (3 g/L).

2.5.2. Fizikalni postupci modifikacije škroba

Fizikalna modifikacija škroba može se primijeniti kao zaseban proces ili u kombinaciji s kemijskim postupcima modifikacije. Najčešće primjenjivani postupci fizikalne modifikacije su preželatinizacija, tretiranje škroba „vlažnom toplinom“, „bubrenje škroba“ (annealing) i ekstruzija.

Preželatinizirani škrob proizvodi se sušenjem prethodno želatiniziranog škroba raspršivanjem, na valjcima ili ekstruzijom. Osnovna karakteristika mu je brza hidratacija i bubrenje u vodi već pri sobnoj temperaturi. Nedostaci su teška homogenizacija, niža konzistencija i mutnoća. Najčešće se koristi kao dodatak u instant juhama, umacima i preljevima (Cui, 2005; BeMiller i Whistler, 2009).

Tretman *„vlažnom toplinom“* je postupak u kojem se škrob vlažnosti < 35 % tijekom određenog vremena podvrgava temperaturama iznad temperature staklastog prijelaza (t_g), ali ispod temperature želatinizacije. t_g je temperatura pri kojoj škrobne granule, tijekom zagrijavanja u prisutnosti otapala poput vode ili glicerola, prelaze iz uređenog, staklastog stanja, u neuređeno, gumasto stanje. Posljedica procesa je porast temperature želatinizacije i raspona želatinizacije te porast stabilnosti na djelovanje kiselina (Cui, 2005).

„Bubrenje škroba“ (annealing) se od tretmana vlažnom toplinom razlikuje po udjelu vode pri kojem se provodi zagrijavanje. Tijekom procesa bubrenja (annealing) škrobne granule drže se određeno vrijeme u uvjetima suviška (>60 % w/w) ili umjerene vlažnosti (40 % w/w) pri temperaturama iznad staklastog prijelaza (t_g), ali ispod početne temperature želatinizacije (t_o) (Jayakody i Hoover, 2008).

DMK analize pokazale su da bubrenje (annealing) pšeničnog škroba može započeti već pri sobnoj temperaturi, kada vlažnost prijeđe 22 % ukupne mase, no tada je ono ograničeno (u smislu utjecaja na porast temperature želatinizacije) sve dok vlažnost ne prijeđe 60 % mase.

Prema nekim istraživanjima bubrenje se može provesti i pri sobnoj temperaturi, u uvjetima povišenog tlaka (600 MPa).

Bubrenje ima sljedeći utjecaj na strukturu škroba: smanjenje B-kristaličnosti škroba visokoamiloznog ječma i slatkog krumpira, povećanje stabilnosti granule, rast kristala, uvijanje neuređenih krajeva dvostrukih uzvojnica, interakcije lanaca u kristalnim i amorfnim dijelovima škrobne granule, povećanje uređenosti u amorfnom području bez povećanja kristaličnosti, stvaranje dvostrukih uzvojnica amiloza-amiloza, amiloza-amilopektin i amilopektin-amilopektin, interakcije amiloze s lipidima, poravnavanje polimernih lanaca u granulama i djelomično taljenje kristala (Jayakody i Hoover, 2008).

Bubrenje uzrokuje porast temperature želatinizacije (t_o, t_p, t_e) te smanjuje raspon temperature želatinizacije kod svih škrobova. Međutim, utjecaj na entalpiju želatinizacije ovisi

o vrsti škroba, tj. o udjelu amiloze, lokaciji amiloze i amilopektina u škrobnoj granuli, te distribuciji duljine lanaca amilopektina u granuli. Kod normalnih škrobova pšenice i kukuruza ne dolazi do promjene entalpije želatinizacije, no kod visokoamiloznih škrobova ječma i kukuruza dolazi do znatnog porasta ΔH.

Utjecaj bubrenja na strukturu škroba izraženiji je što je temperatura bubrenja bliže t_o. Kako tijekom bubrenja ne bi došlo do želatinizacije, bubrenje se vrši pri temperaturama 5 do 15 °C nižima od t_o, iako je do značajnih promjena parametara želatinizacije došlo i bubrenjem pri temperaturama 15 – 28 °C ispod t_o. Vrijeme trajanja procesa također proporcionalno utječe na intenzitet promjena, uz najveći utjecaj na t_o, a najmanji na t_e.

Tretiranje škroba procesom bubrenja (annealing) smanjuje kapacitet bubrenja škroba. Općenito, ovaj tretman dovodi do porasta temperature stvaranja paste, termičke stabilnosti i sniženja maksimalne viskoznosti i viskoznosti na kraju procesa hlađenja.

Ekstruzija je proces u kojem se škrob modificira kombiniranim djelovanjem visokog tlaka, topline i smicanja. Škrobni polimeri cijepaju se na manje jedinice, pri čemu je promjenama podložniji amilopektin. Kristalna struktura škrobne granule se, ovisno o udjelu amiloze i amilopektina te parametrima ekstruzije, djelomično ili potpuno narušava. Rezultat je porast topljivosti škroba u vodi, ali i smanjenje apsorpcije vode. Ekstrudirani škrobovi imaju veću početnu viskoznost paste u odnosu na nativne, no ne postiže se maksimalna viskoznost, nego se u temperaturnom rasponu 90 – 96 °C konzistencija naglo smanjuje. Retrogradacija je, u odnosu na neekstrudirane želatinizirane škrobove, manje izražena kod ekstrudiranih škrobova (Eliasson, 2004; Cui, 2005).

2.5.3. Primjena nativnog i modificiranih škrobova pšenice u prehrambenoj industriji (BeMiller i Whistler, 2009)

Pšenični škrob najviše se primjenjuje u pekarskoj industriji jer izolirani pšenični škrob zadržava svojstva koja ima endogeni škrob u pšeničnom brašnu, glavnom sastojku pekarskih proizvoda.

Škrob ima jedinstvenu ulogu u ograničavanju dizanja (ekspanzije) tijesta tijekom pečenja, koje je u izravnoj vezi sa temperaturom želatinizacije i cjelovitošću nabubrenih granula u matriksu glutena. Druga uloga škroba je adhezija tvari na površini granule kojom se olakšava interakcija glutena i škroba tijekom izrade tijesta.

Zamjenom 30 % brašna pšeničnim škrobom u proizvodnji biskvitnih tijesta značajno se poboljšava zapremina, tekstura, zadržavanje svježine, te kvaliteta proizvoda.

U pekarskim proizvodima s visokim sadržajem masti, poput lisnatog tijesta, zamjenom 30 % brašna pšeničnim škrobom može se smanjiti utrošak masti za 17 – 20 %.

Nemodificirani pšenični škrob primjenjuje se u proizvodnji kora za pite, smjesa za pite, smjesa za krafne, zamjena za sir, dok modificirani pšenični škrob ima veliku primjenu u proizvodnji smjesa za vafle, pahuljica za doručak, kora za pizzu, mliječnih proizvoda, kobasica, zamrznutih proizvoda itd. U ovim proizvodima škrob se koristi kao vezivno sredstvo, za poboljšanje teksture, kao sredstvo za kontroliranje vlažnosti i ugušćivanje.

2.6. Rezistentni škrob

Dugo se smatralo da je razgradnja škroba, koji čini 25 – 50 % ukupnog energetskog unosa, u tankom crijevu kod ljudi potpuna, no *in vitro* studije na životinjama i ljudima 1980-tih godina pokazale su da jedan značajni dio škroba ipak nerazgrađen odlazi u debelo crijevo gdje se fermentacijom pomoću crijevne mikroflore prevodi u kratkolančane masne kiseline (octena, propionska, maslačna), CO_2, vodik i kod nekih pojedinaca metan, pa se prema probavljivosti škrob dijeli u 3 skupine:

1. *lako ili brzo probavljivi škrob* (*RDS*, eng. rapidly digestible starch), koji se enzimskom aktivnošću razgrađuje na jedinice glukoze u roku od 20 minuta, a nalazi se u kuhanoj škrobnoj hrani u amorfnom ili disperznom obliku (npr. pire krumpir);
2. *sporo ili teško probavljivi škrob* (*SDS*, eng. slowly digestible starch), koji se također u potpunosti razgrađuje u tankom crijevu, no mnogo sporije (od 20 min do 1 h). Ovdje ubrajamo tzv. sirovi škrob kristalne strukture (pahuljice) i retrogradirani škrob u granularnom obliku (kuhana pa ohlađena hrana, npr. krumpir salata);
3. *rezistentni škrob* (*RS*, eng. resistant starch), frakcija škroba koja se djelovanjem α-amilaze i pululunaze ne razgrađuje niti nakon 120 minuta. Popularna definicija rezistentnog škroba je „škrob koji se ne probavlja u tankom crijevu, nego nerazgrađen prelazi u debelo crijevo u kojem podliježe fermentaciji“ (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

Osim strukture molekule škroba i njene dostupnosti enzimima, na probavljivost škroba utječu i fiziološki faktori poput žvakanja i rada tankog crijeva. Naime, žvakanjem se hrana usitnjava do određene veličine čestica. Veće čestice brže putuju kroz crijeva od malih pa se i slabije probavljaju, što znači da bolje žvakanje olakšava probavu škroba. Što je tanko crijevo pokretljivije, hrana brže prolazi i slabije se probavlja. Na pokretljivost tankog crijeva u žena utječe i menstrualni ciklus pa se najmanje RS-a u žena javlja u srednjem dijelu ciklusa.

2.6.1. Vrste rezistentnog škroba i njihova svojstva

Rezistentni škrob se najčešće dijeli u četiri podgrupe: RS1, RS2, RS3 i RS4.

RS1 je škrob uklopljen u neprobavljivu stjenku zbog čega je fizički nedostupan enzimima. Nalazi se u djelomično samljevenim žitima i sjemenkama te u jako čvrstim

proizvodima od žitarica. Termički je stabilan pa se može koristiti kao sastojak u velikom broju konvencionalnih namirnica. Kemijski se određuje kao razlika glukoze koja se oslobađa enzimskom razgradnjom dobro usitnjenog i neusitnjenog uzorka (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

RS2 je škrob koji je zbog svoje granularne forme otporan na enzimsku razgradnju. To je „sirovi škrob" čija je struktura radijalno zbijena i dehidrirana. Upravo zbog zbijene strukture enzimi imaju ograničeni pristup vezama koje hidroliziraju te se škrob ne probavlja. Nalazimo ga npr. u zelenim bananama, sirovom krumpiru, a u ovu skupinu ubraja se i škrob s visokim udjelom amiloze. Kemijski se određuje kao razlika glukoze oslobođene enzimskom razgradnjom kuhane, dobro usitnjene hrane i sirove, neusitnjene namirnice (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

RS3 je najzastupljenija grupa rezistentnog škroba. Može se reći da je to poglavito retrogradirana amiloza koja se formira tijekom hlađenja želatiniziranog škroba, te da ovaj tip rezistentnog škroba sadrže sve kuhane škrobne namirnice (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

Naime, tijekom stvaranja RS3, škrobna granula u potpunosti je hidratizirana. Amiloza iz granula izlazi u otopinu u vidu uzvojnice. Hlađenjem se ti lanci grupiraju u dvostruku uzvojnicu, stabiliziranu vodikovim vezama. Kristalna struktura tipa A formira se kada se želatinizirani škrob nekoliko sati drži na povišenoj temperaturi (100 °C). Kompaktne je strukture i u monokliničkoj ćeliji sadrži tek nekoliko molekula vode. Daljnjom retrogradacijom, dvostruke uzvojnice se združuju u heksagonalne jedinice.

Tip B je otvorenije strukture. Od 36 do 42 molekule vode nalaze se u središnjem kanalu unutar uzvojnice koju čini 6 dvostrukih uzvojnica. Retrogradiranu amilozu može se dobiti i podvrgavanjem kukuruznog škroba s visokim udjelom amiloze u suvišku vode ciklusima varijacije temperature između 134 °C i 4 °C.

Općenito, da bi uopće došlo do stvaranja RS3, stupanj polimerizacije amiloze mora biti između 10 i 100. Na retrogradaciju amiloze utječe i amilopektin pa se prinos retrogradirane amiloze može povećati „uklanjanjem" amilopektina djelovanjem pullulunaze. Na udio RS-a stvorenog procesom retrogradacije utječu uvjeti obrade škrobnog proizvoda (Garcia-Alonso i sur., 1999). Kemijski gledano, RS3 je frakcija koja se ne razgrađuje ni kuhanjem ni enzimskom razgradnjom. Dispergira se samo u KOH ili DMSO (dimetilsulfoksid) i u potpunosti je otporan na djelovanje želučanih amilaza (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

RS4 je modificirani škrob u kojem se, osim α-1,4- i α-1,6-veza, formiraju i nove kemijske veze, npr. fosfatni esteri škroba. Za komercijalnu proizvodnju RS-a najprikladniji su škrobovi s visokim udjelom amiloze (Haralampu, 2000; Sajilata i sur. 2006).

2.6.2. Uvjeti stvaranja rezistentnog škroba

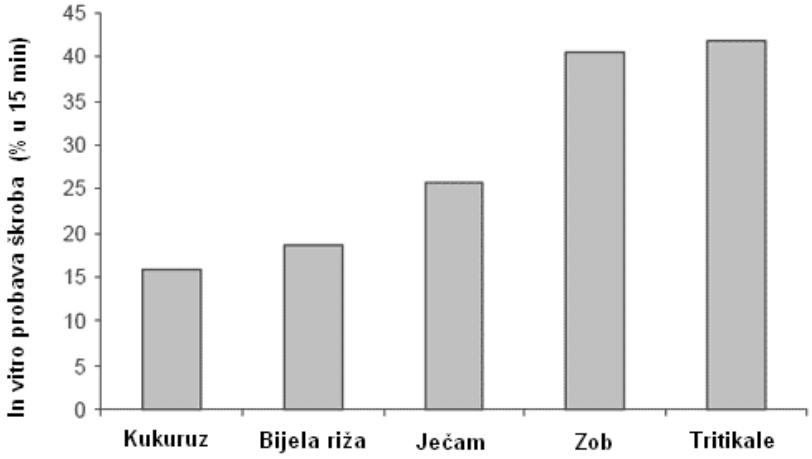
Na stvaranje rezistentnog škroba utječe više činitelja: svojstva škroba, vlažnost i temperatura, termička obrada i drugi sastojci hrane.

Pod svojstvima škroba ovdje se podrazumijevaju kristalna struktura, struktura granula, omjer udjela amiloze i amilopektina te retrogradacija amiloze.

Kristaliničnost škroba tipa B (s nešto većom kristalnom rešetkom), kakva se javlja u krumpiru, jedan je od uzroka rezistentnosti škroba prema enzimima. Svaki postupak koji smanjuje kristaliničnost (želatinizacija) smanjuje i udio rezistentnog škroba. Retrogradacijom, odnosno vraćanjem škroba u kristalni oblik rezistentnost se povećava.

Garcia-Alonso i sur. (1999) ustanovili su da se najveći prinos RS-a procesom retrogradacije ostvaruje u krumpirovom škrobu (21,2 %), slijede škrobovi pšenice i kukuruza (14,4 i 11 %), a najmanji prinos daje škrob riže (3,97 %). Međutim, brašno kukuruza ima najmanji prinos RS, dok rižino brašno, iako škrob daje mali prinos, daje visok udio RS-a (Sajilata i sur. 2006).

Škrob se u biljnom materijalu nalazi u obliku *zrnaca* čiji oblik i veličina ovise o vrsti biljke. Krumpirov škrob i kukuruzni škrob s visokim udjelom amiloze imaju čvršće „pakirane“ granule kojima je omjer mase i volumena manji u odnosu na škrobove žitarica. Zbog strukture granula krumpirov i kukuruzni škrob s visokim udjelom amiloze ne mogu se sirovi probaviti, dok se škrobovi ostalih žitarica (**Slika 30**), iako sporo, probavljaju i sirovi (Sajilata i sur. 2006).



Slika 30 Probavljivost škroba kukuruza, riže, ječma, zobi i tritikale tijekom *in vitro* inkubacije u suvišku enzima α-amilaze i amiloglukozidaze tijekom 15 minuta pri 39 °C (preuzeto sa: www.engormix.com/starch_digestion_in_the_e_ar...).

Omjer udjela amiloze i amilopektina također utječe na probavljivost škroba što je vidljivo iz usporedbe „običnog“ kukuruznog brašna (s udjelom amiloze 25 %) i brašna

kukuruza s visokim udjelom amiloze (70 %). Udio RS u prvom je 3 g/100 g s. tv., dok se kod potonjeg penje na 20 g/100 g s. tv. Akerberg i sur. proučavali su stvaranje RS-a u kruhu od „normalnog“ brašna ječma i ječmenog brašna s visokim udjelom amiloze. Udio RS-a u kruhu od brašna s visokim udjelom amiloze bio je viši (Akerberg i sur. 1998).

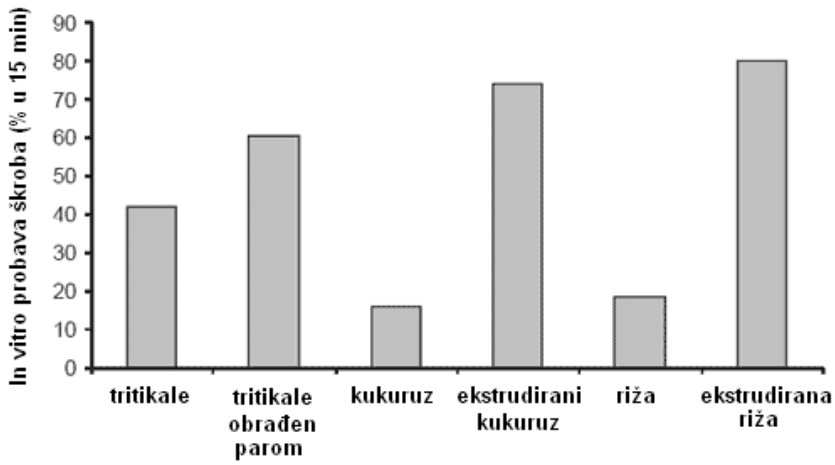
Prisutnost *vode* je značajni činitelj koji ima veliki utjecaj na stvaranje RS-a, a najveći prinos RS-a ostvaruje se pri omjeru škrob : voda = 1: 3,5 (Sajilata i sur. 2006).

Poznato je da *interakcije škroba sa drugim sastojcima* hrane također utječu na prinos RS-a. Tako interakcije s proteinima smanjuju njegov prinos, kao i prisutnost iona i šećera (glukoza, maltoza, saharoza, riboza) (Escarpa i sur., 1997). Prisustvo lipida također utječe na prinos i svojstva RS-a. Dok su Adamu (2001), Szczodrak i sur., te Eerlingen i sur. (1994) utvrdili smanjenje prinosa RS-a dodatkom lipida, Sajilata i sur. (2005) uspjeli su dobiti komplekse čiste amiloze iz krumpira i oleinske kiseline koji su izrazito otporni na enzimsku degradaciju (Adamu, 2001; Sajilata i Singhal, 2005). S druge strane, Crowe i sur. (2000) dodatkom laurinske, miristinske, oleinske kiseline i lizolecitina smanjili su stupanj enzimske hidrolize sa oko 80 % na oko 50 %.

Uvjeti procesiranja također utječu na stvaranje RS-a. Tijekom polaganog pečenja kruha djelovanjem enzima prisutnih u tijestu dolazi do linearizacije amilopektina i porasta udjela RS-a. Akerberg i sur. (1998) u svom radu zaključuju kako polagano pečenje kruha pri nižim temperaturama više pogoduje stvaranju RS-a jer se dugo održava temperatura oko 100 °C koja pogoduje retrogradaciji amiloze. Sagum i Arcot (2000) ustanovili su da se kuhanjem riže povećava probavljivost škroba, no da se ipak i zadržava zamjetna količina RS, naročito ukoliko je riža bogata amilozom. Probavljivost škroba povećava se i kuhanjem krumpira, no čuvanjem pire krumpira na povišenoj temperaturi i uzastopnim postupcima kuhanja i hlađenja udio RS povećava se u odnosu na udio u svježe kuhanom krumpiru (Gormley i Walshe, 1999). Na probavljivost škroba krumpira utječe i način termičke obrade (kuhanjem se postiže veća probavljivost nego prženjem), ali i veličina i oblik krumpira (čips se probavlja brže od prženih krumpira) (Garcia-Alonso i Goni, 2000).

Mahadewamma i Tharanthan (2004) ispitali su utjecaj termičke obrade na probavljivost škroba leguminoza. Najveći prinos rezistentnog škroba postigli su kuhanjem (povećanje udjela RS do 9 puta), zatim kuhanjem pod tlakom (do 8 puta) te prženjem u ulju (do 3 puta). Dodatkom mliječne i askorbinske kiseline nakon kuhanja značajno su povećali udio rezistentnog škroba, dok su začini dodani prije kuhanja, kao i dodatak lipida, smanjili njegov udio.

O utjecaju ekstruzije na probavljivost škroba (**Slika 31**) postoje kontradiktorne informacije.



Slika 31 Probavljivost škroba sirovih i obrađenih žitarica, mjereno *in vitro*, enzimskom hidrolizom škroba u suvišku enzima α-amilaze i amiloglukozidaze tijekom 15 minuta pri 39 °C (www.engormix.com/starch_digestion_in_the_e_ar...).

Dok jedni znanstvenici tvrde da se udio RS3 postupkom ekstruzije ne mijenja ili čak smanjuje (Faraj i sur. 2004; Parchure i Kulkarni 1997), drugi su postigli povećanje udjela RS3 (Unlu i Faller 1998; Huth i sur., 2000). Sa sigurnošću se može reći da će do povećanja udjela RS3 ekstruzijom doći inkorporiranjem dodataka ili zahvaljujući uvjetima skladištenja nakon postupka ekstruzije (Faraj i sur., 2004).

Osim upotrijebljenih sastojaka i uvjeta procesiranja, na probavljivost škroba utječu i *vrijeme i uvjeti skladištenja*. Općenito gledajući, udio RS povećava se tijekom skladištenja zbog retrogradacije i restrukturiranja molekula škroba, procesa naročito prisutnih u pekarskim proizvodima (kruh). Brzina stvaranja RS ovisi o uvjetima skladištenja.

Hlađenjem se smanjuje probavljivost škroba, dok zamrzavanje ima zanemarivi utjecaj (Guraya i sur., 2001a). Fermentacijom brašna sirka probavljivost škroba raste što se može objasniti promjenama u kemijskom sastavu endosperma čime škrob postaje dostupniji enzimima (Elkhalifa i sur., 2004).

Osim uvjeta skladištenja, na udio RS utječe i vrijeme. Tijekom sedmodnevnog skladištenja udio RS prva četiri dana u kukuruznom kruhu raste da bi sedmoga dana pao, i to u uzorcima skladištenima pri 20 °C, pri 4 °C i pri – 20 °C. Ova pojava može se objasniti strukturalnim promjenama u kruhu (Niba, 2003). Značajan i brz porast sadržaja RS zabilježen je i u tortiljama tijekom skladištenja 2 do 4 sata i to uglavnom zbog retrogradacije amiloze. RS vrijednosti održavaju se na istoj razini daljnjih 24 do 48 sati skladištenja, da bi se nakon 72 sata opet povećale (Islas-Hernandez i sur., 2006).

Udio RS značajno se povećava u gotovoj i polugotovoj hrani tijekom četveromjesečnog skladištenja pri sobnoj temperaturi zbog složenih interakcija među sastojcima različitih sirovina i utjecaja sirovina s visokim udjelom RS na ostale sastojke

(Namratha i sur., 2002). Sadržaj RS-a u želatiniziranim uzorcima kukuruza, riže i palmine riže također je rastao tijekom skladištenja pri nižim temperaturama, no skladištenje ne utječe na probavljivost škroba oljuštenih leguminoza.

2.6.3. Proizvodnja i upotreba rezistentnog škroba

U komercijalnoj proizvodnji rezistentnog škroba (RS tip 4) kao sirovina se najčešće koristi škrob s visokim udjelom amiloze zbog svoje sklonosti retrogradaciji. Od početka 1990-tih, kada je započela komercijalna proizvodnja RS-a, patentirani su različiti postupci modifikacije: od retrogradacije škroba i enzimske hidrolize bočnih lanaca uz ekstruziju ili sušenje, do fosforilacije i zagrijavanja škroba u prisutnosti anorganskih soli. Esterifikacija limunskom kiselinom, uzastopna sinereza i pirokonverzija također se koriste za dobivanje rezistentnog škroba.

Cilj modifikacije je dobiti škrob ne samo otporan na enzimsku hidrolizu, nego i stabilan pri povišenoj temperaturi, pri različitim udjelima vode i tijekom skladištenja. Iako se rezistentni škrob može proizvesti i iz banane, brašna prosa, obrađene riže i prosa, škroba krumpira, tapioke, pšenice, škroba manga ili graška, najbolji prinosi ostvaruju se korištenjem kukuruznog škroba s visokim udjelom amiloze kao polazne sirovine (Haralampu, 2000; Thompson, 2000; Sajilata i sur. 2006).

Rezistentni škrobovi dobiveni modifikacijom primjenjuju se prvenstveno u pekarskoj industriji za dobivanje kruha i ostalih pekarskih proizvoda kako bi im se povećao udio vlakana i smanjila energetska vrijednost. „Obična“ vlakna, naime, u proizvodnji mogu stvarati probleme jer vežu velike količine vode. Izvori vlakana mogu sadržavati i ulja i masti koja ograničavaju trajnost proizvoda u kojima se koriste.



Slika 32 Sklonost rezistentnog škroba (komercijalni naziv: Novelose 240/260 i Novelose 330) vezanju vode u usporedbi s drugim tvarima (Engels, 2003)

Rezistentni škrob veže manje vode od „običnih“ vlakana pa se za nju ne natječe s ostalim sastojcima hrane (**Slika 32**). Time se olakšava prerada jer se smanjuje ljepljivost proizvoda. Osim toga, granule rezistentnog škroba su male pa se on lako uklapa u matriks namirnice.

Hrana proizvedena uz dodatak rezistentnog škroba može se deklarirati kao hrana s visokim udjelom vlakana. Zbog niske kalorijske vrijednosti RS se može koristiti kao sredstvo za povećanje volumena u proizvodima sa smanjenim udjelom šećera ili masti. U odnosu na proizvode s dodatkom „običnih“ vlakana, proizvodi s dodatkom RS-a imaju bolji okus, izgled i teksturu.

Osim u pekarskoj industriji, RS se može koristiti i u proizvodnji majoneze, margarina, kolača, keksa, pahuljica za doručak, tjestenine, napitaka za sportaše, termoreverzibilnih gelova, gelova visoke čvrstoće, vodonepropusnih filmova, kao sredstvo za zgušnjavanje i želiranje itd.

Upotreba rezistentnog škroba može imati prednosti i u proizvodnji hrane za osobe s posebnim dijetetskim potrebama. Rezistentni škrob uzrokuje mali odgovor sekrecije inzulina, što je povoljno u prehrani dijabetičara. Također, pacijenti koji imaju potrebu za hranom specifične teksture često ne unose dovoljne količine vlakana. Rezistentni škrob može se koristiti kako bi se u takvim namirnicama povećao udio vlakana bez utjecaja na okus i teksturu proizvoda.

2.6.4. Metode određivanja udjela rezistentnog škroba

Udio rezistentnog škroba se, kako u biljnom materijalu, tako i u škrobu može odrediti metodama *in vitro* i *in vivo.*

In vitro metode baziraju se na oponašanju ljudske probave. Zajednička obilježja tih metoda su „uklanjanje“ probavljivog škroba djelovanjem amilaza te određivanja udjela neprobavljive frakcije nakon otapanja u KOH (Sajilata i sur., 2006). Razlike su u stajalištu s kojeg se rezistentni škrob promatra – kao sastojak ukupnih dijetalnih vlakana ili kao sastojak ukupnog škroba.

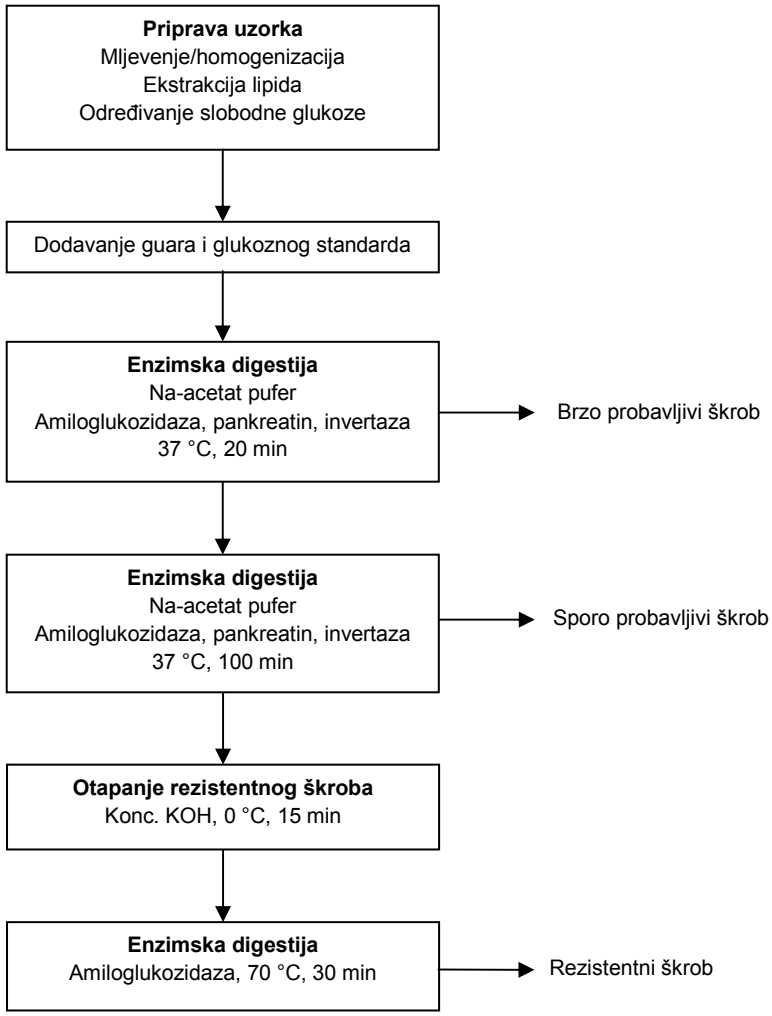
Sambucetti i Zuleta (1996) primijenili su AOAC metodu 985.29 za određivanje ukupnih dijetalnih vlakana u određivanju udjela rezistentnog škroba. Iz uzoraka riže su prema navedenoj metodi izdvojili ukupna dijetalna vlakna, nakon čega su u izdvojenim vlaknima odredili udio škroba prema metodi za ukupni škrob Asp-a i sur. Utvrdili su da gotovo polovinu dijetalnih vlakana riže čini rezistentni škrob.

AOAC metoda 991.43 (Metoda po Prosky-ju) novija je metoda za određivanje ukupnih dijetalnih vlakana. Obuhvaća enzimsku razgradnju lipida, proteina i probavljivih ugljikohidrata te gravimetrijsko određivanje neprobavljive frakcije, čiji je sastavni dio i

rezistentni škrob. Nedostatkom metode smatra se amilolitičko cijepanje škroba pri 95 – 100 °C, što ne odgovara uvjetima probave u ljudskom organizmu te prividno smanjuje udio rezistentnog škroba u uzorku. Ovu metodu Shin i sur. (2004) primijenili su u određivanju probavljivosti umreženoga škroba te Mun i Shin (2006) u određivanju probavljivosti škroba modificiranog različitim postupcima.

Kim i sur. (2003) detaljno su opisali metodu određivanja rezistentnog škroba enzimsko-gravimetrijskom metodom, također baziranoj na određivanju ukupnih dijetalnih vlakana. Nakon djelovanja termostabilne amilaze pri 95 °C, na uzorak se djeluje amiloglukozidazom pri 60 °C te se gravimetrijski određuje neprobavljeni škrob.

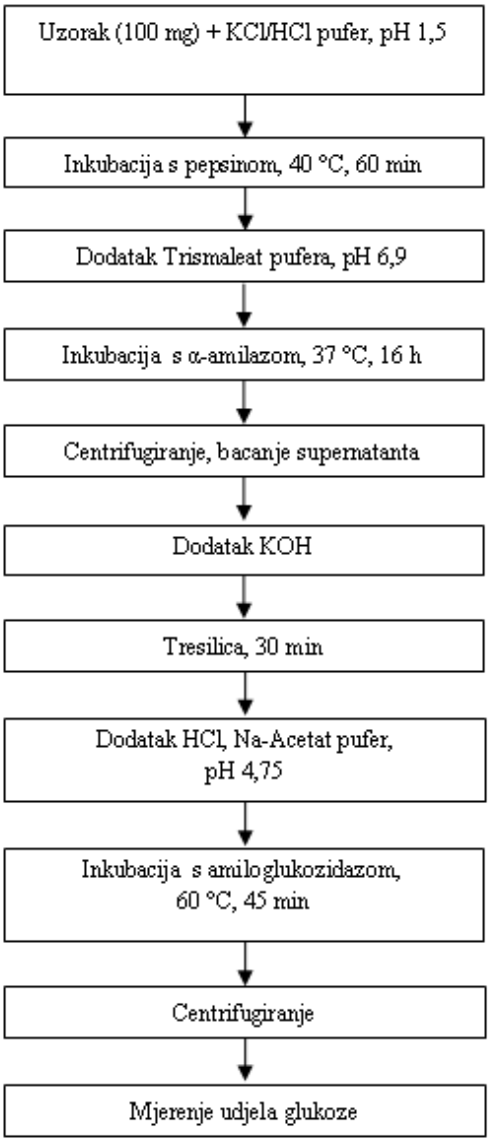
Prema Englyst-ovoj metodi (1992) određuje se udio tri frakcije škroba: brzo probavljivi, sporo probavljivi i rezistentni (**Slika 33**). Stoga ova metoda obuhvaća mjerenje brzine i stupnja oslobađanja glukoze djelovanjem amilolitičkih enzima u *in vitro* uvjetima kontroliranog pH, temperature, viskoznosti i miješanja (Englyst i sur., 2007).



Slika 33 Shematski prikaz Englyst-ove metode određivanja rezistentnog škroba (Haralampu, 2000)

Brzo probavljivi škrob se, prema ovoj metodi, određuje mjerenjem količine glukoze oslobođene nakon 20 minuta inkubacije uzorka sa želučanom amilazom i amiloglukozidazom pri 37 °C, a sporo probavljivi nakon 100-minutne inkubacije pri istim uvjetima. Ukupni škrob mjeri se preko količine enzimski oslobođene glukoze nakon želatinizacije škroba pri 100 °C i dispergiranja rezistentnog škroba u KOH (Englyst i sur., 2007; Sagum i Arcot, 2000).

Guraya i sur. (2001a, 2001b) su određivali udio brzo probavljivog, sporo probavljivog i rezistentnog škroba u uzorcima čistih škrobova suspendiranih u fosfatnom puferu. Spektrofotometrijski (pri 540 nm) su pratili količinu oslobođene maltoze djelovanjem α-amilaze (izolirane želuca iz svinje) u vremenu potrebnom da se probavi sav probavljivi škrob. Rezistentni škrob iskazali su kao razliku probavljenog i ukupnog škroba.



Slika 34 Shematski prikaz određivanja udjela rezistentnog škroba metodom po Goni-ju i sur. (1996) (Namratha i sur., 2002.)

Metoda po Goni-ju i sur. (1996) bazira se na uklanjanju proteina s pepsinom (pri 40 °C tijekom 1 h) i probavljivog škroba α-amilazom (pri 37 °C, tijekom 16 h) iz uzorka. Po završetku reakcije neprobavljeni ostatak dispergira se u KOH, te inkubira s amiloglukozidazom 30 minuta pri 60 °C. Oslobođena glukoza određuje se reakcijom s glukoza oksidaza/peroksidaza reagensom (Goni i sur., 1996; Rosin i sur., 2002) (**Slika 34**).

AOAC metoda 2002.02 (AACC metoda 32-40; metoda po McCleary-ju i Monaghan-u, 2002.) razvijena je za određivanje rezistentnog škroba, kao sastojka ukupnog škroba u uzorku. Uzorci se inkubiraju sa želučanom α-amilazom tijekom 16 sati pri 37 °C. Reakcija se prekida ispiranjem s etanolom. Supernatanti koji se dobiju centrifugiranjem nakon ispiranja koriste se za određivanje udjela probavljivog škroba, a talog se resuspendira u KOH te se iz njega određuje udio rezistentnog škroba koji se hidrolizira do glukoze pomoću amiloglukozidaze. Oslobođena glukoza se nakon reakcije s glukoza oksidaza/peroksidaza reagensom određuje spektrofotometrijski. Ukupni škrob je suma rezistentnog i probavljivog škroba. Metoda je primjenjiva za sve uzorke koji sadrže više od 2 % rezistentnog škroba, a standardna greška je ± 5 %. Za uzorke koji sadrže manje od 2 % rezistentnog škroba standardna greška je veća .

Ovu metodu uspješno su primijenili Faraj i sur. (2004) u određivanju utjecaja ekstruzije na probavljivost škroba ječmenog brašna, Niba (2003) u istraživanju utjecaja uvjeta skladištenja na probavljivost škroba kukuruznog kruha te Themeier i sur. (2005) u ispitivanju rezistentnog škroba tipa 2 u različitim biljnim materijalima.

In vivo metode provode se na ljudima ili životinjama. Ljudima se intubacijom ileostomnih vrećica može uzimati uzorak iz terminalnog dijela ileuma ili im se mjeri glikemijski indeks ili količina vodika u izdahu. Istraživanja *in vivo* usmjerena su više na ispitivanje fiziološkog utjecaja rezistentnog škroba, a ne na određivanje njegovog udjela u pojedinim namirnicama.

2.6.5. Utjecaj rezistentnog škroba na zdravlje

Brojne studije na štakorima, miševima i ljudima pokazale su da rezistentni škrob ima svojstva vlakana. Iako ne utječe na tjelesnu masu, RS povećava volumen stolice (izmeta) (De Schrijver i sur., 1999). Dok kemijska ispitivanja pokazuju da se rezistentni škrob ubraja u netopljiva vlakna, fiziološki učinci pokazuju svojstva topljivih vlakana (Sajilata i sur., 2006) jer u debelom crijevu, za razliku od netopljivih vlakana, RS podliježe fermentaciji.

Produkt fermentacije su kratkolančane masne kiseline, organske kiseline sa 1 do 6 ugljikovih atoma (prvenstveno octena, propionska i maslačna) koje imaju pozitivan utjecaj na rad crijeva (Cook i Sellin, 1998; Cresci i sur., 1999; Schwiertz i sur., 2002; Wang i sur., 2002). Kratkolančane masne kiseline u crijevima, naime, potiču apsorpciju kalcija i magnezija

(Lopez i sur., 2000) te pozitivno utječu na rast crijevne mikroflore (Jenkins i Kendall, 2000; Wang i sur., 2002) i metabolizam žučnih soli, odnosno smanjenje žučnog kamenca (Sajilata i sur., 2006). Ujedno smanjuju i pH crijeva te tako mijenjaju mikrobnu populaciju, djelujući prebiotički (Topping i sur., 2003). Stoga se smatra da RS pomaže u prevenciji od raka debeloga crijeva (Champ i sur., 1998; Haralampu, 2000; Topping i sur., 2003).

Kako RS stimulira rast bakterija *Bifidobacterium, Lactobacillus, Eubacterium, Bacteroides*, *Enterobacter* i *Streptococcus*, ujedno inhibira rast sojeva *Escherichia coli, Clostridium difficile* i anaerobnih bakterija koje reduciraju sumpor i sulfat. Osim toga, potiče i obnavljanje sluznice crijeva te tako pomaže u liječenju upalnih procesa.

Robertson i sur. (2003) Heacock i sur. (2004) te Yamada i sur. (2005) dokazali su da prehrana s povećanim udjelom RS-a već nakon 24 sata mijenja osjetljivost inzulina i metabolizam masnih kiselina, što smanjuje razinu glukoze u krvi. Za ovo smanjenje djelomično je odgovoran i povećani udio propionata koji, poput inzulina, stimulira glikolizu aktivirajući glikogen sintazu i smanjujući glukoneogenezu. Opskrba jetre masnim kiselinama, ß-oksidacija i ketogeneza također se smanjuju pojačanim unosom RS-a (Robertson i sur., 2003). Sve ovo ima pozitivan utjecaj na očuvanje zdravlja, a postoje i mogućnosti primjene RS-a u dijetetičkoj terapiji dijabetesa i smanjenja pojave žučnog kamenca.

Ahmed i sur. (2000) ispitivali su utjecaj rezistentnog škroba na rad debelog crijeva u ljudi. Istraživanje na zdravim pojedincima pokazalo je da rezistentni škrob uzrokuje značajni porast proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina u debelom crijevu te značajno sniženje pH stolice, te da rezistentni škrob može pomoći u smanjenju rizika oboljenja od raka debelog crijeva. Tomlin i Read (1990), međutim, nisu utvrdili značajan utjecaj rezistentnog škroba niti na stolicu, niti na aktivnost debelog crijeva. Yamada i sur. (2005) u svom su istraživanju zaključili da rezistentni škrob značajno inhibira postprandijalni porast glukoze i inzulina u krvi nakon konzumacije kruha. Granfeldt i sur. (2006) su zaključili da rezistentni škrob ne utječe na indeks glikemije.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Definiranje zadatka

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

1. Karakterizirati škrob iz dviju domaćih sorti pšenice: *Golubica* i *Srpanjka*;
2. Kemijskim postupkom modifikacije pripraviti različite modifikate izoliranih škrobova:
    a. umrežavanjem epiklorhidrinom,
    b. modifikacijom smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida.
3. Istražiti svojstva modificiranih škrobova.

Istraživanje je obuhvatilo:

- Izolaciju škroba iz domaćih sorti pšenice *Golubica* i *Srpanjka*.
- Modifikaciju izoliranih škrobova
    - epiklorhidrinom u udjelima 0,1, 0,3 i 0,5 % s. tv. škroba;
    - smjesama dikarboksilnih kiselina (adipinska, azelainska, glutarna i jantarna) i acetanhidrida u udjelima 4, 6 i 8 % s. tv. škroba.
- Određivanje čistoće nativnog škroba, odnosno udjela proteina metodom po Kjeldahlu, pepela žarenjem na 550 °C, celuloze metodom po Scharrer-Kürchneru i masti metodom po Soxletu. Nativnim i modificiranim škrobovima određen je udio škroba metodom po Ewersu.
- Određivanje stupnja supstitucije škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina (adipinska, azelainska, glutarna i jantarna) i acetanhidrida u udjelima 4, 6 i 8% s. tv. škroba.
- Određivanje promjena u kemijskoj strukturi škroba nakon modifikacije primjenom FT-IR-a.
- Određivanje svojstava želatinizacije (temperaturno područje i entalpija želatinizacije) nativnih i modificiranih škrobova primjenom diferencijalne motridbene kalorimetrije (DMK, Mettler Toledo DSC 822^e).
- Određivanje stabilnosti gelova nativnih i modificiranih škrobova pomoću DMK, praćenjem retrogradacije nakon 7 i 14 dana čuvanja pri 4 °C. Mjereni su temperaturno područje taljenja nastalih kristala škroba i entalpija retrogradacije koja je proporcionalna udjelu retrogradiranog škroba.
- Određivanje svojstava paste primjenom Brabenderovog mikro viskoamilografa:
    - Početna temperatura želatinizacije škroba.
    - Maksimalna viskoznost (označava maksimalnu vrijednost viskoznosti paste nastale želatinizacijom škroba). Vrijednost se izražava u *Brabenderovim jedinicama* (BU).
    - Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 92 °C.
    - Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C.

- Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 50 °C.
- Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 15 minuta miješanja pri 50 °C. Označava stabilnost škrobne paste pri 50 °C.
- *Kidanje*. Izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C od vrijednosti viskoznosti vrha. Označava stabilnost škrobne paste tijekom miješanja pri visokim temperaturama.

- Određivanje teksture gelova nativnih i modificiranih škrobova (čvrstoća, adhezija i sila pucanja gela) primjenom analizatora teksture TA.XT.
- Određivanje kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti škroba, boje škroba, bistroće paste te stabilnosti paste tijekom ciklusa zamrzavanje-odmrzavanje.
- Određivanje udjela rezistentnog škroba u nativnim i modificiranim škrobovima.

Provedena je odgovarajuća statistička obrada dobivenih rezultata.

3.2. Materijali

Materijali korišteni u istraživanju:

- Pšenica sorte *Golubica*, Poljoprivredni institut Osijek, žetva 2008.
- Pšenica sorte *Srpanjka*, Poljoprivredni institut Osijek, žetva 2008.
- Acetanhidrid (p. a.), Kemika, Zagreb, Hrvatska.
- Adipinska kiselina (za sinteze), Merck, Njemačka.
- Azelainska kiselina (za sinteze), Merck, Njemačka.
- Glutarna kiselina (za sinteze), Merck, Njemačka.
- Jantarna kiselina (za sinteze), Merck, Njemačka.
- Kit za enzimsko određivanje udjela rezistentnog škroba, Megazyme, Irska.
- Kit za enzimsko određivanje udjela amiloze, Megazyme, Irska.
- Kalij-bromid za IR spektroskopiju, Carlo Erba Reagenti SpA, Italija.

3.3. Metode

3.3.1. Analiza kemijskog sastava pšenice

Pomoću Infratec Grain Analyzer-a (WH481523) dobivaju se podaci o udjelu vode u zrnu, sedimentaciji, tvrdoći zrna, hektolitarskoj masi, udjelu škroba, proteina i vlažnog glutena. Kalibraciju uređaja provodi proizvođač, a mjerenja se baziraju na činjenici da sastojci zrna žitarica apsorbiraju elektromagnetska zračenja u području od 850 do 1050 nm.

Vlažni gluten je analiziran i na Glutomatic sustavu Perten 2200. Glutomatic sustav sastoji se od tri dijela: jedinice za zamjes i ispiranje glutena, centrifuge i jedinice za sušenje glutena. Analizom se dobiju podaci o udjelu vlažnog i suhog glutena te vrijednost za gluten indeks.

Vlažni gluten se određuje ispiranjem (5 minuta) pšeničnog brašna (10 g) 2 %-tnom otopinom NaCl. Nakon ispiranja gluten se centrifugira na specifičnom situ. Frakcija koja je prošla kroz otvore na situ važe se, a dio koji je zadržan u situ sakuplja se i pridodaje masi. Dobivena je količina vlažnog glutena. Vlažni gluten suši se pri 150 °C tijekom 4 minute u jedinici za sušenje te se važe.

Gluten indeks računa se prema sljedećoj jednakosti:

$$Gluten\ indeks = \frac{ostatak\ glutena\ na\ situ\ /\ \mathrm{g}}{ukupni\ gluten\ /\ \mathrm{g}} \times 100$$

Gluten indeks kreće se u rasponu 0 – 100. Nizak gluten indeks označava slabi (meki) gluten, dok visoki gluten indeks označava čvrsti (kratki) gluten.

3.3.2. Izolacija škroba iz pšenice

Pšenica je samljevena u laboratorijskom mlinu (Ika-Werke M-20) tijekom 45 sekundi uz prosijavanje preko sita za domaćinstva. Ostatak na situ je premljeven te iznova prosijan. Dobiveno brašno suspendirano je u 0,25 % NaOH miješanjem propelerskom miješalicom (Tehtnica Železniki UN405) pri 1500 rpm tijekom 60 minuta pri sobnoj temperaturi. Dobivena suspenzija centrifugirana je pri 3000 rpm tijekom 5 minuta (Centrifuga IEC Centra MP4R). Supernatant je oddekantiran, gornji sivi sloj proteina je uklonjen špatulom, a škrobni talog ispran destiliranom vodom preko grubog i finog sirarskog platna. Dobiveni filtrat ostavljen je stajati dva sata kako bi se istaložio škrob. Nakon dekantiranja tekućeg dijela, škrob je suspendiran u destiliranoj vodi te je centrifugiran pri 3000 rpm tijekom 5 minuta, uz uklanjanje proteinskog sloja. Ovaj postupak suspendiranja i centrifugiranja ponavljan je do prestanka stvaranja proteinskog sloja na talogu škroba. Pročišćeni škrob je neutraliziran, još jednom centrifugiran i osušen na zraku te mu je određen udio suhe tvari sušenjem pri 130 °C tijekom 90 minuta.

3.3.3. Analiza kemijskog sastava nativnog škroba

Kako bi se odredila čistoća škroba izoliranog iz pšenice, određen je udio proteina (metodom po Kjeldahlu), pepela (žarenjem na 550 °C), udio celuloze (metodom po Scharer-Kürschneru) te udio masti (metodom po Soxhletu).

3.3.4. Određivanje udjela amiloze u škrobu pomoću kita Megazyme K-AMYL 04/06

Uzorci škroba u potpunosti su dispergirani zagrijavanjem u dimetilsulfoksidu (DMSO). Lipidi su uklonjeni precipitacijom škroba u etanolu i oslobađanjem precipitiranog škroba. Nakon otapanja precipitiranog uzorka u otopini acetat/soli, amilopektin je zasebno precipitiran dodatkom concanavalina A (Con A) i centrifugiranjem. Amiloza je u alikvotu supernatanta enzimski hidrolizirana do glukoze koja se analizira reagensom glukoza oksidaza/peroksidaza. Ukupni škrob je iz posebnog dijela otopine acetat/sol također hidroliziran do glukoze te se kolorimetrijski mjeri uz glukoza oksidazu/peroksidazu. Udio amiloze u uzorku škroba određuje se kao omjer GOPOD apsorbance na 510 nm supernatanta uzorka precipitiranog sa Con A i ukupnog škroba.

Udio amiloze u škrobu izračunat je prema sljedećoj jednakosti:

$$Amiloza\ /\ \% = \frac{\text{Apsorbanca Con A supernatanta}}{\text{Apsorbanca alikvota za ukupni škrob}} \times \frac{6{,}15}{9{,}2} \times 100$$

Gdje su 6,15 i 9,2 faktori razrjeđenja za ekstrakte Con A i ukupnog škroba.

3.3.5. Modifikacija škroba epiklorhidrinom

Pripravljeno je 150 mL 0,5%-tne otopine NaOH u kojoj je uz miješanje na magnetskoj miješalici (300 rpm) pri sobnoj temperaturi suspendirano 100 g škroba (suhe tvari). Nakon 30 minuta miješanja suspenzije dokapano je 0,1 mL, 0,3 mL ili 0,5 mL epiklorhidrina te je miješanje pri istim uvjetima nastavljeno 5 sati.

Reakcija škroba s epiklorhidrinom prekinuta je podešavanjem pH na 5,0 s 1M HCl te je suspenzija centrifugirana pri 3000 rpm tijekom 5 minuta kako bi se izdvojio talog škroba. Izdvojeni talog je ispiran destiliranom vodom uz centrifugiranje (3000 rpm, 5 min) do obezbojenja supernatanta i prestanka stvaranja želatinoznog taloga na površini škroba. Suspenzija škroba je neutralizirana, još jednom centrifugirana te je izdvojeni modificirani škrob osušen na zraku.

Modificiranom škrobu određen je udio suhe tvari (sušenjem pri 130 °C, 90 min).

3.3.6. Modifikacija škroba smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida

Modifikacija škroba provedena je smjesama dikarboksilnih kiselina (adipinske, azealinske, glutarne i jantarne) i acetanhidrida u omjeru 1:30.

Smjesa kiseline i acetanhidrida pripravljena je suspendiranjem:

a) 0,1290 g kiseline u 3,8710 g acetanhidrida za modifikaciju u udjelu 4 %;
b) 0,1935 g kiseline u 5,8065 g acetanhidrida za modifikaciju u udjelu 6 %;
c) 0,2581 g kiseline u 7,7419 g acetanhidrida za modifikaciju u udjelu 8 %.

U 145 mL destilirane vode suspendirano je 100 g škroba (suhe tvari) te je suspenzija homogenizirana miješanjem na magnetskoj miješalici (300 rpm) tijekom 30 minuta.

pH suspenzije škroba u vodi podešen je na 9,0 dokapavanjem 1M NaOH te je, uz održavanje pH oko 9, dokapavana smjesa kiseline i acetanhidrida. Po završetku dodavanja reagensa za modifikaciju škrobna suspenzija miješana je još 30 minuta, tako da je ukupno vrijeme trajanja reakcije iznosilo oko 2 sata.

Reakcija je prekinuta podešavanjem pH na 5,0 s 1 M HCl te je suspenzija centrifugirana pri 3000 rpm tijekom 5 minuta kako bi se izdvojio talog škroba. Izdvojeni talog je ispiran destiliranom vodom uz centrifugiranje (3000 rpm, 5 min) do prestanka stvaranja želatinoznog sloja na površini taloga škroba i obezbojenja supernatanta. Suspenzija škroba je neutralizirana, još jednom centrifugirana te je izdvojeni modificirani škrob osušen na zraku. Modificiranom škrobu određen je udio suhe tvari (sušenjem pri 130 °C, 90 min).

3.3.7. Određivanje čistoće škroba

Čistoća škroba utvrđena je određivanjem udjela škroba metodom Ewersu. Uzorak je zagrijavan na vrijućoj vodenoj kupelji uz dodatak 1,124 % HCl te je brzo ohlađen nakon čega mu je dodana fosforvolframova kiselina. Nakon filtracije preko gusto nabranog filter papira mjerena je optička rotacija uzorka pomoću automatskog digitalnog polarimetra (P3002RS, Krüss Optronic, Njemačka).

Polarimetar pronalazi optičku nultu točku uzorka. Na-lampa emitira svjetlost 589 nm koja prolazi kroz polarizacijski uređaj i modulator, a zatim prolazi kroz uzorak, filter i pada na fotomultiplier. Nakon uspostave nulte točke, rotacija polarizatora pretvara se u digitalni signal koji se prikazuje na displeju.

Udio škroba u uzorku izračunat je prema jednakosti:

$$udio\ škroba\ /\% = \frac{10000 \times \alpha}{[\alpha]_D^{20} \times L \times m}$$

α, očitani kut skretanja uzorka

$[\alpha]_D^{20}$ specifični kut skretanja za škrob pšenice (182,7)

L dužina polarimetrijske cijevi (2 dm)

m masa uzorka u gramima

Dobiveni rezultati preračunati su na udio suhe tvari.

3.3.8. Određivanje stupnja supstitucije u škrobovima modificiranim smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida

Stupanj supstitucije u škrobovima modificiranim smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida određen je preko % acetiliranja, pošto je udio dikarboksilnih kiselina vrlo nizak te značajno niži od udjela acetanhidrida u smjesi za modifikaciju, pa se može zanemariti njihov utjecaj u formuli za izračunavanje DS.

Postotak acetiliranja određen je metodom koja je primijenjena u radu Babića (2007). U Erlenmeyerovu tikvicu odvagano je 5 g s. tv. škroba, dodano je 50 mL vode te je suspenzija dobro promiješana. U suspenziju je dokapavan 0,1 M NaOH uz indikator fenolftalein do pojave blijedo ružičaste boje. Nakon toga, dodano je 25 mL 0,45 M NaOH, tikvica je začepljena gumenim čepom te je suspenzija miješana sat vremena na magnetskoj miješalici. Po završetku miješanja suvišak NaOH titriran je sa 0,2 N HCl do obezbojenja.

Za slijepu probu je istim postupkom pripravljen odgovarajući nativni škrob.

Postotak acetiliranja *%Acet* [%] izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\%\,Acet = \frac{(V_{HCl,\,uzorak} - V_{HCl,\,slijepa}) \times N_{HCl} \times 0{,}043 \times 100}{w}$$

$V_{HCl,\,uzorak}$, volumen 0,2 N HCl utrošen za titraciju uzorka / mL

$V_{HCl,\,slijepa}$, volumen 0,2 N HCl utrošen za titraciju slijepe probe / mL

N_{HCl}, normalitet HCl za titraciju (0,2 N)

w, masa suhe tvari uzorka (5 g).

Stupanj supstitucije DS izračunat je prema sljedećoj formuli:

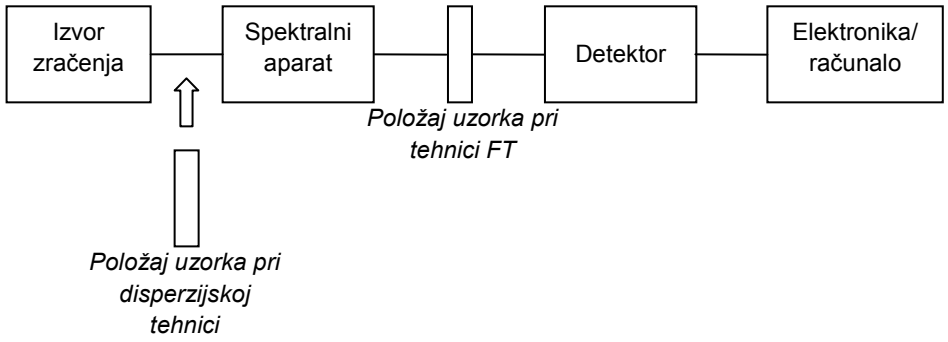
$$DS = \frac{162 \times \%\,Acet}{4300 - 42 \times \%\,Acet}$$

3.3.9. Određivanje strukture škroba primjenom FT-IR uređaja

Spektroskopija infracrvenog zračenja (IR spektroskopija) koristi infracrveno zračenje kao medij proučavanja. Infracrveno zračenje ili infracrvena svjetlost (lat. *infra* = "ispod"; kratica IR od eng. *infrared)* obuhvaća elektromagnetsko zračenje s valnim duljinama većim od valne duljine vidljive crvene svjetlosti, a manjim od valne duljine radiovalova (750 nm do 3 mm, odnosno od $4{,}5\times10^{14}$ do 10^{12} Hz). Te valove emitiraju zagrijana tijela i neke molekule kada se nađu u pobuđenom stanju (Guntzler i Gremlich, 2006).

Molekule infracrveno zračenje emitiraju zahvaljujući svojim vibracijama. Apsorbiranjem infracrvenog zračenja molekulske vibracije se pobuđuju pa molekule počinju jače vibrirati. Svaka molekula ima karakteristične vibracije koje ovise o čvrstoći veze i masi dijela molekule što vibrira. Ta činjenica daje infracrvenoj spektroskopiji velike analitičke mogućnosti jer je moguće odrediti od kojih se funkcionalnih skupina molekula sastoji. Kako svaka molekula ima različiti infracrveni spektar, infracrvena spektroskopija se koristi pri identifikaciji tvari (Guntzler i Gremlich, 2006).

Konstrukcija infracrvenog spektrometra shematski je prikazana na **Slici 35**. Osnovna podjela infracrvenih spektrometara je na nedisperzijske, kod kojih nije moguća nikakva varijabilna sekcija valnih duljina, te na disperzijske i Fourier-transform-(FT) spektrometre (Guntzler i Gremlich, 2006).



Slika 35 Shematski prikaz infracrvenog spektrometra

Izvori zračenja za pobuđivanje uzoraka u IR spektroskopiji su tzv. crna tijela ili Planckovi uređaji za zračenje. Maksimum emitiranog zračenja crnog tijela je ovisan o temperaturi, pa se za daleko, srednje i blisko zračenje koriste različiti izvori. Tako se za srednje IR zračenje koristi Nernstov štapić, a za daleko IR područje visokotlačna živina žarulja. U novije vrijeme sve se veći značaj pridaje laserima kao izvorima zračenja, poput He-Ne lasera kod FT-spektrometara (Guntzler i Gremlich, 2006).

Detektori u IR spektroskopiji mogu biti termički ili fotoelektrični.

U FT spektrometru dolazi do spektralnog razlaganja pomoću interferometra koji omogućava modulaciju zračenja ovisno o valnoj duljini. Najčešće su to Michelsenovi interferometri kod kojih se interferencija dviju zraka prevodi u spektralnu informaciju pomoću matematičke Fourierove transformacije (Guntzler i Gremlich, 2006).

Prednost FT-IR metode u odnosu na konvencionalnu spektroskopiju prvenstveno je u tome što sve frekvencije koje dolaze iz IR izvora istovremeno padaju na detektor što rezultira znatnim poboljšanjem omjera signal/šum. (Kod konvencionalne spektroskopije samo jedan mali dio zračenja koje je ušlo u monokromator, pada na detektor.) To je tzv. multipleksna ili Fellgettova prednost tehnike FT-IR (Guntzler i Gremlich, 2006).

Sljedeću prednost predstavlja činjenica da aparature u obliku križa, što se primjenjuju u FT-IR spektrometrima, zbog svoje povećane površine propuštaju najmanje šest puta više zračenja nego linearna pukotina u disperzijskim uređajima – to je Jacquintova ili prednost prolaza (throughput) (Guntzler i Gremlich, 2006).

Točnost valnog broja u FT spektru izravno je povezana s određivanjem položaja pokretnog zrcala u interferometru. Uz pomoć He-Ne lasera položaj zrcala može se odrediti točnije od 0,005 μm pa se u FT-IR spektrima postiže izuzetno visoka točnost valnih brojeva (Guntzler i Gremlich, 2006).

Pomoću FT-IR spektroskopije mogu se detektirati promjene u konformaciji lanaca, heliksu, te strukturi dvostruke uzvojnice škroba. Stoga se FT-IR tehnika može uspješno primijeniti u identifikaciji modificiranih škrobova (Xie i sur., 2006).

Za određivanje strukture nativnih i modificiranih škrobova uzorak škroba samljeven je u malom, ravnom ahatnom tarioniku pa mu je dodan KBr tako da se dobije smjesa koja sadrži 1 % škroba. Smjesa je dalje mrvljena dok se škrob nije potpuno izmiješao s KBr.

Tako pripravljena smjesa prebačena je u sastavljen, ali još uvijek otvoren kalup za prešanje pastila. Opreznim nasađivanjem i pritiskom gornjeg tučka sipak i neravnomjerno raspoređen prah je ravnomjerno raspoređen. Na kalup je postavljen gornji stap te je kalup postavljen u hidrauličku prešu, pod pritisak oko 80 bar. Tlak je održavan oko 2 minute kako bi došlo do sinteriranja uzorka. Nakon opuštanja preše sprava za prešanje se rastavi, a pastila se pincetom prenese u držač za pastile.

Da bi se kompenzirala pozadinska apsorpcija, pripravljena je prazna pastila.

Infracrveni spektri snimani su pomoću uređaja FT-IR-8400S, Shimadzu, Japan. U uređaju se nalazi helij neonski laser koji ima dvije funkcije: za stvaranje signala za uzorkovanje i za prilagodbu optičke osi. Laserska zraka se kontinuirano emitira u radnom području uređaja. Uređaj je spojen na računalo preko kojega se vrši upravljanje i obrada podataka. Nakon snimanja kompenzacijskog spektra snimljen je spektar uzoraka u području valne duljine 400 – 4000 cm^{-1}, uz rezoluciju 4 cm^{-1}.

3.3.10. Određivanje termofizičkih svojstava

Određivanje termofizičkih svojstava (želatinizacije i retrogradacije) škroba provedeno je pomoću diferencijalnog motridbenog kalorimetra (DMK), Mettler-Toledo DSC model 822^e, a mjerenja su provedena u atmosferi dušika čistoće 5.0 (Linde). Uređaj je opremljen keramičkim senzorom FRS 5, a omogućava mjerenje u temperaturnom području od -150 do 500 °C i bazira se na DMK metodi toplinskog toka. Opremljen je STAR^e software-om kojim se upravlja mjerenje i vrši obrada dobivenih rezultata.

Kontrola ili provjera (tzv. check) pouzdanosti instrumenta (modula), koja određuje razliku izmjerene i određene referentne vrijednosti temperature ili toplinskog toka ispitivanog referentnog materijala, rađena je sa indijem jednom mjesečno i nakon punjenja kontejnera sa komprimiranim i tekućim dušikom.

Priprema uzoraka i mjerenje termofizičkih svojstava (želatinizacije i retrogradacije)

Za mjerenje termofizičkih svojstava (želatinizacije i retrogradacije) upotrijebljene su odvage uzoraka od 10 do 20 mg.

Škrob je vagan u standardnu aluminijsku posudu (40 µL), te je mikrošpricom dodana destilirana voda kako bi se pripravila 35 %-tna suspenzija škroba. Posudica s uzorkom je nakon vaganja hermetički zatvorena i ostavljena 24 sata na sobnoj temperaturi da bi se uzorak uravnotežio prije mjerenja DMK instrumentom.

Kod mjerenja svojstava želatinizacije uzorci su bili podvrgnuti temperaturnom programu zagrijavanja od 25 do 95 ºC, brzinom zagrijavanja od 10 ºC/min.

Nakon zagrijavanja uzorak je ohlađen u DMK instrumentu na 25 ºC, izvađen iz uređaja i skladišten 7 ili 14 dana pri 4 ºC nakon čega je pomoću DMK uređaja mjerena retrogradacija škroba. Uzorci su bili podvrgnuti temperaturnom programu zagrijavanja od 25 do 95 ºC, brzinom zagrijavanja od 10 ºC/min.

Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

Kao rezultat mjerenja dobivene su krivulje želatinizacije, odnosno retrogradacije.

Određivanje parametara želatinizacije i retrogradacije

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: promjene entalpije (ΔH), temperatura početka procesa (t_o), temperatura vrha krivulje (t_p) i temperatura završetka (t_e) su dobiveni iz DMK egzotermne krivulje želatinizacije, odnosno retrogradacije škroba pomoću „STARe“ softvera.

3.3.11. Određivanje svojstava paste

Određivanje pastoznih svojstava provedeno je Brabenderovim mikro viskoamilografom. Uređaj je povezan sa računalom koje upravlja radom uređaja te vrši obradu dobivenih podataka.

Izolirani ili modificirani škrob pšenice dodan je u destiliranu vodu (u posudu Brabenderovog mikro viskoamilografa) kako bi se pripravilo 100 mL 7 %-tne suspenzije. Kod mjerenja reoloških svojstava uzorci su bili podvrgnuti sljedećem temperaturnom programu:

1. Zagrijavanje od 30 do 92 ºC, brzina zagrijavanja 7,5 ºC/min.
2. Izotermno na 92 ºC, 15 minuta.
3. Hlađenje od 92 do 50 ºC, brzina hlađenja 7,5 ºC/min.
4. Izotermno na 50 ºC, 15 minuta.

Mjerenje je provedeno pri okretanju mjernog tijela Brabenderovog mikro viskoamilografa od 250 min^{-1}.

Obrada rezultata

Mjerenjem reoloških svojstava Brabenderovim mikro viskoamilografom dobiveni su sljedeći parametri:

1. Početna temperatura želatinizacije škroba (°C).
2. Maksimalna viskoznost (označava maksimalnu vrijednost viskoznosti paste nastale želatinizacijom škroba, a izražava se u *Brabenderovim jedinicama* (BU)).
3. Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 92 °C (BU).
4. Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C (BU).
5. Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 50 °C (BU).
6. Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 10 minuta miješanja pri 50 °C (BU). Označava stabilnost škrobne paste pri 50 °C.
7. *Kidanje*. Izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C od vrijednosti viskoznosti vrha. Označava stabilnost škrobne paste tijekom miješanja pri visokim temperaturama 92 °C.
8. *Setback*. Izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti pri 92 °C nakon 15 minuta miješanja od vrijednosti viskoznosti pri 50 °C. označava sklonost škrobne paste retrogradaciji.

3.3.12. Određivanje teksture škrobnih gelova

Za određivanje teksturalnih svojstava uzoraka korišten je uređaj TA-XT Plus, Stable microsystem, Velika Britanija.

Priprema škrobnih gelova i mjerenje teksture

Pripravljene su 11 %-tne suspenzije nativnih i modificiranih škrobova koje su potom zagrijavane pri temperaturi 95 ºC u trajanju od 30 minuta u vodenoj kupelji uz konstantno miješanje. Želatinizirani škrob ohlađen je na sobnu temperaturu, vagan pa mu je dodana eventualno isparena voda. Nakon toga smjesa je dobro homogenizirana. Po 35 g pripravljenog gela odvagano je u plastične posude sljedećih dimenzija: promjer = 35 mm; visina = 50 mm. Tekstura gelova mjerena je nakon 24 sata kako bi se tijekom toga vremena uklonili mjehurići zraka uklopljeni tijekom pripreme gelova.

Analiza strukture gela proveden je pomoću cilindričnog nastavka promjera 20 mm i visine 30 mm, sljedećim postupkom:

1. Brzina prije mjerenja – 3 mm/s;
2. Brzina mjerenja (tijekom penetracije) – 2 mm/s;
3. Brzina nakon mjerenja – 10 mm/s.

Dubina penetracije mjernog tijela tijekom mjerenja iznosila je 20 mm, a sila mjerenja 1 g.

3.3.13. Određivanje kapaciteta bubrenja (KB) i indeksa topljivosti (IT) škrobova

Izolirani ili modificirani škrob pšenice dodan je u destiliranu vodu (u Erlenmeyer-ovoj tikvici) da bi se pripravila 1,0 %-tna suspenzija. Suspenzija je potom zagrijavana pri temperaturama od 65 do 95 ºC, u rasponu od 10 ºC i u trajanju od 30 minuta u vodenoj kupelji s tresilicom. Želatinizirani škrob je potom ohlađen na sobnu temperaturu, vagan te mu je dodana eventualno isparena voda. Nakon toga uzorak je dobro homogeniziran. Tako priređen gel je centrifugiran (4000 rpm, 30 min). Nakon završetka centrifugiranja, supernatant je dekantiran, a ostatak tekućine iz kivete uklonjen je filter papirom. Kivete s gelom izvagane su te je određena suha tvar supernatanta (W_s) sušenjem na 105 ºC do konstantne mase.

Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Kapacitet bubrenja, KB (g hidratiziranih molekula / g suhe tvari škroba) računat je prema formuli:

$$KB \text{ / g hidratiziranih molekula / g suhe tvari škroba} = \frac{W_G}{W_{STG}}$$

W_G – masa gela / g

W_{STG} – masa suhe tvari u gelu / g

Indeks topljivosti, IT (%) računat je prema formuli:

$$IT / \% = \left(\frac{W_S}{W_O} \right) \cdot 100$$

W_s – udio suhe tvari u supernatantu / %

W_o – udio suhe tvari u početnoj suspenziji (1,0 %)

3.3.14. Određivanje boje škroba kromametrom

Za određivanje boje škroba korišten je kromametar Konica Minolta CR-300, s nastavkom za praškaste i tekuće uzorke. Prije mjerenja boje u sustavima CIELab i LCh sustavima kromametar je kalibriran pomoću kalibracijske pločice. Za svaki uzorak provedeno je pet mjerenja.

U CIELab sustavu određuju se tri parametra boje:

L*, koji se kreće u rasponu 0 (crno) – 100 (bijelo)

a*, pokazuje odnos crveno (pozitivne vrijednosti) – zeleno (negativne vrijednosti)

b*, pokazuje odnos žuto (pozitivne vrijednosti) – plavo (negativne vrijednosti).

U CIELCh sustavu se, osim L* parametra, koji je isti kao u CIELab sustavu, određuju još i C*, koji predstavlja zasićenje boje (eng. chroma) i kreće se u rasponu 0 (potpuno nezasićeno) do 100 (maksimalno zasićenje) i h* koji predstavlja ton boje (eng. hue), a izražava se u °: od 0° za crveno, preko 90° za žuto i 180° za zeleno, do 270° za plavo i natrag do 0°.

Ukupna razlika boje izračunava se iz podataka dobivenih mjerenjem u CIELab sustavu, prema jednakosti:

$$\Delta E = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2}$$

Jednostavno ocjenjivanje odstupanja boja može se provesti na osnovi vrijednosti kolorimetrijske razlike, prema sljedećim kriterijima (Jukić, 2007):

ΔE = (0 – 0,5) razlika boja se ne vidi;

ΔE = (0,5 – 1,5) razlika boja se teško uočava ljudskim okom;

ΔE = (1,5 - 3) razliku boja uočavaju trenirani senzorski analitičari;

ΔE = (3 – 6) razliku boja uočavaju prosječne osobe;

ΔE = (6 – 12) očigledna odstupanja boja (boje pripadaju istoj skupini);

ΔE > 12 ekstremna razlika u boji (boje pripadaju različitim skupinama).

Ukupna razlika boja može biti definirana i razlikama u svjetlini (ΔL), zasićenju (ΔC) i tonu (Δh) koje se dobiju iz razlike danih vrijednosti za dva uzorka.

3.3.15. Određivanje bistroće škrobnih pasti

Bistroća škrobnih pasti određena je metodom po Kerr-u i Cleveland-u (1959). Vodena suspenzija (1,0 % s.tv.) škroba zagrijavana je 30 minuta u vrijućoj vodenoj kupelji uz povremeno miješanje. Nakon hlađenja na 25 °C tijekom jednog sata očitan je % transmitancije pri 650 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

3.3.16. Određivanje stabilnosti škrobne paste u ciklusima zamrzavanje - odmrzavanje

Stabilnost škrobne paste u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje određena je modificiranom metodom po Lawal-u i sur. (2009). Škrobna suspenzija (5 % s.tv.) zagrijavana je pri 95 °C tijekom 1 sata u vodenoj kupelji s tresilicom (Julabo SW23, Njemačka) pri 200 rpm. Po 10 g dobivene paste odvagano je u kivete i podvrgnuto ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje tako da su uzorci čuvani 22 sata na -18 °C pa odmrzavani 2 sata na 30 °C. Za svaki uzorak provedeno je 7 ciklusa.

Nakon svakog ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje pasta je centrifugirana 5 minuta pri 4000 rpm te je računat % sinereze prema jednadžbi:

$$Sinereza\,/\,\% = \frac{masa\ izdvojene\ vode\,[g]}{masa\ uzorka\,[g]} \times 100$$

3.3.17. Određivanje udjela rezistentnog škroba metodom AOAC 2002.02.

Da bi se odredila probavljivost škroba, uzorci su inkubirani u vodenoj kupelji s tresilicom sa želučanom α-amilazom i amiloglukozidazom (AMG) 16 sati pri 37 ºC i pH 6,0. Tijekom toga vremena nerezistentni škrob je otopljen i kombiniranim djelovanjem dvaju enzima hidroliziran do glukoze.

Reakcija je prekinuta dodatkom etanola te je rezistentni škrob (RS) centrifugiranjem pri 1500 g (oko 3000 rpm) tijekom 10 minuta izdvojen u obliku taloga. Dobiveni RS ispran je dva puta etanolom (50% v/v), uz centrifugiranje (1500 g, 10 min). Supernatant je oddekantiran, a talog RS-a je otopljen u 2M KOH snažnim miješanjem u ledenoj kupelji na magnetskoj miješalici tijekom 20 minuta. Otopina je neutralizirana acetatnim puferom (pH 3,8) te je škrob kvantitativno hidroliziran do glukoze djelovanjem amiloglukozidaze (30 min, 50 °C).

Udio glukoze određen je spektrofotometrijski pri 510 nm, nakon reakcije s glukoza oksidaza – peroksidaza – aminoantipirin (GOPOD) reagensom, a iz dobivene vrijednosti izračunat je udio RS-a u uzorku.

Za određivanje nerezistentnog (topljivog) škroba sakupljeni su supernatanti dobiveni centrifugiranjem, koji su kvantitativno preneseni u odmjernu tikvicu (100 mL) te je volumen do 100 mL nadopunjen natrij acetat puferom (pH 4,5). Škrob je kvantitativno hidroliziran do glukoze djelovanjem amiloglukozidaze. Udio glukoze određen je spektrofotometrijski pri 510 nm, nakon reakcije s glukoza oksidaza – peroksidaza – aminoantipirin (GOPOD) reagensom, a iz dobivene vrijednosti izračunat je udio NRS-a u uzorku.

Udio rezistentnog škroba izračunat je prema sljedećoj jednakosti:

$$RS\,/\,\%\ \text{s. tv.} = \Delta E \times F \times \frac{10{,}3}{0{,}1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 9{,}27$$

ΔE razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe

F konverzija apsorbance u mikrograme (odredi se apsorbanca za 100 µg glukoze u reakciji sa GOPOD i računa: F = 100 (µg glukoze) / apsorbanca GOPOD sa 100 µg glukoze).

100/0,1 korekcija volumena (0,1 mL uzet od 100 mL)

1/1000 konverzija iz mikrograma u miligrame

W masa suhe tvari uzorka = masa uzorka × udio suhe tvari

162/180 faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u anhidro- glukozu koja se nalazi u škrobu

3.3.18. Statistička obrada podataka

Statistička obrada dobivenih rezultata izvršena je pomoću programa Statistica 8, analizom varijance (ANOVA) i Fischerovim testom najmanje razlike (LSD) sa faktorom značajnosti $P < 0,05$. Usporedba rezultata rađena je tako da su vrijednosti za modificirane škrobove uspoređivane s vrijednostima odgovarajućeg nativnog škroba.

4. REZULTATI

Tablica 6 Svojstva pšenice određena pomoću Infratec Grain Analyzer-a

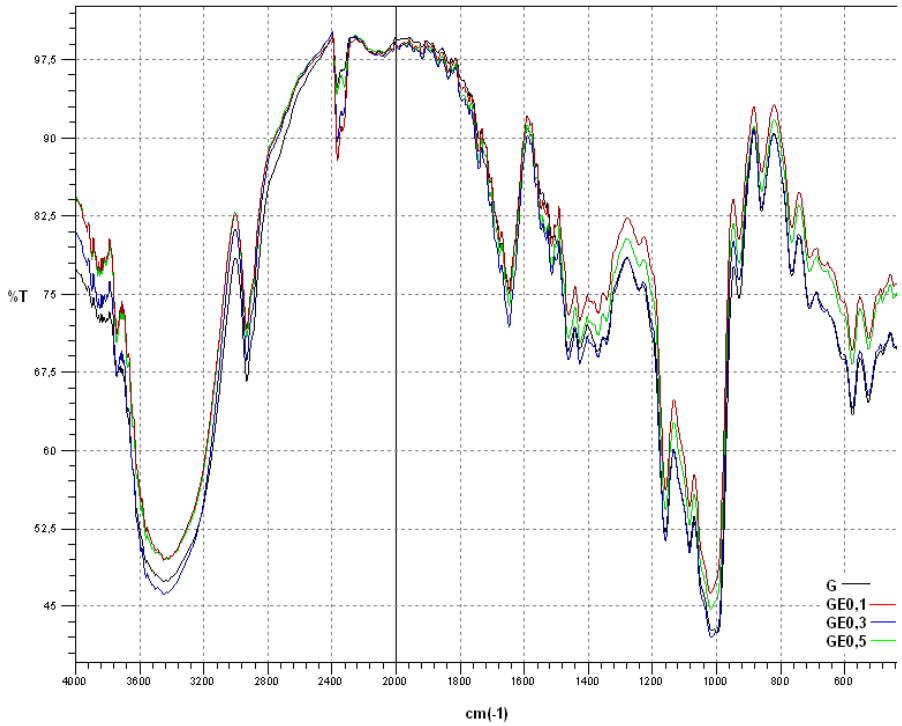
	Golubica	**Srpanjka**
Vlažnost / %	12,27	12,20
Proteini / % s. tv.	14,37	12,57
Škrob / % s.tv.	67,00	68,73
Vlažni gluten / % s. tv.	37,70	33,73
Tvrdoća	85,90	52,60
Hektolitarska masa / kg/hL	84,03	83,90

Tablica 7 Svojstva glutena pšenice određena pomoću Glutomatic sustava Perten

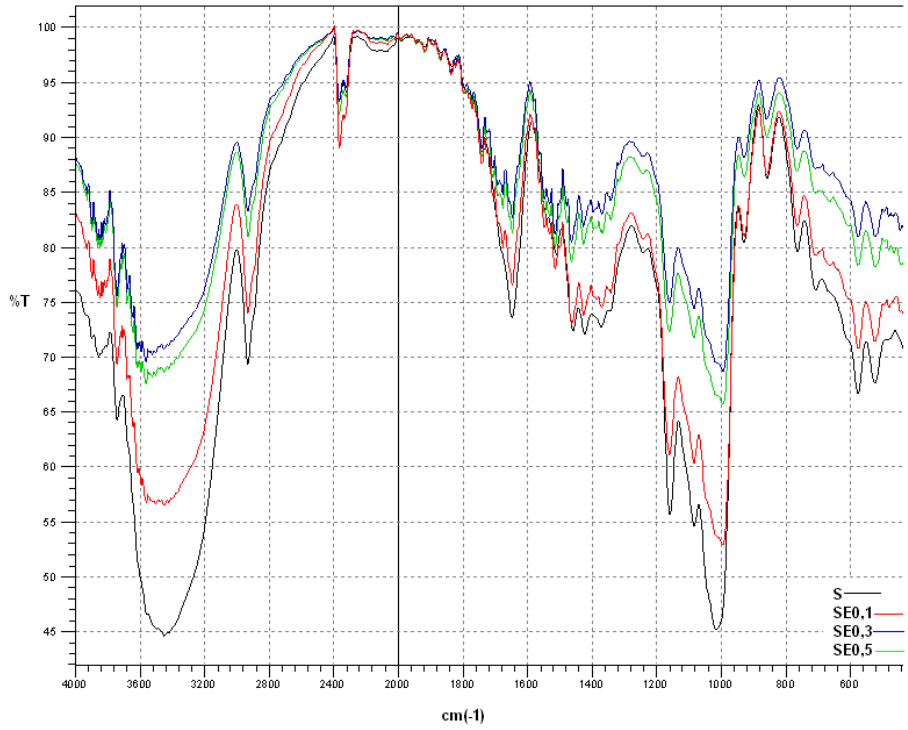
	Golubica	**Srpanjka**
Vlažni gluten / %	39,70	30,70
Suhi gluten / %	12,50	9,90
Gluten indeks	73,19	94,16

Tablica 8 Kemijski sastav nativnog škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* i *Srpanjka*

	Golubica	**Srpanjka**
Vlažnost / %	15,43	15,45
Proteini / % s. tv.	n.d.	n.d.
Pepeo / % s. tv.	0,29	0,20
Vlakna / % s. tv.	0,07	0,05
Masti / % s. tv.	0,49	0,42
Udio amiloze / % škroba	20,27	22,49



Slika 36 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)



Slika 37 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5% (v/w)

Tablica 9 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

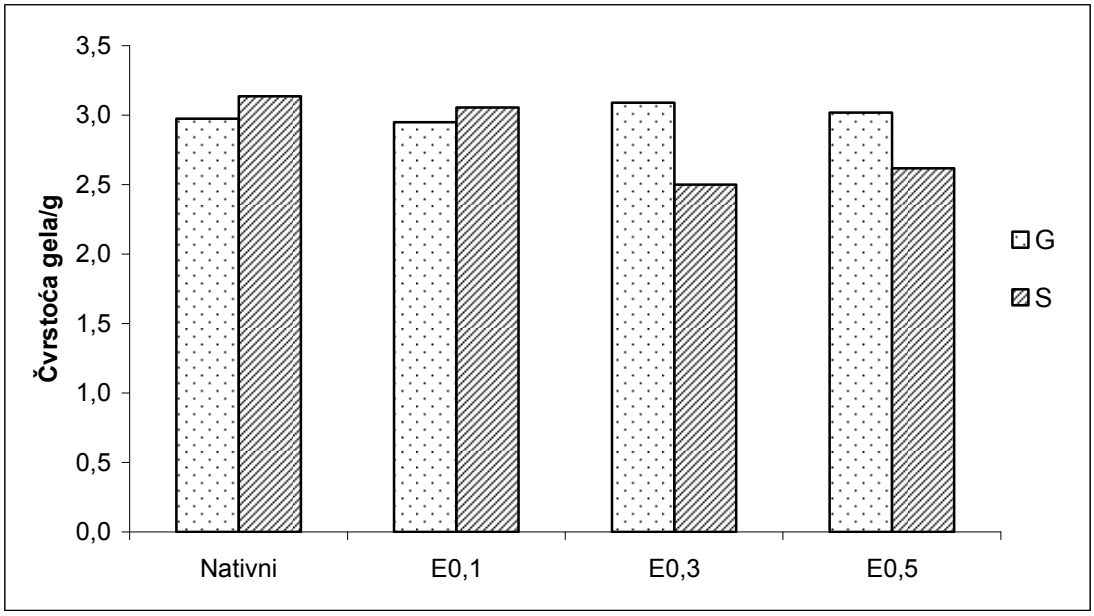
	t_o/°C	t_p/°C	t_e/°C	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07[a]	62,68±0,03[a]	66,66±0,06[b]	8,87±0,07[c]
GE0,1	59,76±0,07[b]	63,08±0,07[b]	66,75±0,08[b]	8,39±0,03[a]
GE0,3	60,23±0,05[c]	63,58±0,05[c]	67,29±0,03[c]	8,86±0,09[c]
GE0,5	59,84±0,04[b]	63,17±0,01[b]	66,70±0,10[a]	8,55±0,05[b]
S	59,94±0,17[a]	63,72±0,02[a]	67,82±0,09[a]	8,47±0,01[a]
SE0,1	60,79±0,02[b]	64,34±0,06[b]	68,23±8,72[a]	8,78±0,09[b,c]
SE0,3	60,79±0,05[b]	64,27±0,06[b]	68,10±0,10[a]	8,75±0,06[b]
SE0,5	60,74±0,06[b]	64,37±0,06[b]	68,37±0,06[a]	8,93±0,13[c]
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4 °C (n=3)				
G	42,57±0,29[a]	52,10±0,26[a]	60,45±0,05[a]	3,42±0,01[b]
GE0,1	43,67±0,49[b]	52,77±0,57[a]	61,10±0,36[b]	3,32±0,18[b]
GE0,3	43,40±0,53[b]	52,88±0,08[a]	60,40±0,35[a]	2,91±0,02[a]
GE0,5	43,85±0,19[b]	53,27±0,35[b]	60,34±0,32[a]	2,86±0,10[a]
S	43,64±0,42[b]	51,67±0,27[a]	60,44±0,49[a]	3,23±0,03[c]
SE0,1	43,17±0,31[a,b]	52,57±0,21[b]	60,73±0,38[a]	2,82±0,04[a]
SE0,3	43,30±0,10[a,b]	52,40±0,46[b]	61,53±0,12[b]	2,98±0,02[b]
SE0,5	42,77±0,21[a]	52,73±0,38[b]	62,00±0,26[b]	3,74±0,01[d]
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4 °C (n=3)				
G	42,30±0,36[a]	51,40±0,70[a,b]	60,74±0,41[a]	3,81±0,04[c]
GE0,1	42,43±0,47[a]	50,87±0,38[a]	61,53±0,32[b]	3,74±0,06[c]
GE0,3	42,05±0,31[a]	51,44±0,16[a,b]	60,43±0,21[a]	3,45±0,09[b]
GE0,5	42,19±0,87[a]	52,13±0,28[b]	60,57±0,28[a]	3,25±0,04[a]
S	43,14±0,32[a,b]	51,55±0,24[a]	60,64±0,06[a]	3,70±0,04[a]
SE0,1	43,53±0,29[b]	52,73±0,21[c]	60,83±0,06[a,b]	3,97±0,01[b]
SE0,3	43,33±0,15[b]	53,13±0,21[c]	61,23±0,31[b]	4,16±0,02[c]
SE0,5	42,70±0,17[a]	52,17±0,46[b]	61,87±0,50[c]	4,82±0,03[d]

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

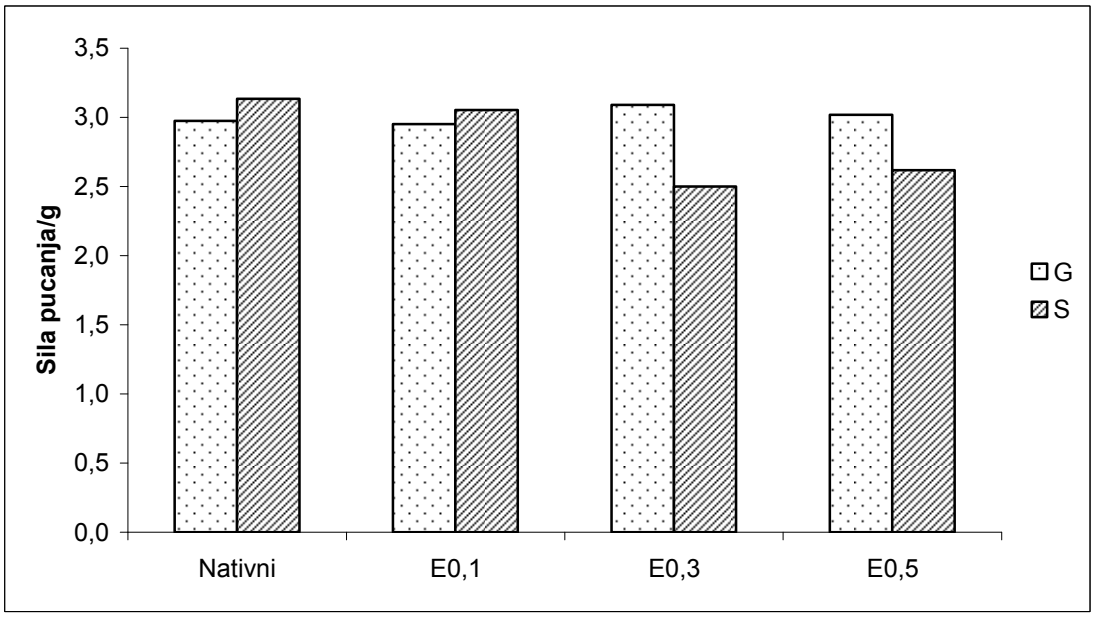
Tablica 10 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w). Paste su sadržavale 7 % (s.tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{a}	306,33±5,51^{c}	256,67±3,79^{d}	240,67±4,16^{c}	501,67±4,04^{d}	435,00±4,58^{c}	65,67±2,08^{c}	261,00±1,73^{c}
GE0,1	66,10±0,30^{b}	284,50±4,50^{b}	224,50±5,50^{c}	283,00±3,00^{d}	471,50±4,50^{c}	417,00±6,00^{b}	1,50±1,50^{b}	188,50±1,50^{b}
GE0,3	69,75±0,35^{c}	147,50±5,50^{a}	100,50±4,50^{b}	150,00±3,00^{b}	186,50±6,50^{b}	171,50±3,50^{a}	-2,50±2,50^{a}	36,50±3,50^{a}
GE0,5	69,95±0,75^{c}	143,00±4,00^{a}	87,50±2,50^{a}	142,50±3,50^{a}	177,50±3,50^{a}	169,00±2,00^{a}	0,50±0,50^{a,b}	35,00±0,00^{a}
S	65,60±0,36^{a}	291,00±3,61^{d}	272,33±4,16^{d}	214,00±3,00^{c}	457,67±3,79^{d}	392,33±6,11^{d}	77,00±2,65^{b}	243,67±1,53^{d}
SE0,1	65,75±0,35^{a}	242,50±4,95^{c}	200,00±5,66^{c}	241,00±4,24^{d}	339,00±4,24^{c}	305,00±7,07^{c}	1,50±0,71^{a}	98,00±0,00^{c}
SE0,3	65,60±0,28^{a}	95,00±1,41^{b}	60,00±1,41^{b}	95,50±0,71^{b}	114,50±2,12^{b}	106,00±1,41^{b}	-0,50±0,71^{a}	19,00±1,41^{b}
SE0,5	65,70±0,28^{a}	37,00±0,00^{a}	26,00±0,00^{a}	37,00±0,00^{a}	46,00±0,00^{a}	46,50±0,71^{a}	0,00±0,00^{a}	9,00±0,00^{a}

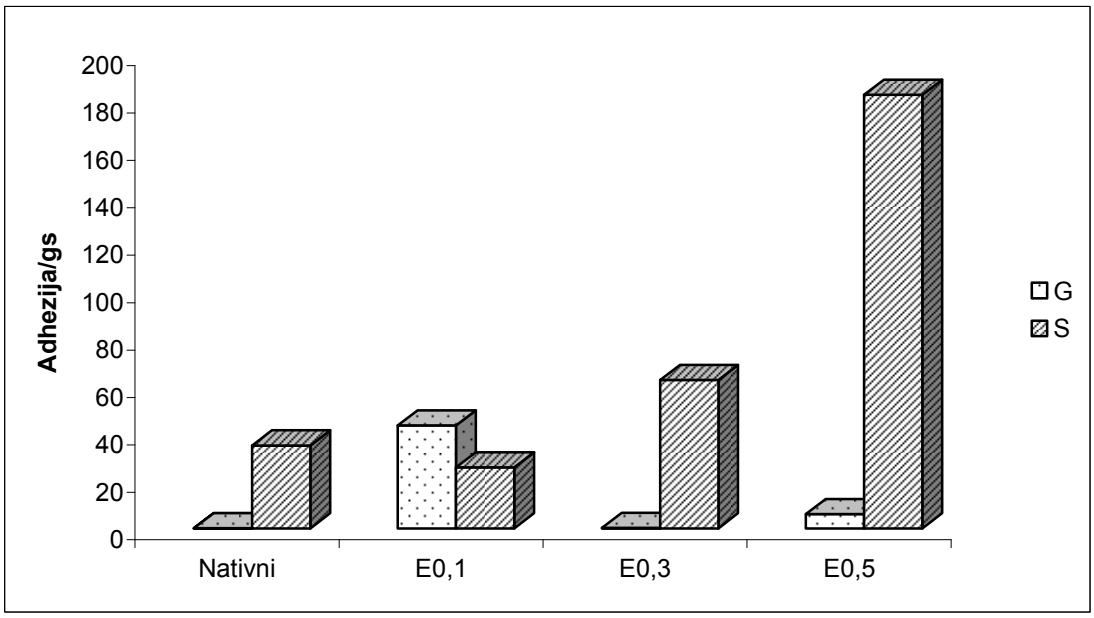
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



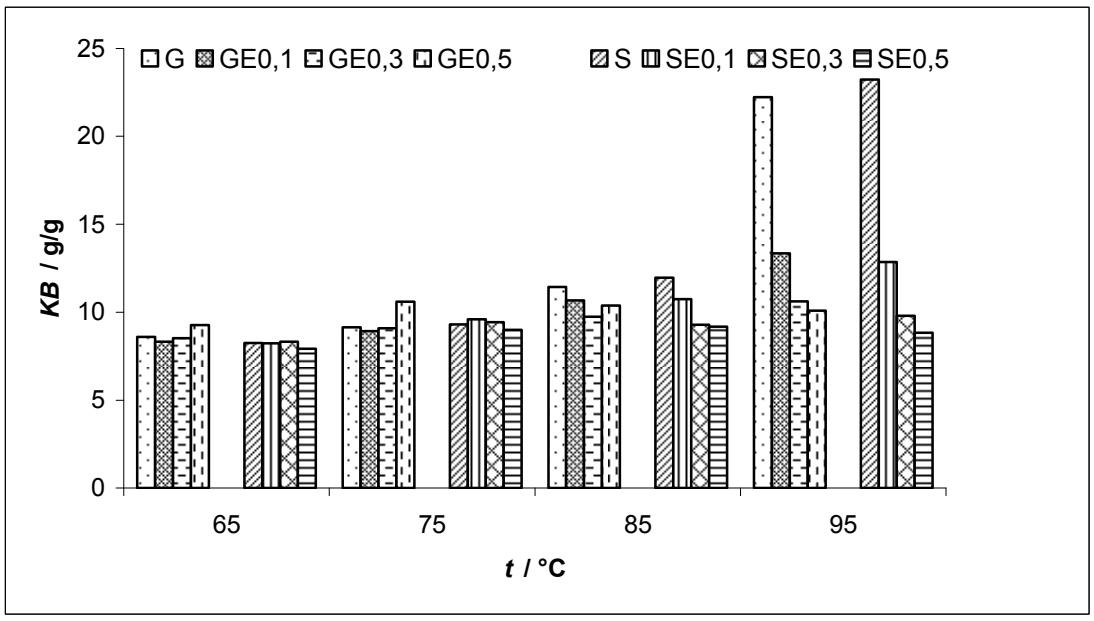
Slika 38 Čvrstoća gelova (11 % s.tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)



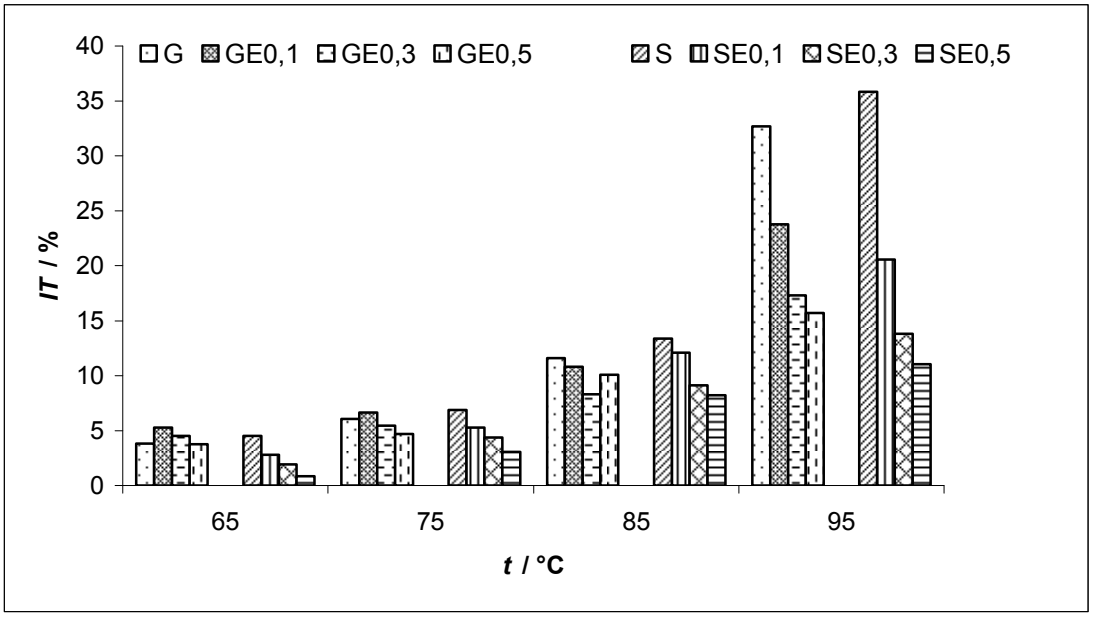
Slika 39 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)



Slika 40 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)



Slika 41 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

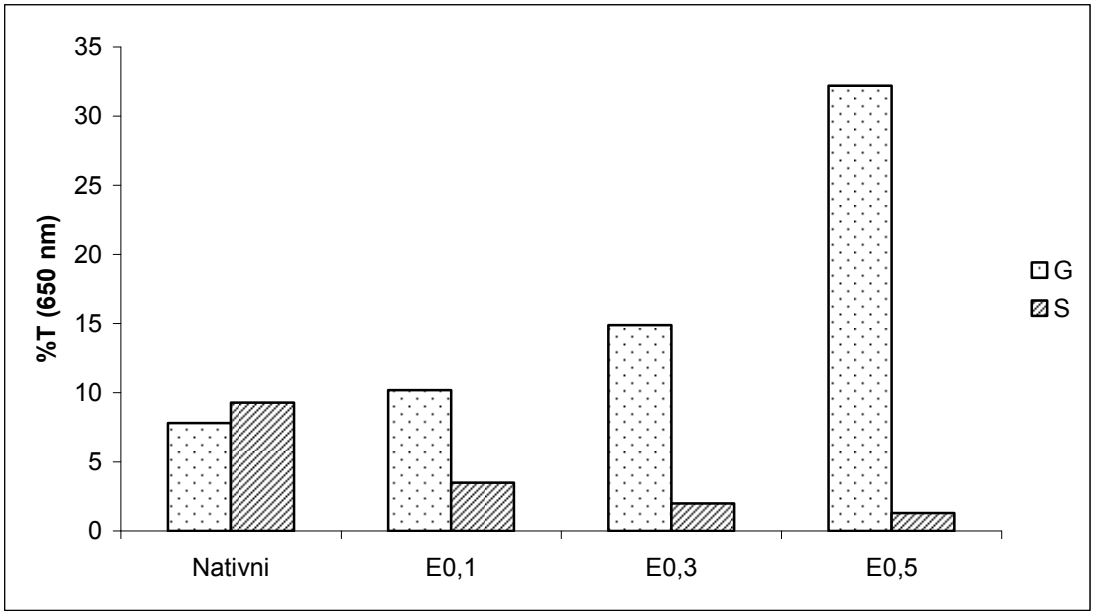


Slika 42 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

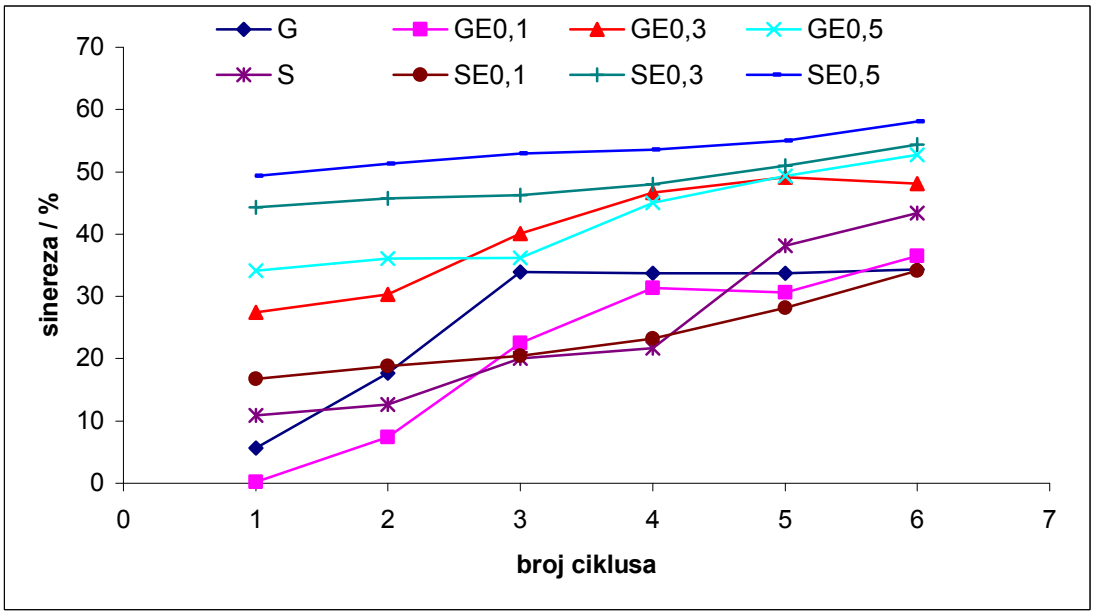
Tablica 11 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

	L*	**a***	**b***	**C***	**h***	**$\Delta E_{nat.}$**
G	75,16±0,05^{b}	-1,19±0,01^{a}	+1,35±0,01^{d}	1,80±0,01^{d}	132,00±0,4^{a}	
GE0,1	75,20±0,08^{b}	-1,11±0,01^{b}	+0,47±0,01^{a}	1,23±0,03^{a}	156,90±0,4^{d}	0,88
GE0,3	74,77±0,01^{a}	-1,10±0,00^{b}	+0,64±0,01^{b}	1,28±0,01^{b}	150,20±0,4^{c}	0,82
GE0,5	76,61±0,01^{c}	-1,12±0,03^{b}	+0,74±0,01^{c}	1,34±0,02^{c}	146,80±0,3^{b}	1,57
S	76,49±0,02^{c}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{d}	1,73±0,03^{c}	136,0±0,3^{a}	
SE0,1	75,60±0,05^{a}	-1,01±0,01^{d}	+0,53±0,01^{b}	1,14±0,01^{a}	153,2±0,2^{c}	1,15
SE0,3	75,97±0,10^{b}	-1,04±0,01^{c}	+0,57±0,01^{c}	1,20±0,03^{b}	151,8±0,3^{b}	0,86
SE0,5	77,07±0,16^{d}	-1,10±0,01^{b}	+0,51±0,01^{a}	1,22±0,02^{b}	155,1±0,3^{d}	0,93

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 43 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)



Slika 44 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

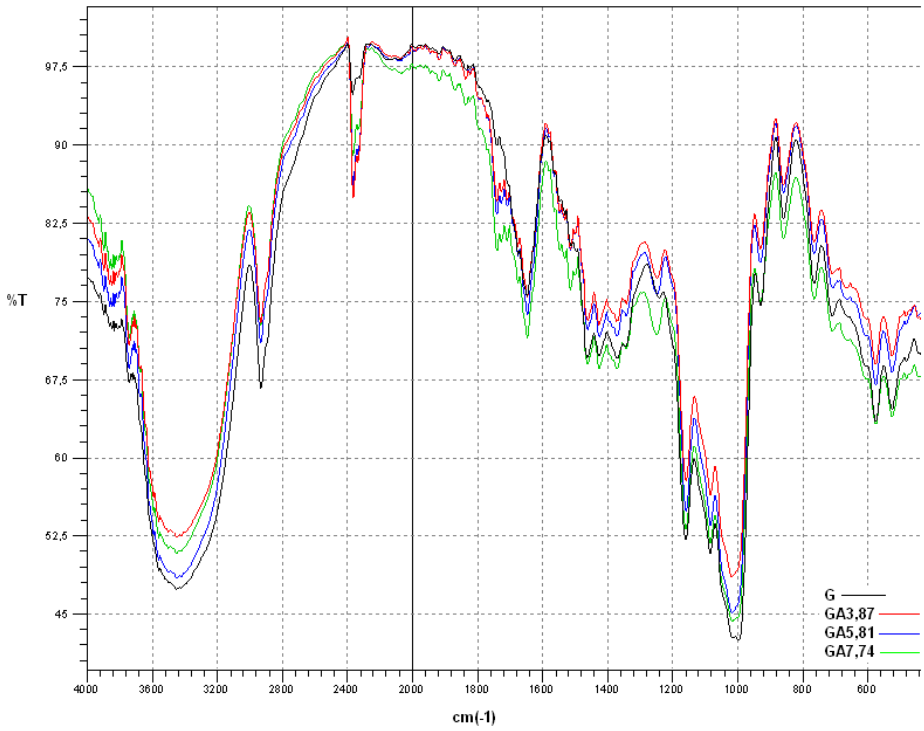
Tablica 12 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom epiklorhidrinom (E) u udjelima 0,1; 0,3 i 0,5 % (v/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03^{b,c}	96,87±0,16^{a}
GE0,1	0,31±0,00^{a}	97,10±0,61^{a}
GE0,3	0,41±0,04^{a,b}	96,38±0,02^{a}
GE0,5	0,53±0,09^{c}	98,12±0,01^{b}
S	0,57±0,11^{a}	96,11±0,02^{a}
SE0,1	2,25±0,07^{c}	97,52±0,01^{b}
SE0,3	1,24±0,00^{b}	99,52±0,01^{d}
SE0,5	1,32±0,07^{b}	98,68±0,01^{c}

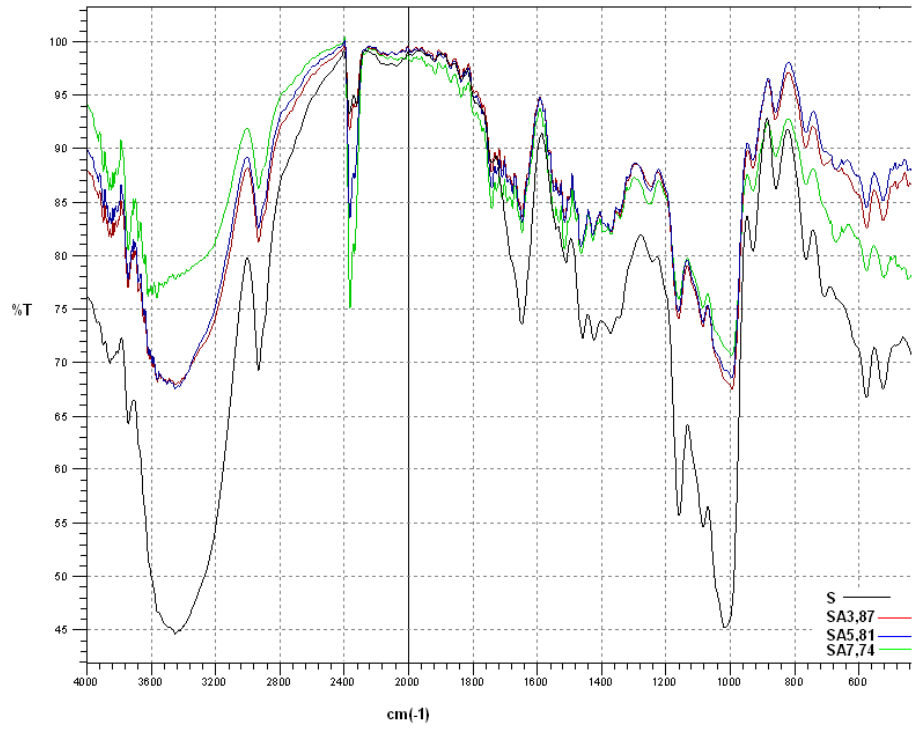
RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

Tablica 13 Stupanj supstitucije (DS) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w), izračunat preko postotka acetiliranja (% Acet)

	% Acet	***DS***
GA3,87	3,036±0,012^{a}	0,118±0,000^{a}
GA5,81	3,216±0,000^{b}	0,125±0,000^{b}
GA7,74	3,431±0,012^{c}	0,134±0,000^{c}
SA3,87	2,890±0,000^{a}	0,112±0,000^{a}
SA5,81	3,354±0,000^{a}	0,131±0,000^{a}
SA7,74	3,681±0,000^{a}	0,144±0,000^{a}



Slika 45 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)



Slika 46 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

Tablica 14 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

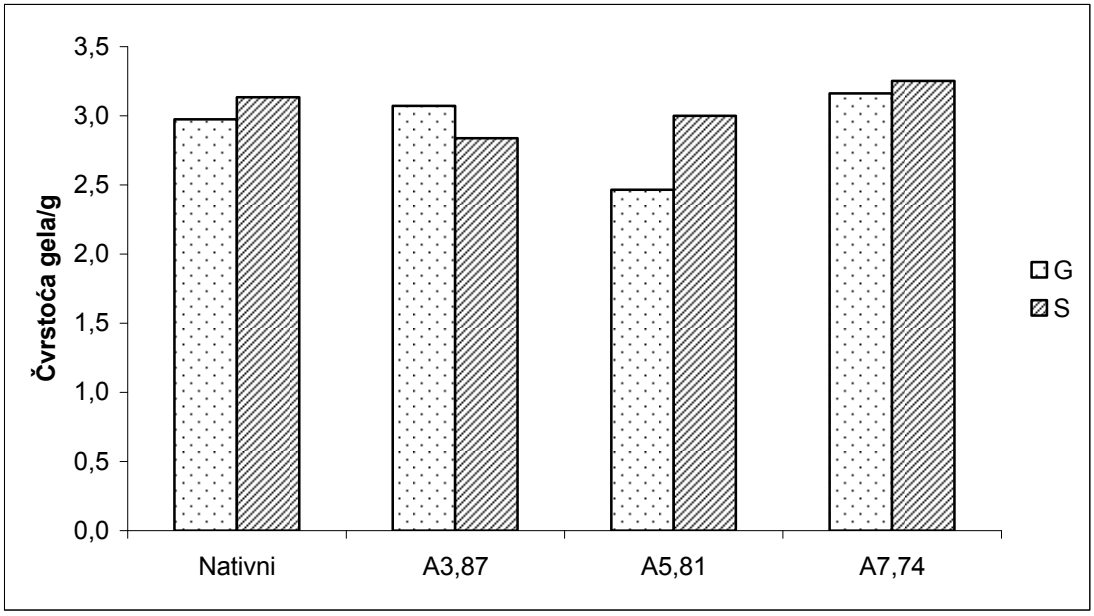
	t_o/°C	t_p/°C	t_e/°C	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07^{d}	62,68±0,03^{d}	66,66±0,06^{c}	7,17±0,10^{a}
GA3,87	56,33±0,07^{b}	60,82±0,06^{c}	65,09±0,09^{b}	8,77±0,12^{c}
GA5,81	56,77±0,15^{c}	60,45±0,05^{a}	64,73±0,14^{a}	7,96±0,05^{b}
GA7,74	56,10±0,10^{a}	60,56±0,03^{b}	64,71±0,14^{a}	8,61±0,19^{c}
S	59,94±0,17^{d}	63,72±0,02^{d}	67,82±0,09^{d}	8,47±0,01^{d}
SA3,87	57,47±0,15^{c}	61,52±0,10^{c}	65,90±0,10^{c}	8,15±0,01^{c}
SA5,81	56,52±0,11^{b}	60,64±0,15^{b}	65,28±0,13^{b}	7,65±0,04^{b}
SA7,74	55,75±0,13^{a}	59,81±0,10^{a}	64,26±0,15^{a}	7,39±0,04^{a}
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,57±0,29^{a,b}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{b}	3,42±0,01^{d}
GA3,87	42,57±0,32^{a,b}	52,50±0,26^{c}	62,02±0,27^{b}	2,69±0,01^{c}
GA5,81	42,33±0,15^{a}	51,57±0,15^{a}	60,33±0,15^{a}	2,44±0,02^{b}
GA7,74	42,92±0,24^{b}	53,08±0,15^{d}	62,20±0,17^{a}	2,35±0,01^{a}
S	43,64±0,42^{c}	51,67±0,27^{a}	60,44±0,49^{a}	3,23±0,03^{d}
SA3,87	42,81±0,10^{b}	52,26±0,31^{b}	60,65±0,08^{a}	2,35±0,03^{c}
SA5,81	42,31±0,01^{a}	51,62±0,26^{a}	60,60±0,30^{a}	2,09±0,04^{b}
SA7,74	42,01±0,11^{a}	51,13±0,32^{a}	60,27±0,15^{a}	1,99±0,06^{a}
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,30±0,36^{a}	51,40±0,70^{a}	60,74±0,41^{b}	3,81±0,04^{d}
GA3,87	42,10±0,20^{a}	52,33±0,49^{b,c}	61,66±0,23^{c}	3,48±0,03^{c}
GA5,81	42,53±0,21^{a}	51,70±0,17^{a,b}	60,28±0,07^{a}	3,05±0,01^{b}
GA7,74	43,11±0,19^{b}	52,97±0,45^{c}	62,09±0,11^{c}	3,01±0,08^{a}
S	43,14±0,32^{b}	51,55±0,24^{a}	60,64±0,06^{c}	3,70±0,04^{d}
SA3,87	42,81±0,10^{b}	52,26±0,31^{b}	60,65±0,08^{b}	2,35±0,03^{c}
SA5,81	42,31±0,01^{a,b}	51,62±0,26^{c}	60,60±0,30^{b,c}	2,09±0,04^{b}
SA7,74	42,01±0,11^{a}	51,13±0,32^{a}	60,27±0,15^{a}	1,99±0,06^{a}

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

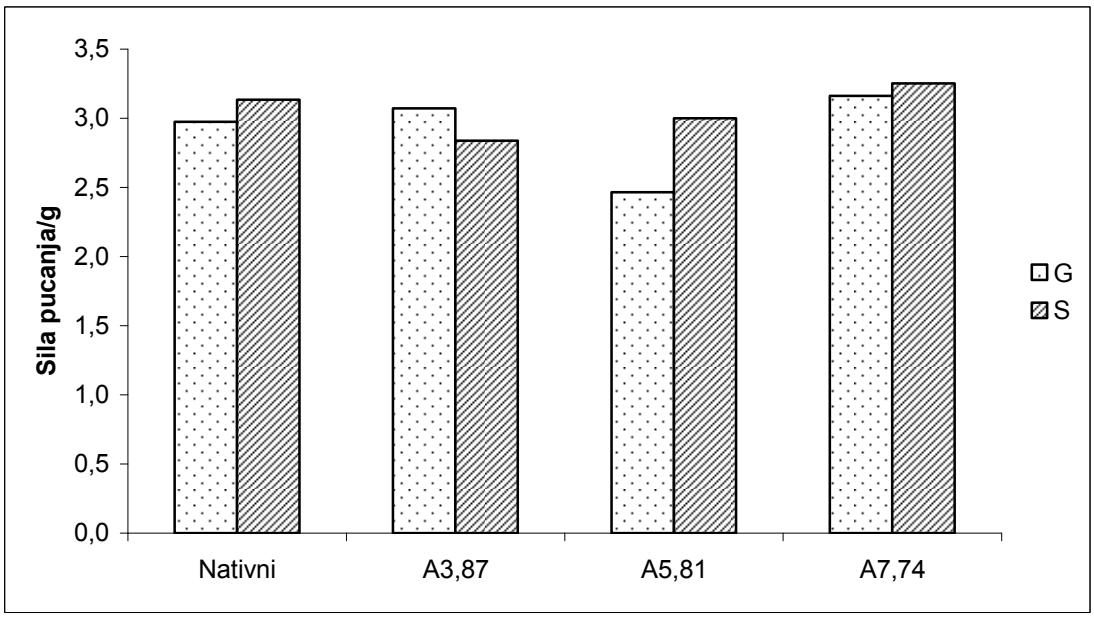
Tablica 15 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w). Paste su sadržavale 7 % (s. tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{c}	306,33±5,51^{a}	256,67±3,79^{a}	240,67±4,16^{b}	501,67±4,04^{b}	435,00±4,58^{c}	65,67±2,08^{a}	261,0±1,73^{a}
GA3,87	62,67±0,23^{b}	306,67±5,03^{a,b}	302,67±4,16^{b}	197,67±4,04^{a}	471,33±5,03^{a}	392,00±4,00^{b}	109,00±1,00^{b}	273,67±1,53^{b}
GA5,81	60,95±0,49^{a}	335,00±4,24^{c}	315,50±4,95^{c}	196,00±5,66^{a}	473,00±4,24^{a}	381,50±4,95^{a}	139,00±1,41^{d}	277,0±1,41^{b}
GA7,74	61,40±0,14^{a}	317,50±3,54^{b}	309,00±1,41^{b,c}	200,50±3,54^{a}	464,50±2,12^{a}	384,00±4,24^{a,b}	117,00±0,00^{c}	264,0±1,41^{a}
S	65,60±0,36^{d}	291,00±3,61^{a}	272,33±4,16^{a}	214,00±3,00^{c}	457,67±3,79^{c}	391,67±4,04^{b}	77,00±2,65^{a}	243,67±1,53^{b}
SA3,87	62,60±0,14^{c}	327,50±0,71^{c}	319,50±2,12^{c}	201,50±3,54^{b}	473,50±0,71^{d}	391,50±3,54^{b}	126,00±2,83^{b}	272,00±4,24^{c}
SA5,81	61,30±0,28^{b}	322,50±0,71^{c}	299,00±1,41^{b}	186,50±0,71^{a}	434,50±2,12^{b}	355,00±4,24^{a}	136,00±1,41^{c}	248,00±1,41^{b}
SA7,74	60,20±0,14^{a}	315,00±1,41^{b}	296,00±0,00^{b}	189,50±2,12^{a}	426,00±0,00^{a}	350,50±3,54^{a}	125,50±3,54^{b}	236,50±2,12^{a}

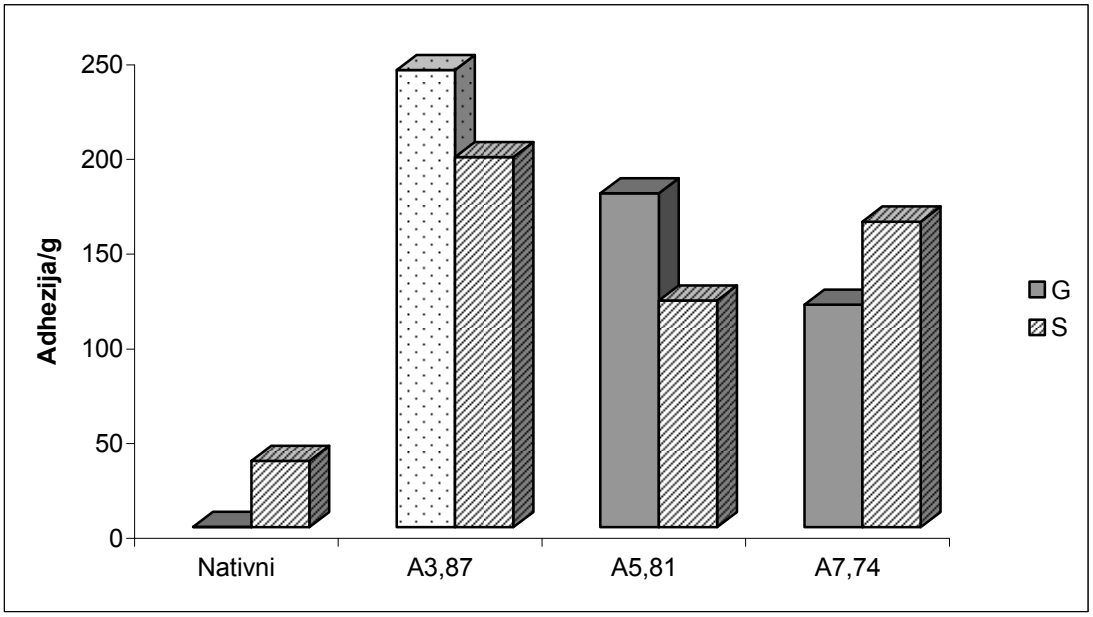
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



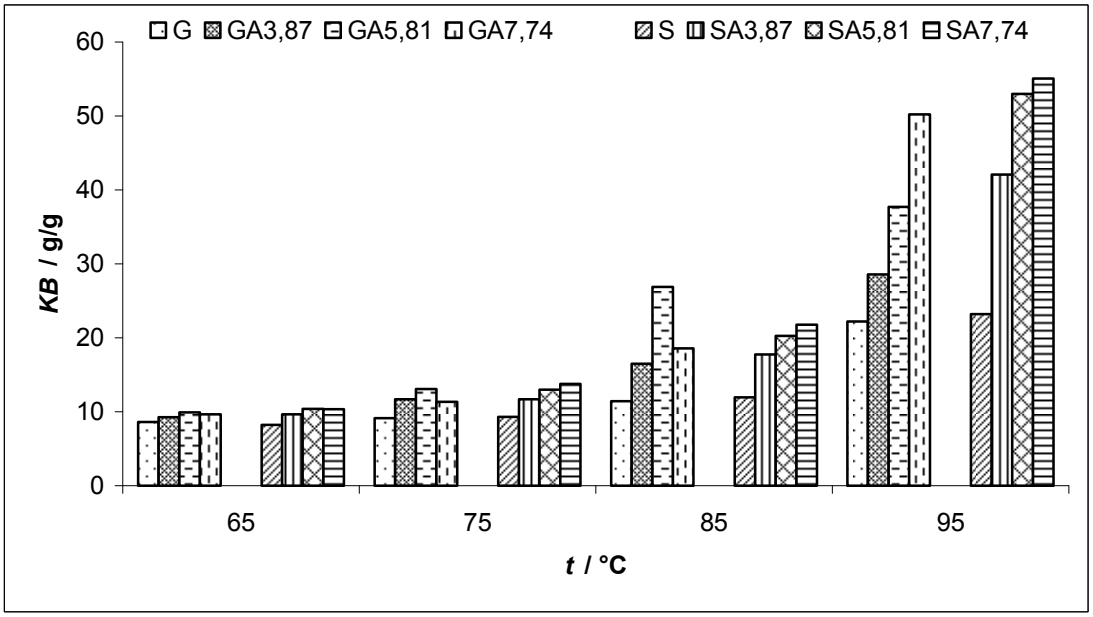
Slika 47 Čvrstoća gelova (11 % s.tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)



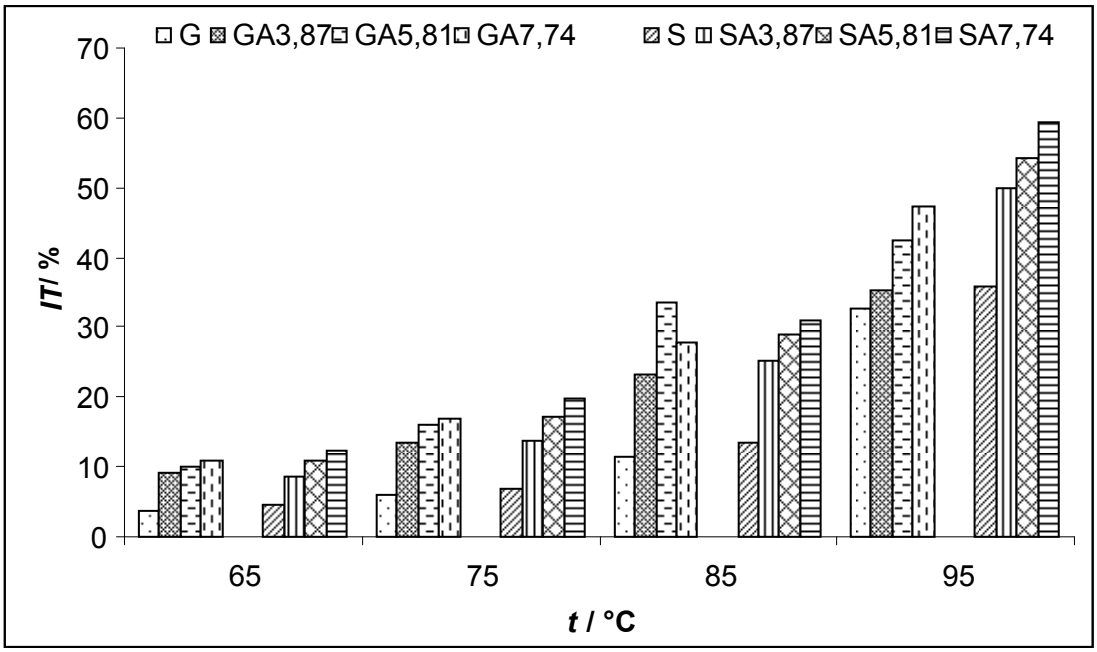
Slika 48 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)



Slika 49 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)



Slika 50 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

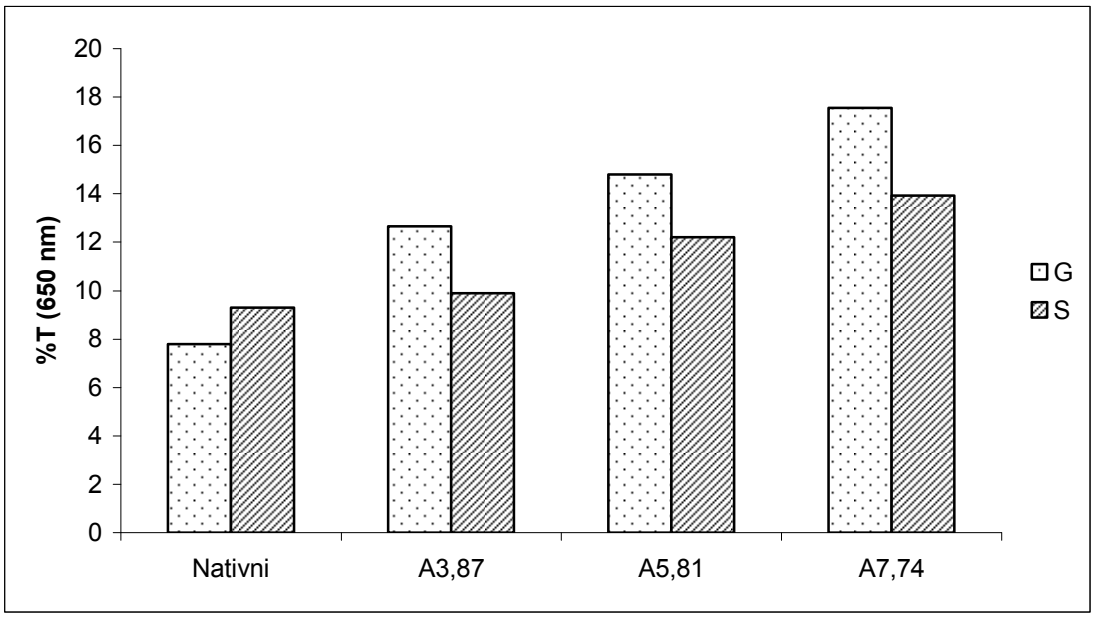


Slika 51 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

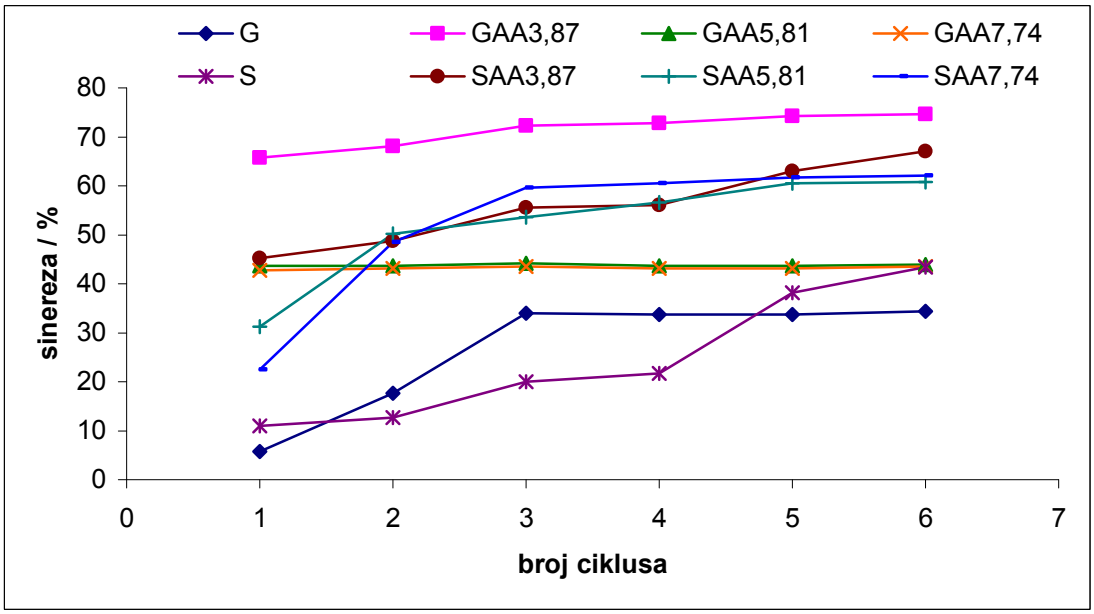
Tablica 16 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

	L*	**a***	**b***	**C***	**h***	**$\Delta E_{nat.}$**
G	75,16±0,05^{a}	-1,19±0,01^{b}	+1,35±0,01^{d}	1,79±0,01^{d}	131,5±0,4^{a}	
GA3,87	77,16±0,13^{c}	-1,39±0,03^{a}	+0,58±0,01^{b}	1,48±0,03^{c}	156,6±0,7^{c}	2,15
GA5,81	76,85±0,07^{b}	-1,19±0,04^{b}	+0,62±0,01^{c}	1,25±0,03^{b}	154,6±0,7^{b}	1,84
GA7,74	77,59±0,01^{d}	-1,03±0,02^{c}	+0,48±0,01^{a}	1,14±0,01^{a}	155,2±0,4^{b}	2,59
S	76,49±0,02^{a}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{c}	1,73±0,03^{c}	136,0±0,3^{a}	
SA3,87	77,09±0,04^{b,c}	-1,24±0,02^{a}	+0,23±0,01^{b}	1,09±0,02^{a}	169,4±0,5^{b}	1,16
SA5,81	77,16±0,13^{c}	-1,08±0,02^{b}	+0,18±0,01^{a}	1,11±0,02^{a,b}	170,6±0,5^{c}	1,25
SA7,74	77,04±0,01^{b}	-1,10±0,02^{b}	+0,22±0,01^{b}	1,14±0,01^{b}	169,4±0,2^{b}	1,15

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 52 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)



Slika 53 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

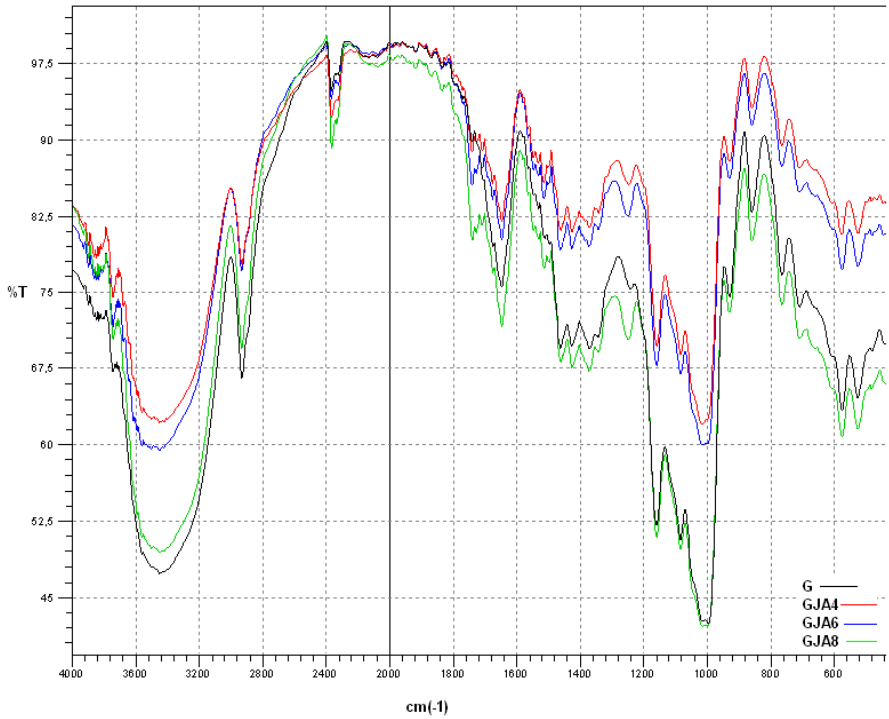
Tablica 17 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom acetanhidridom (A) u udjelima 3,87; 5,81 i 7,74 % (w/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03[a]	96,87±0,16[a]
GA3,87	0,75±0,36[a]	98,54±0,01[b]
GA5,81	0,54±0,02[a]	98,99±0,69[b]
GA7,74	0,53±0,01[a]	98,66±0,03[b]
S	0,57±0,11[b]	96,11±0,02[c]
SA3,87	1,58±0,06[c]	95,00±0,04[a]
SA5,81	0,10±0,01[a]	95,44±0,00[b]
SA7,74	0,10±0,00[a]	96,02±0,08[c]

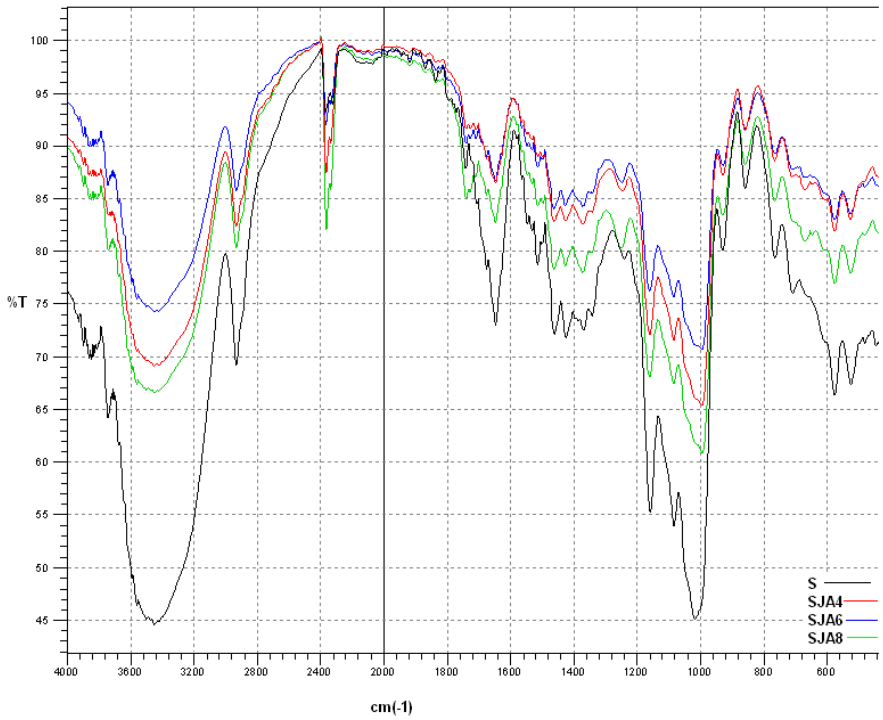
RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

Tablica 18 Stupanj supstitucije (DS) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w), izračunat preko postotka acetiliranja (% Acet)

	% Acet	***DS***
GJA4	2,993±0,000[a]	0,116±0,000[a]
GJA6	3,612±0,000[a]	0,141±0,000[a]
GJA8	3,750±0,000[a]	0,147±0,000[a]
SJA4	2,769±0,024[a]	0,107±0,001[a]
SJA6	3,320±0,024[b]	0,129±0,001[b]
SJA8	3,853±0,000[c]	0,151±0,000[c]



Slika 54 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 55 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

Tablica 19 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

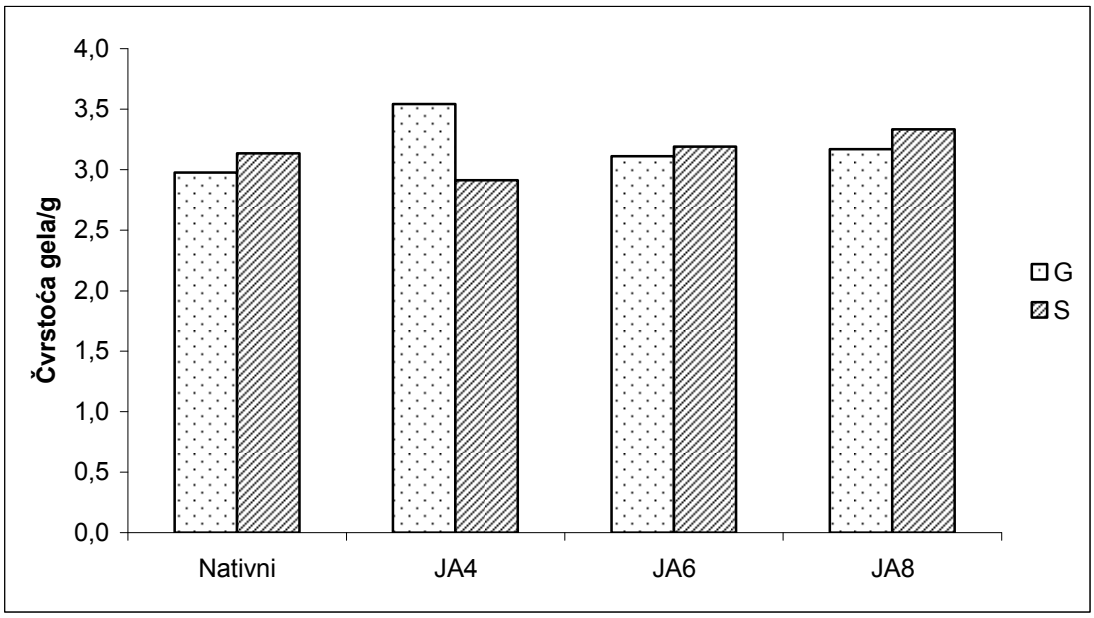
	t_o/°C	t_p/°C	t_e/°C	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07^{d}	62,68±0,03^{d}	66,66±0,06^{d}	7,17±0,10^{a}
GJA4	57,60±0,20^{c}	61,58±0,09^{c}	65,71±0,22^{c}	8,11±0,04^{c}
GJA6	55,82±0,05^{a}	59,36±0,12^{a}	63,46±0,19^{a}	7,64±0,17^{b}
GJA8	56,90±0,10^{b}	60,45±0,09^{b}	64,71±0,12^{b}	7,81±0,12^{b}
S	59,94±0,17^{d}	63,72±0,02^{d}	67,82±0,09^{d}	8,47±0,01^{d}
SJA4	59,02±0,07^{c}	63,08±0,13^{c}	67,44±0,12^{c}	8,29±0,05^{c}
SJA6	56,89±0,13^{b}	61,50±0,13^{b}	65,95±0,09^{b}	7,75±0,05^{b}
SJA8	55,26±0,05^{a}	59,77±0,09^{a}	64,27±0,15^{a}	7,40±0,02^{a}
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,57±0,29^{a,b}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{a}	3,42±0,01^{c}
GJA4	42,80±0,26^{b}	51,97±0,15^{b}	60,33±0,21^{a}	2,37±0,03^{b}
GJA6	42,43±0,47^{a,b}	51,10±0,36^{a}	60,37±0,50^{a}	2,34±0,02^{b}
GJA8	42,03±0,15^{a}	51,00±0,36^{a}	60,27±0,55^{a}	2,19±0,02^{a}
S	43,64±0,42^{c}	51,67±0,27^{a,b}	60,44±0,49^{b}	3,23±0,03^{b}
SJA4	41,98±0,23^{a}	51,23±0,25^{a}	59,87±0,15^{a}	2,13±0,07^{a}
SJA6	42,57±0,31^{b}	51,60±0,26^{a,b}	60,67±0,49^{b}	2,15±0,05^{a}
SJA8	42,47±0,15^{a,b}	52,00±0,40^{b}	60,73±0,14^{b}	2,11±0,07^{a}
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,57±0,29^{a,b}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{a}	3,42±0,01^{c}
GJA4	42,80±0,26^{b}	51,97±0,15^{b}	60,33±0,21^{a}	2,37±0,03^{b}
GJA6	42,43±0,47^{a,b}	51,10±0,36^{a}	60,37±0,50^{a}	2,34±0,02^{b}
GJA8	42,03±0,15^{a}	51,00±0,36^{a}	60,27±0,55^{a}	2,19±0,02^{a}
S	43,14±0,32^{b,c}	51,55±0,24^{a}	60,64±0,06^{b}	3,70±0,04^{c}
SJA4	43,37±0,21^{c}	53,25±0,40^{b}	61,33±0,38^{c}	2,45±0,05^{b}
SJA6	41,70±0,10^{a}	53,47±0,21^{b}	60,34±0,05^{a,b}	2,40±0,05^{a}
SJA8	42,83±0,38^{b}	51,33±0,46^{a}	60,13±0,32^{a}	2,32±0,06^{a}

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

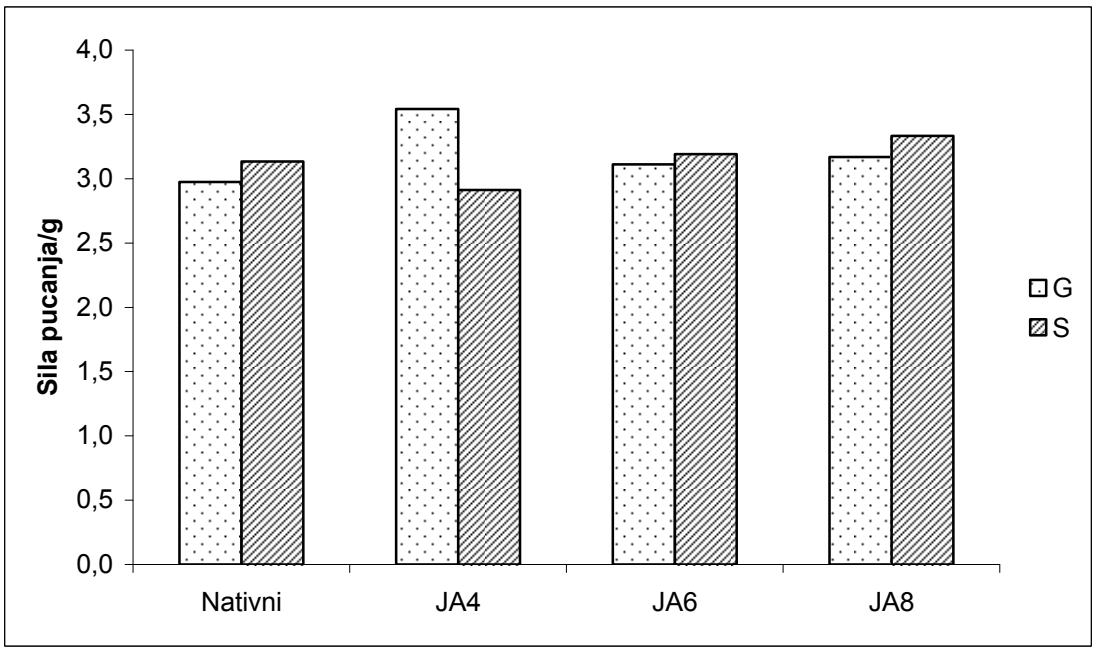
Tablica 20 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w). Paste su sadržavale 7 % (s. tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{c}	306,33±5,51^{a}	256,67±3,79^{a}	240,67±4,16^{a}	501,67±4,04^{a,b}	435,00±4,58^{c}	65,67±2,08^{a}	261,0±1,73^{a}
GJA4	62,67±0,32^{b}	368,67±3,06^{b}	362,00±3,61^{b}	224,67±3,06^{a}	507,67±5,77^{b}	412,67±5,51^{b}	144,00±0,00^{b}	283,0±4,00^{c}
GJA6	60,15±0,07^{a}	447,00±4,24^{c}	438,50±4,95^{c}	254,00±4,24^{c}	512,00±5,66^{b}	437,50±4,95^{c}	193,00±0,00^{d}	258,0±1,41^{a}
GJA8	62,20±0,14^{b}	373,50±3,54^{b}	369,50±4,95^{b}	225,00±0,00^{a}	496,00±5,66^{a}	388,50±4,95^{a}	148,50±3,54^{c}	271,0±5,66^{b}
S	65,60±0,36^{d}	291,00±3,61^{a}	272,33±4,16^{a}	214,00±3,00^{b}	457,67±3,79^{a}	391,67±4,04^{b,c}	77,00±2,65^{a}	243,67±1,53^{a}
SJA4	63,70±0,28^{c}	329,00±1,41^{b}	328,00±0,00^{b}	205,00±2,83^{a}	455,00±2,83^{a}	366,50±4,95^{a}	124,00±1,41^{b}	250,00±0,00^{a}
SJA6	62,00±0,28^{b}	380,00±2,83^{c}	376,00±1,41^{c}	229,50±2,12^{c}	490,00±2,83^{b}	382,00±5,66^{b}	150,50±4,95^{c}	260,50±0,71^{b}
SJA8	60,50±0,14^{a}	413,00±4,24^{d}	406,00±5,66^{d}	240,50±3,54^{d}	490,00±2,83^{b}	400,00±0,00^{c}	172,50±0,71^{d}	249,50±6,36^{a}

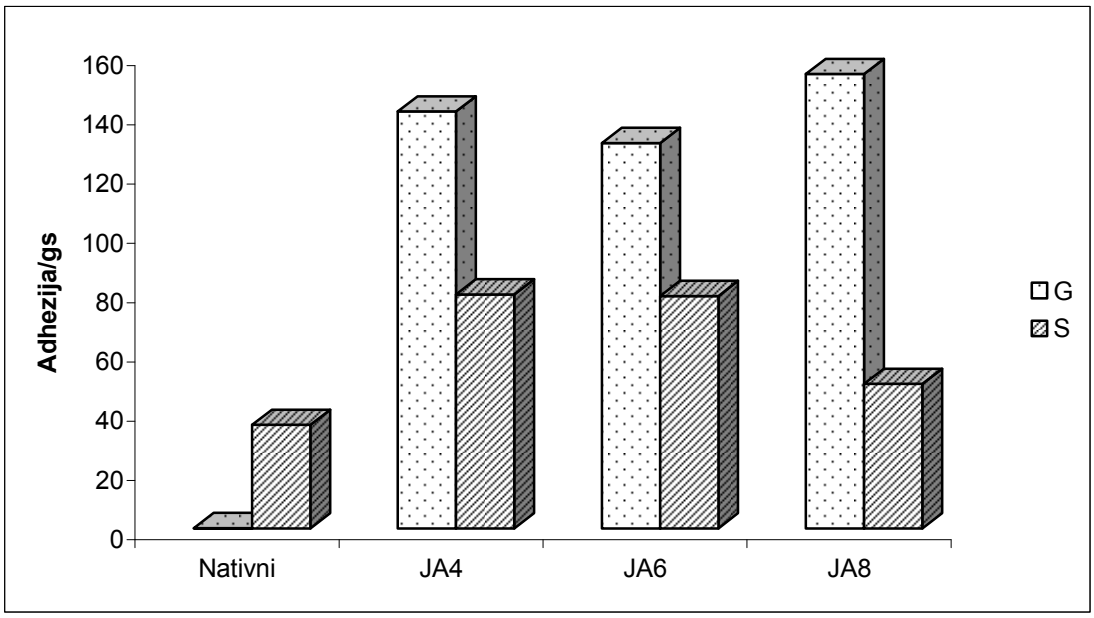
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



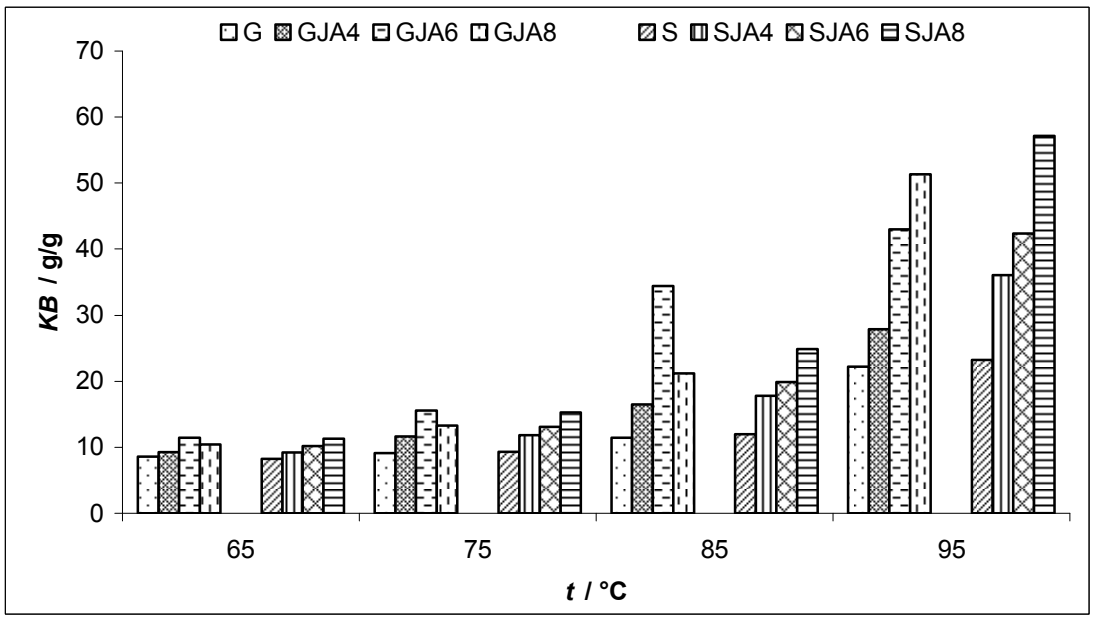
Slika 56 Čvrstoća gelova (11 % s.tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



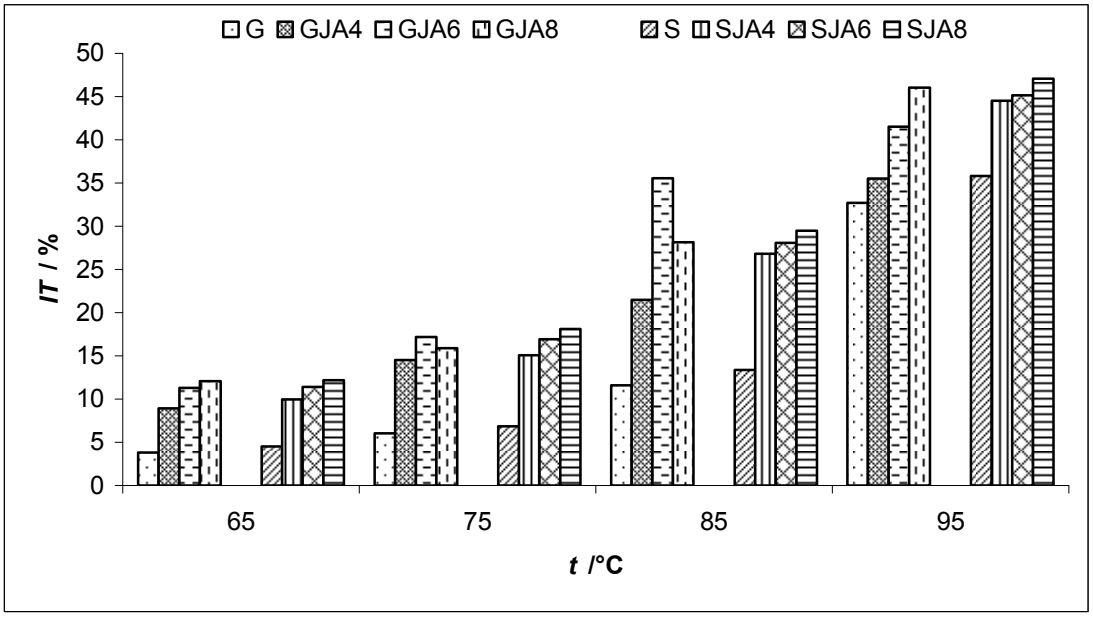
Slika 57 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 58 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 59 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

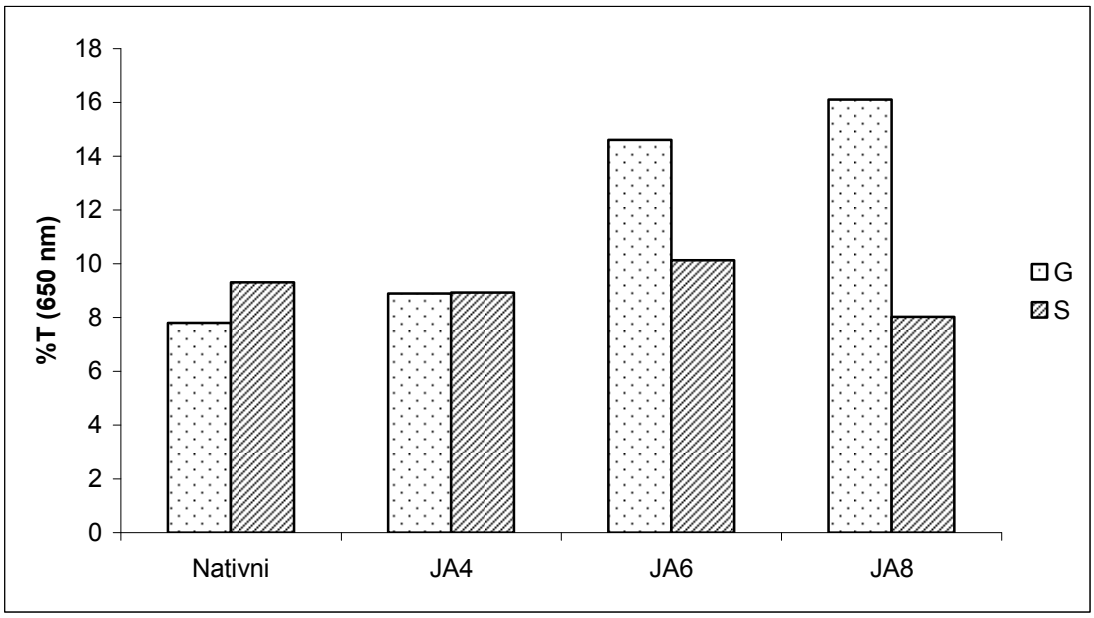


Slika 60 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

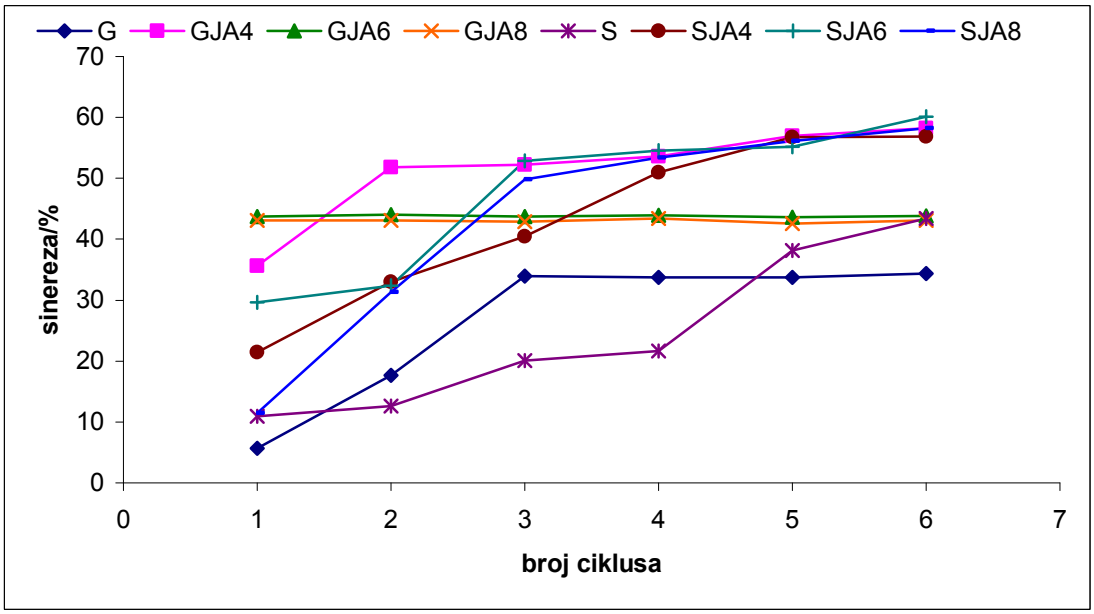
Tablica 21 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	L*	**a***	**b***	**C***	**h* (°)**	**$\Delta E_{nat.}$**
G	75,16±0,05^{b}	-1,19±0,01^{a}	+1,35±0,01^{c}	1,79±0,01^{d}	131,5±0,4^{a}	
GJA4	73,31±0,01^{a}	-1,21±0,02^{a}	+0,70±0,01^{b}	1,37±0,04^{c}	150,6±0,5^{b}	1,96
GJA6	77,00±0,05^{c}	-1,16±0,02^{a}	+0,56±0,01^{a}	1,30±0,02^{a}	155,1±0,3^{c}	2,00
GJA8	77,01±0,05^{c}	-1,04±0,02^{a}	+0,56±0,01^{a}	1,19±0,02^{b}	151,3±0,4^{d}	2,02
S	76,49±0,02^{a}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{d}	1,73±0,03^{b}	136,0±0,3^{a}	
SJA4	77,10±0,09^{c}	-0,90±0,02^{b}	+0,34±0,02^{c}	0,96±0,01^{a}	158,4±0,4^{b}	1,12
SJA6	77,14±0,04^{c}	-0,91±0,02^{b}	+0,19±0,01^{a}	0,95±0,01^{a}	168,0±0,6^{d}	1,26
SJA8	76,87±0,07^{b}	-0,91±0,01^{b}	+0,27±0,01^{b}	0,96±0,01^{a}	162,0±0,6^{c}	1,08

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 61 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 62 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

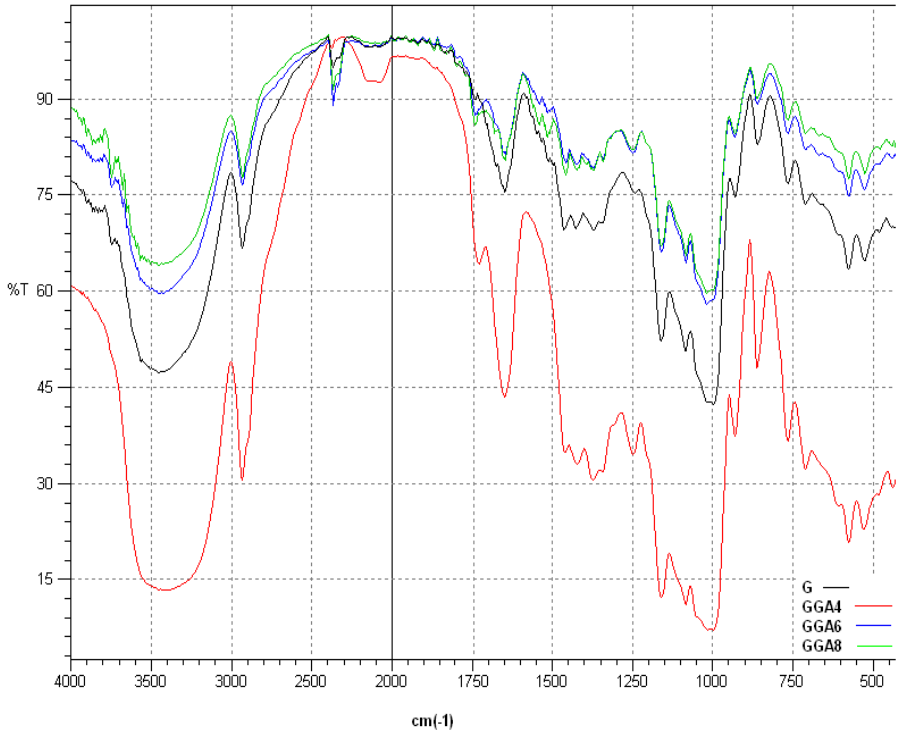
Tablica 22 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida (JA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03[a]	96,87±0,16[a]
GJA4	0,60±0,02[b]	98,13±0,06[c]
GJA6	1,19±0,10[c]	97,74±0,09[b]
GJA8	0,69±0,01[b]	98,72±0,07[d]
S	0,57±0,11[b]	96,11±0,02[b]
SJA4	0,08±0,01[a]	96,28±0,01[c]
SJA6	0,18±0,00[a]	98,03±0,02[d]
SJA8	0,11±0,01[a]	94,61±0,02[a]

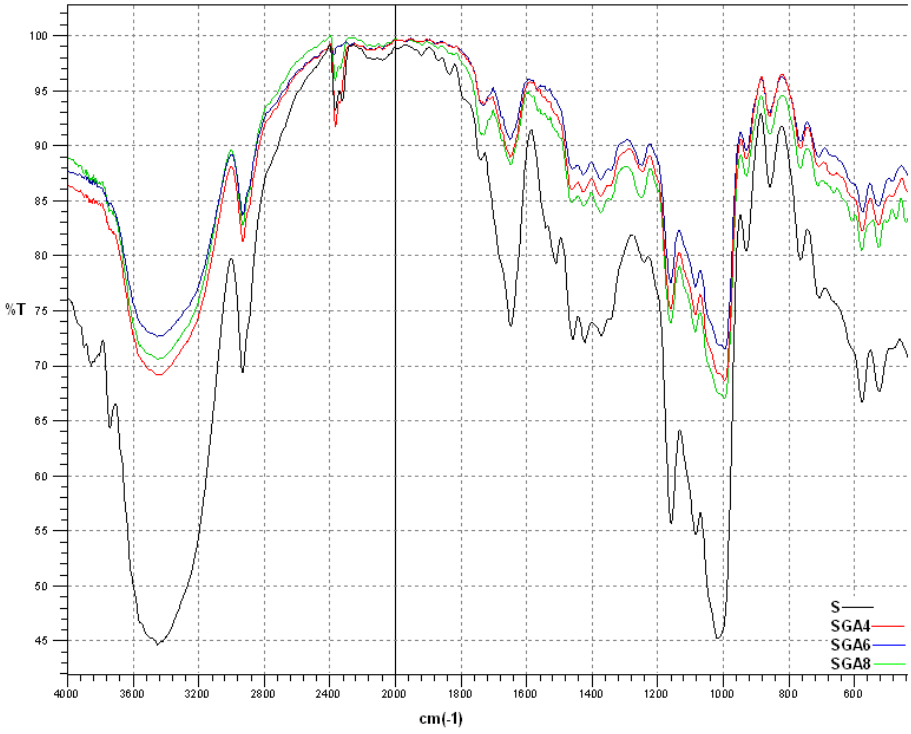
RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

Tablica 23 Stupanj supstitucije (DS) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w), izračunat preko postotka acetiliranja (% Acet)

	% Acet	***DS***
GGA4	2,958±0,000[a]	0,115±0,000[a]
GGA6	3,414±0,012[b]	0,133±0,000[b]
GGA8	3,646±0,000[c]	0,142±0,000[c]
SGA4	2,855±0,000[a]	0,111±0,000[a]
SGA6	3,354±0,000[a]	0,131±0,000[a]
SGA8	3,681±0,000[a]	0,144±0,000[a]



Slika 63 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 64 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

Tablica 24 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

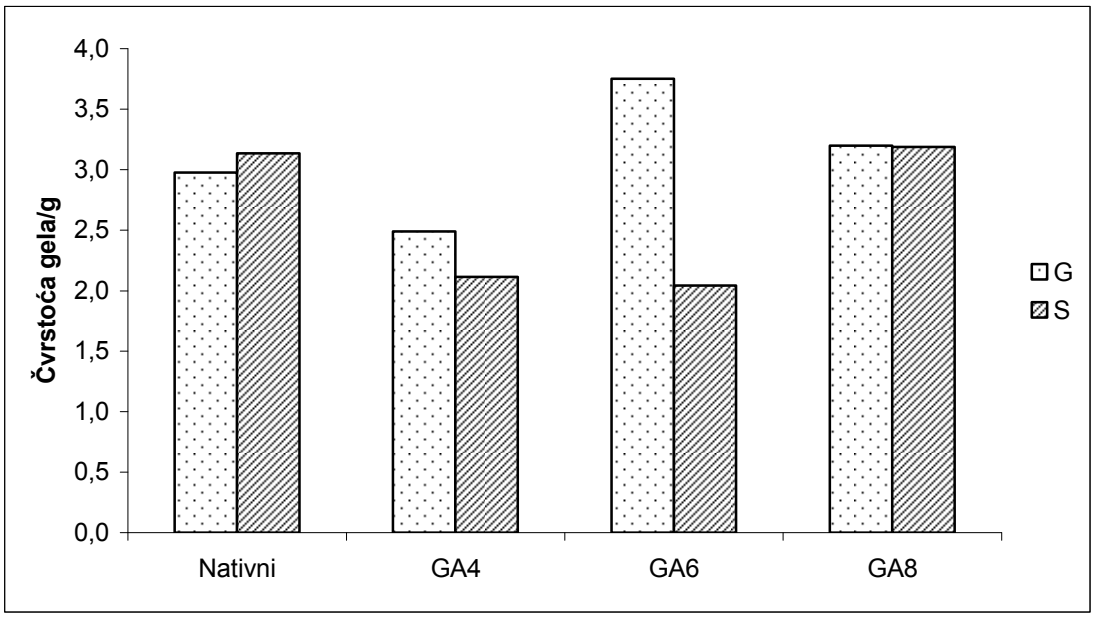
	t_o/°C	t_p/°C	t_e/°C	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07^{d}	62,68±0,03^{d}	66,66±0,06^{d}	7,17±0,10^{b}
GGA4	57,62±0,07^{c}	60,93±0,06^{c}	64,51±0,08^{b}	6,89±0,01^{a}
GGA6	56,57±0,03^{a}	59,90±0,03^{a}	64,05±0,04^{a}	7,48±0,07^{c}
GGA8	56,03±0,11^{b}	60,39±0,10^{b}	64,88±0,03^{c}	8,85±0,11^{d}
S	59,94±0,17^{c}	63,72±0,02^{c}	67,82±0,09^{c}	8,47±0,01^{c}
SGA4	58,06±0,23^{b}	62,03±0,13^{a}	66,21±0,17^{a}	7,79±0,05^{a}
SGA6	58,17±0,21^{b}	62,59±0,20^{b}	67,41±0,48^{c}	7,96±0,04^{b}
SGA8	57,14±0,14^{a}	62,01±0,11^{a}	66,83±0,06^{b}	8,79±0,05^{d}
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,57±0,29^{a}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{a}	3,42±0,01^{d}
GGA4	42,93±0,31^{a}	51,60±0,30^{a}	60,47±0,06^{a}	2,72±0,01^{c}
GGA6	42,32±0,33^{a}	51,61±0,02^{a,b}	60,37±0,25^{a}	2,31±0,03^{b}
GGA8	42,58±0,56^{a}	51,87±0,31^{a}	60,47±0,46^{a}	1,85±0,05^{a}
S	43,64±0,42^{c}	51,67±0,27^{b}	60,44±0,49^{b}	3,23±0,03^{c}
SGA4	41,36±0,11^{a}	51,17±0,30^{a}	60,96±0,05^{b}	2,02±0,09^{a}
SGA6	42,20±0,20^{a,b}	51,73±0,24^{b}	60,52±0,20^{b}	2,15±0,02^{b}
SGA8	42,33±0,06^{b}	51,58±0,19^{a,b}	59,89±0,10^{a}	2,05±0,05^{a}
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,30±0,36^{a}	51,40±0,70^{a}	60,74±0,41^{a,b}	3,81±0,04^{d}
GGA4	42,23±0,49^{a}	51,60±0,30^{a}	61,03±0,35^{b}	3,39±0,03^{c}
GGA6	42,80±0,35^{a}	52,73±0,38	60,90±0,10^{b}	3,31±0,02^{b}
GGA8	42,30±0,36^{a}	51,40±0,40^{a}	60,30±0,17^{a}	2,64±0,02^{a}
S	43,14±0,32^{b}	51,55±0,24^{a}	60,64±0,06^{a}	3,70±0,04^{d}
SGA4	42,47±0,06^{a}	53,42±0,13^{b}	60,54±0,39^{a}	2,85±0,04^{c}
SGA6	43,39±0,29^{b}	53,87±0,15^{c}	60,82±0,16^{a}	2,51±0,01^{b}
SGA8	43,35±0,43^{b}	53,83±0,25^{c}	60,61±0,44^{a}	2,05±0,05^{a}

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

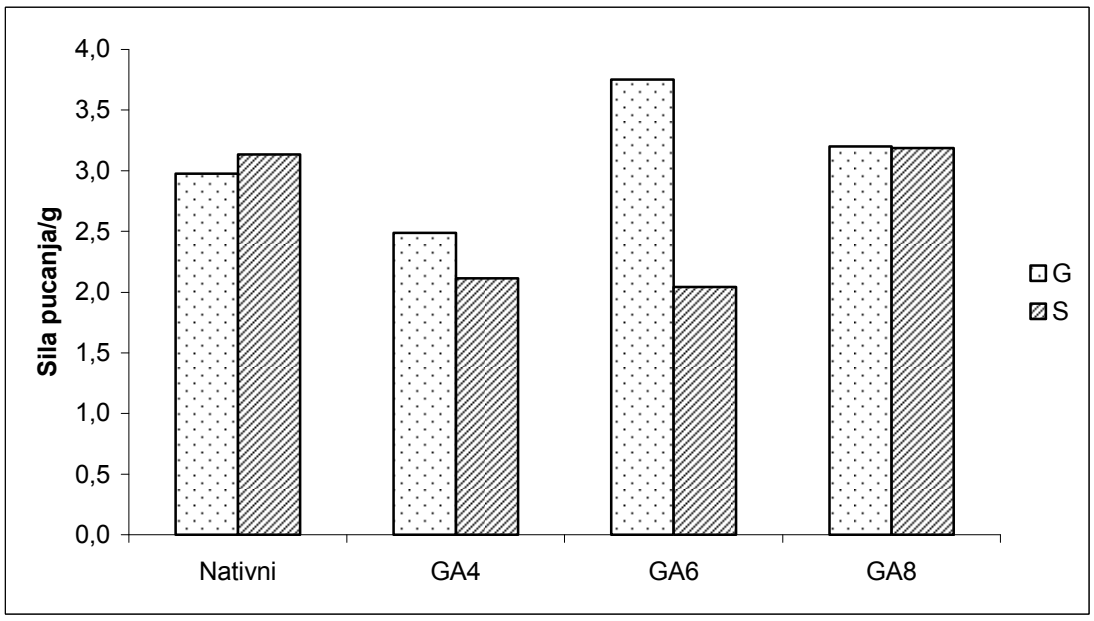
Tablica 25 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w). Paste su sadržavale 7 % (s. tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{d}	306,33±5,51^{a}	256,67±3,79^{a}	240,67±4,16^{a}	501,67±4,04^{a}	435,00±4,58^{a}	65,67±2,08^{a}	261,0±1,73^{b}
GGA4	63,90±0,14^{c}	663,00±4,24^{c}	628,50±2,12^{b}	565,50±0,71^{b}	968,00±2,83^{c}	844,00±5,66^{c}	97,50±4,95^{d}	402,5±3,54^{c}
GGA6	61,45±0,35^{a}	653,50±3,54^{b,c}	649,00±5,66^{c}	579,50±2,12^{c}	1034,00±5,66^{d}	893,00±7,07^{d}	74,00±1,41^{b}	454,5±3,54^{d}
GGA8	62,15±0,07^{b}	650,00±5,66^{b}	642,00±1,41^{c}	563,00±7,07^{b}	788,00±5,66^{b}	726,00±5,66^{b}	87,00±1,41^{c}	225,0±1,41^{a}
S	65,60±0,36^{d}	291,00±3,61^{a}	272,33±4,16^{a}	214,00±3,00^{a}	457,67±3,79^{a}	391,67±4,04^{a}	77,00±2,65^{a}	243,67±1,53c
SGA4	64,45±0,21^{c}	616,00±4,24^{b}	576,00±5,66^{b}	540,00±4,24^{b}	840,00±5,66^{d}	766,00±5,66^{c}	76,00±0,00^{a}	300,00±1,41^{d}
SGA6	63,20±0,42^{b}	659,50±0,71^{c}	621,00±2,83^{c}	589,00±7,07^{c}	765,00±7,07^{c}	700,50±4,95^{b}	70,50±6,36^{a}	176,00±0,00^{b}
SGA8	61,85±0,49^{a}	667,50±2,12^{c}	639,50±4,95^{d}	596,00±5,66^{c}	734,00±5,66^{b}	694,50±6,36^{b}	71,50±7,78^{a}	138,00±0,00^{a}

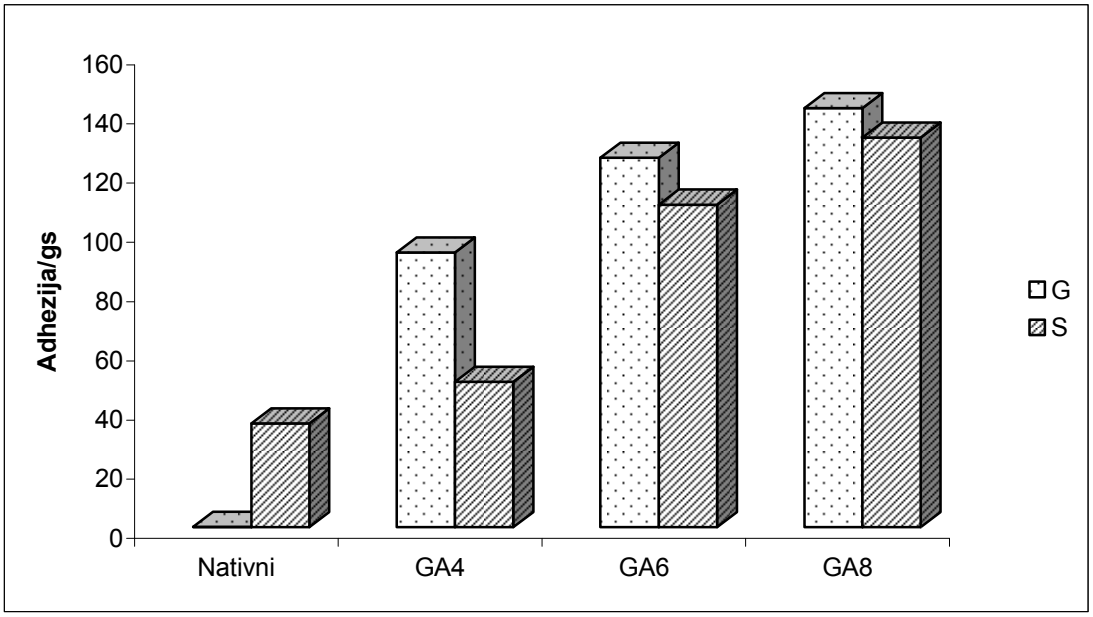
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



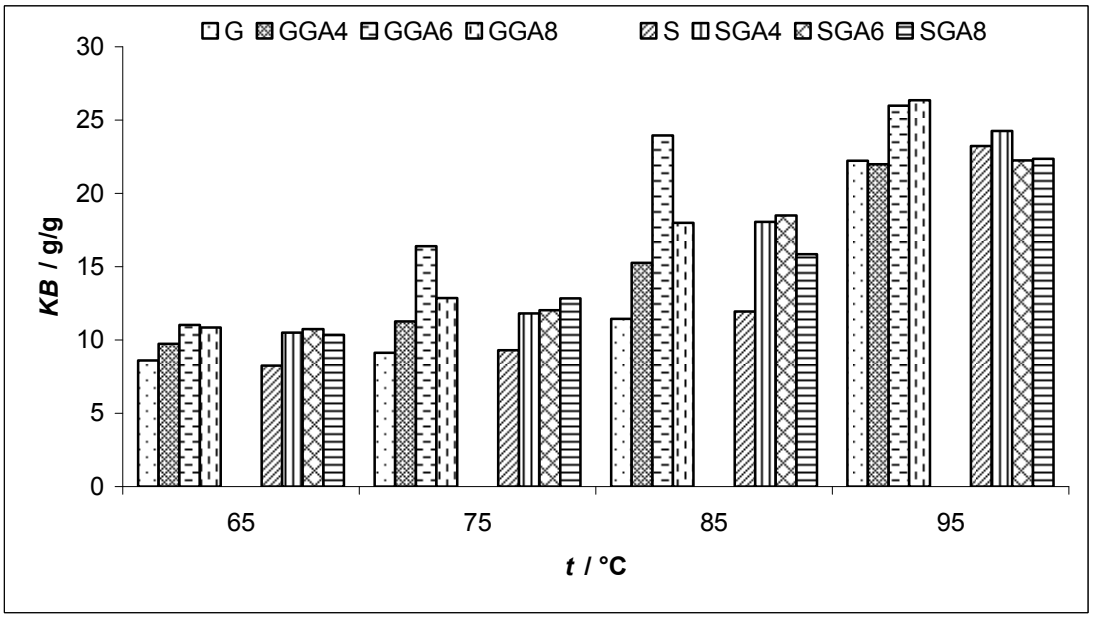
Slika 65 Čvrstoća gelova (11 % s. tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



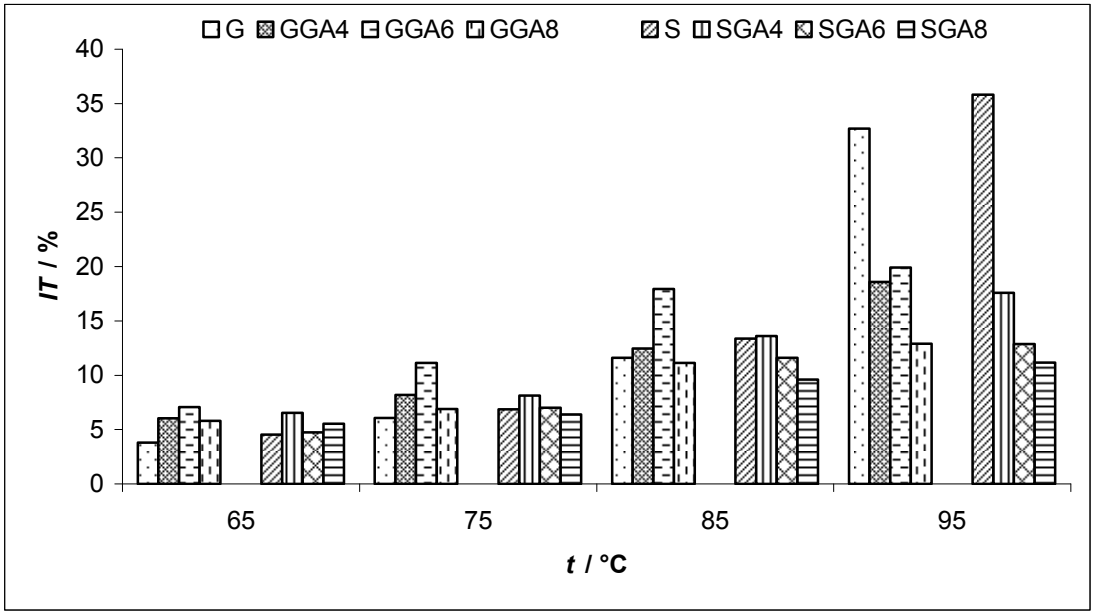
Slika 66 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 67 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 68 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

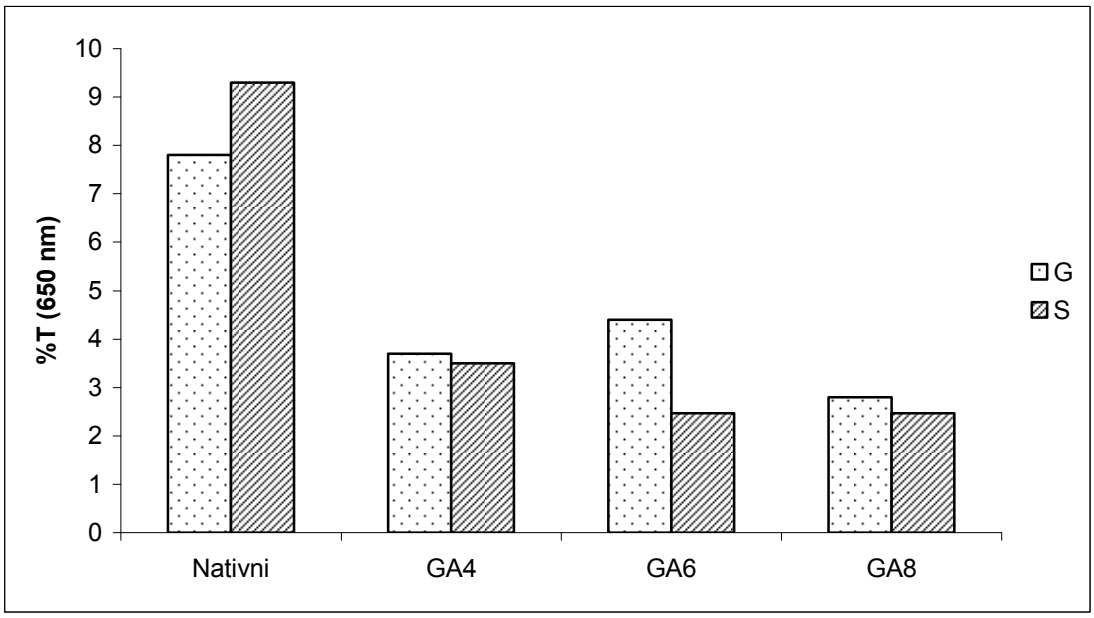


Slika 69 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

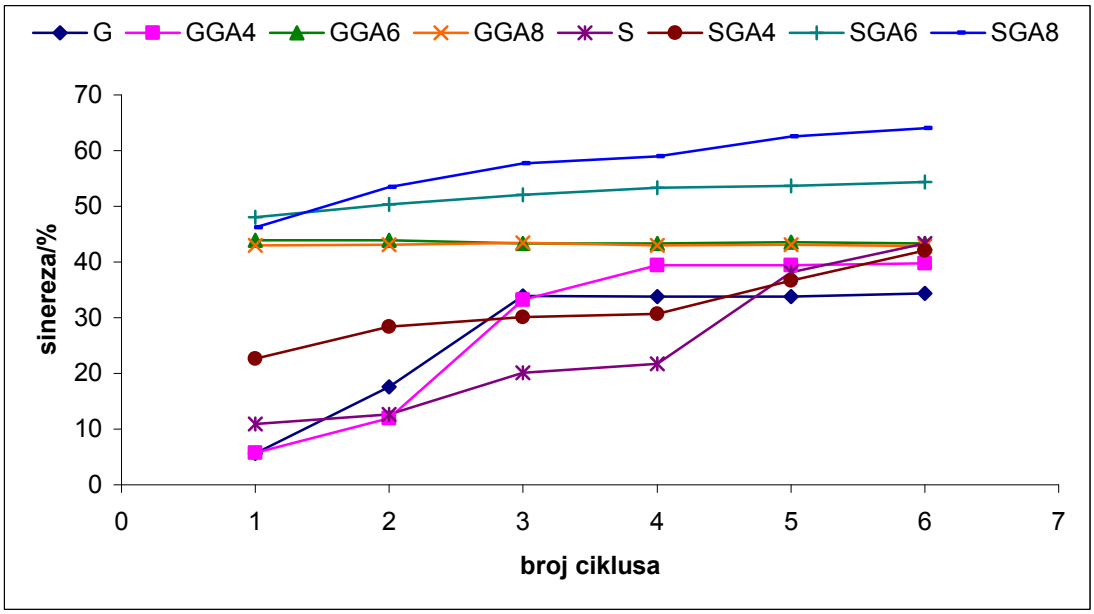
Tablica 26 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	L*	a*	b*	C*	h* (°)	$\Delta E_{nat.}$
G	75,16±0,05^{b}	-1,19±0,01^{a,b}	+1,35±0,01^{c}	1,79±0,01^{c}	131,5±0,4^{a}	
GGA4	73,92±0,01^{a}	-1,21±0,02^{a}	+0,50±0,01^{a}	1,26±0,02^{b}	157,1±0,4^{d}	1,50
GGA6	76,38±0,05^{c}	-1,15±0,04^{b}	+0,52±0,01^{b}	1,27±0,02^{b}	155,4±0,6^{c}	1,48
GGA8	77,36±0,03^{d}	-1,04±0,02^{c}	+0,50±0,01^{a,b}	1,14±0,02^{a}	153,5±0,7^{b}	2,36
S	76,49±0,02^{a}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{d}	1,73±0,03^{b}	136,0±0,3^{a}	
SGA4	77,14±0,02^{b}	-0,92±0,02^{b}	+0,14±0,01^{a}	0,92±0,03^{a}	171,8±0,6^{d}	1,30
SGA6	77,19±0,04^{b}	-0,91±0,01^{b,c}	+0,22±0,00^{b}	0,93±0,02^{a}	166,3±0,6^{c}	1,26
SGA8	77,16±0,07^{b}	-0,89±0,01^{c}	+0,25±0,01^{c}	0,92±0,02^{a}	165,1±0,4^{b}	1,23

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 70 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 71 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

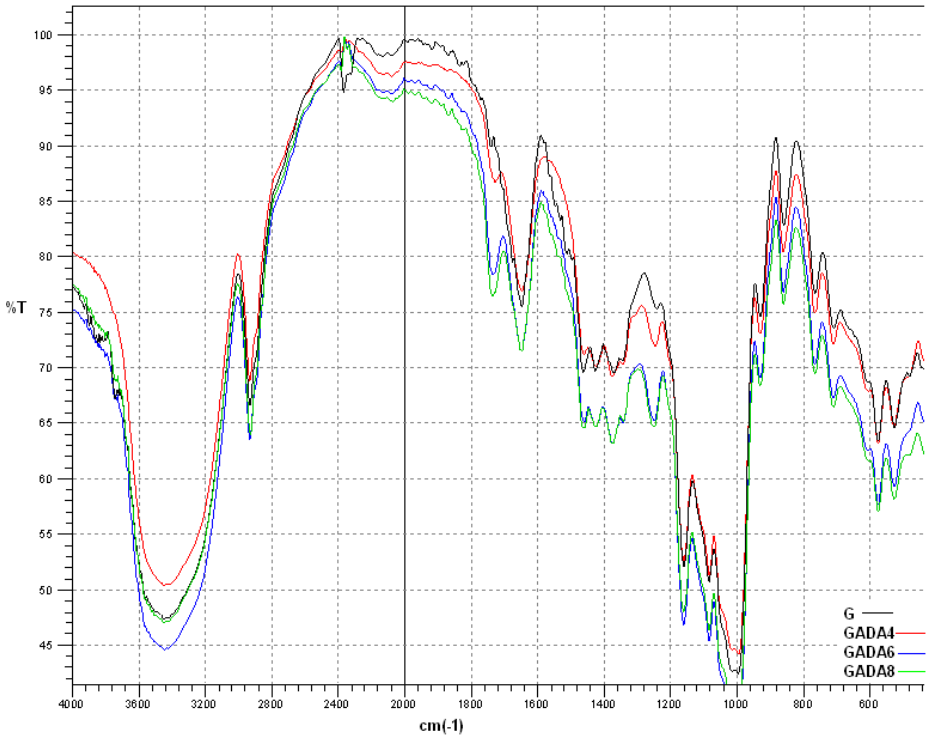
Tablica 27 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (GA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03[a]	96,87±0,16[a]
GGA4	0,62±0,14[b]	99,20±0,08[b]
GGA6	0,49±0,05[a]	99,58±0,38[b]
GGA8	0,68±0,04[b]	100,30±0,47[b]
S	0,57±0,11[a]	96,11±0,02[b]
SGA4	3,06±0,10[c]	94,31±0,00[a]
SGA6	1,73±0,05[b]	94,34±0,01[a]
SGA8	0,69±0,01[a]	98,51±0,03[c]

RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

Tablica 28 Stupanj supstitucije (DS) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w), izračunat preko postotka acetiliranja (% Acet)

	% Acet	***DS***
GADA4	2,890±0,000[a]	0,112±0,000[a]
GADA6	3,612±0,000[a]	0,141±0,000[a]
GADA8	3,836±0,000[a]	0,150±0,000[a]
SADA4	2,924±0,000[a]	0,113±0,000[a]
SADA6	3,388±0,000[a]	0,132±0,000[a]
SADA8	3,681±0,000[a]	0,144±0,000[a]



Slika 72 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 73 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

Tablica 29 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

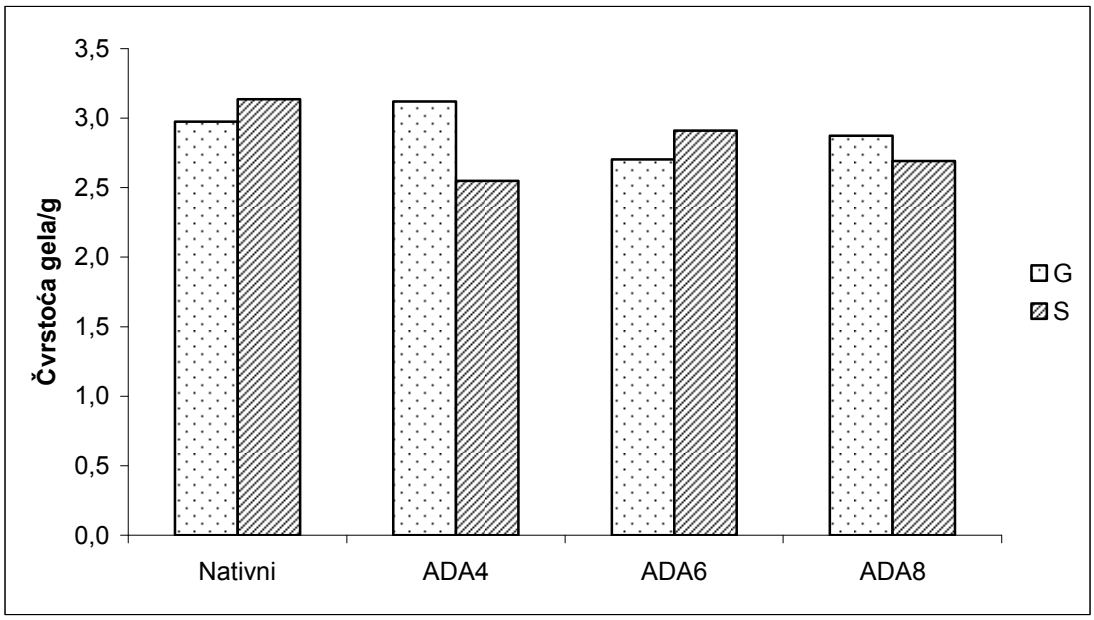
	t_o/ºC	t_p/ºC	t_e/ºC	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07^{c}	62,68±0,03^{c}	66,66±0,06^{c}	7,17±0,10^{a}
GADA4	58,11±0,18^{b}	61,45±0,15^{b}	65,33±0,40^{b}	7,21±0,49^{a}
GADA6	56,03±0,06^{a}	59,55±0,05^{a}	63,64±0,03^{a}	7,60±0,06^{a,b}
GADA8	56,05±0,13^{a}	59,30±0,53^{a}	63,90±0,10^{a}	7,85±0,09^{b}
S	59,94±0,17^{d}	63,72±0,02^{d}	67,82±0,09^{d}	8,47±0,01^{c}
SADA4	58,18±0,07^{c}	62,34±0,13^{c}	66,65±0,11^{c}	8,61±0,05^{d}
SADA6	56,36±0,15^{a}	60,91±0,12^{a}	65,40±0,06^{a}	7,51±0,04^{b}
SADA8	57,30±0,10^{b}	61,76±0,14^{b}	66,12±0,10^{b}	6,97±0,03^{a}
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4ºC (n=3)				
G	42,57±0,29^{a}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{b}	3,42±0,01^{d}
GADA4	42,63±0,35^{a}	51,47±0,35^{a}	60,20±0,17^{b}	2,84±0,02^{c}
GADA6	42,80±0,20^{a}	51,59±0,17^{a}	57,43±2,20^{a}	2,45±0,03^{b}
GADA8	42,33±0,31^{a}	51,90±0,10^{a,b}	60,63±0,42^{b}	2,35±0,02^{a}
S	43,64±0,42^{c}	51,67±0,27^{a}	60,44±0,49^{d}	3,23±0,03^{d}
SADA4	42,60±0,10^{a,b}	53,61±3,67^{a}	60,43±0,11^{c}	2,60±0,02^{c}
SADA6	43,06±0,10^{b}	52,51±0,15^{a}	60,78±0,41^{b}	2,41±0,01^{b}
SADA8	42,33±0,21^{a}	51,66±0,19^{a}	60,48±0,20^{a}	2,28±0,02^{a}
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4ºC (n=3)				
G	42,30±0,36^{a,b}	51,40±0,70^{a}	60,74±0,41^{a}	3,81±0,04^{d}
GADA4	42,43±0,06^{a,b}	51,30±0,46^{a}	60,31±0,06^{a}	3,34±0,01^{c}
GADA6	42,82±0,29^{b}	52,43±0,15^{b}	60,89±0,36^{a}	3,10±0,05^{b}
GADA8	42,27±0,35^{a}	51,57±0,15^{a}	60,87±0,40^{a}	2,87±0,01^{a}
S	43,14±0,32^{b}	51,55±0,24^{b}	60,64±0,06^{a}	3,70±0,04^{d}
SADA4	42,95±0,15^{b}	53,74±0,24^{c}	60,74±0,22^{a}	2,81±0,01^{c}
SADA6	43,38±0,12^{b}	54,15±0,22^{c}	61,74±0,26^{b}	2,64±0,03^{b}
SADA8	41,98±0,42^{a}	51,01±0,26^{a}	60,50±0,17^{a}	2,55±0,01^{a}

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

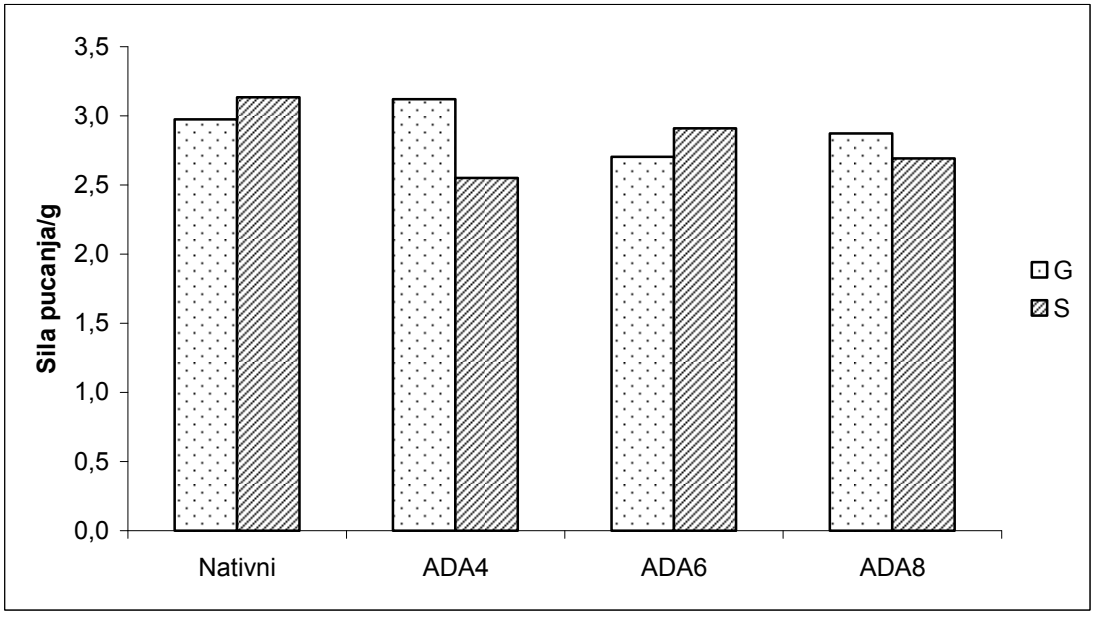
Tablica 30 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w). Paste su sadržavale 7 % (s. tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{c}	306,33±5,51^{a}	256,67±3,79^{a}	240,67±4,16^{a}	501,67±4,04^{a}	435,00±4,58^{a}	65,67±2,08^{a}	261,0±1,73^{a}
GADA4	62,65±0,35^{b}	487,00±1,41^{b}	476,50±7,78^{b}	358,50±4,95^{b}	691,50±9,19^{b}	561,50±0,71^{b}	128,50±3,54^{b}	333,0±4,24^{b}
GADA6	60,95±0,35^{a}	541,00±2,83^{d}	537,50±2,12^{d}	397,50±2,12^{c}	732,00±2,83^{c}	641,50±2,12^{c}	143,50±0,71^{c}	334,5±4,95^{b}
GADA8	60,80±0,14^{a}	498,50±3,54^{c}	489,00±4,24^{c}	365,50±0,71^{b}	737,00±9,90^{c}	569,00±5,66^{b}	133,00±2,83^{b}	371,5±9,19^{c}
S	65,60±0,36^{c}	291,00±3,61^{c}	272,33±4,16^{a}	214,00±3,00^{a}	457,67±3,79^{a}	391,67±4,04^{a}	77,00±2,65^{a}	243,67±1,53^{a}
SADA4	63,50±0,28^{b}	472,00±0,00^{b}	465,50±2,12^{c}	375,00±5,66^{c}	754,00±5,66^{d}	555,00±11,31^{c}	97,00±5,66^{b}	379,00±0,00^{d}
SADA6	61,60±0,14^{a}	472,00±14,14^{b}	468,50±13,44^{c}	324,00±5,66^{b}	631,00±1,41^{b}	501,50±0,71^{b}	148,00±8,49^{d}	307,00±4,24^{b}
SADA8	61,45±0,07^{a}	453,50±4,95^{a}	445,00±7,07^{b}	322,50±3,54^{b}	647,50±6,36^{c}	495,00±2,83^{b}	131,00±1,41^{c}	325,00±9,90^{c}

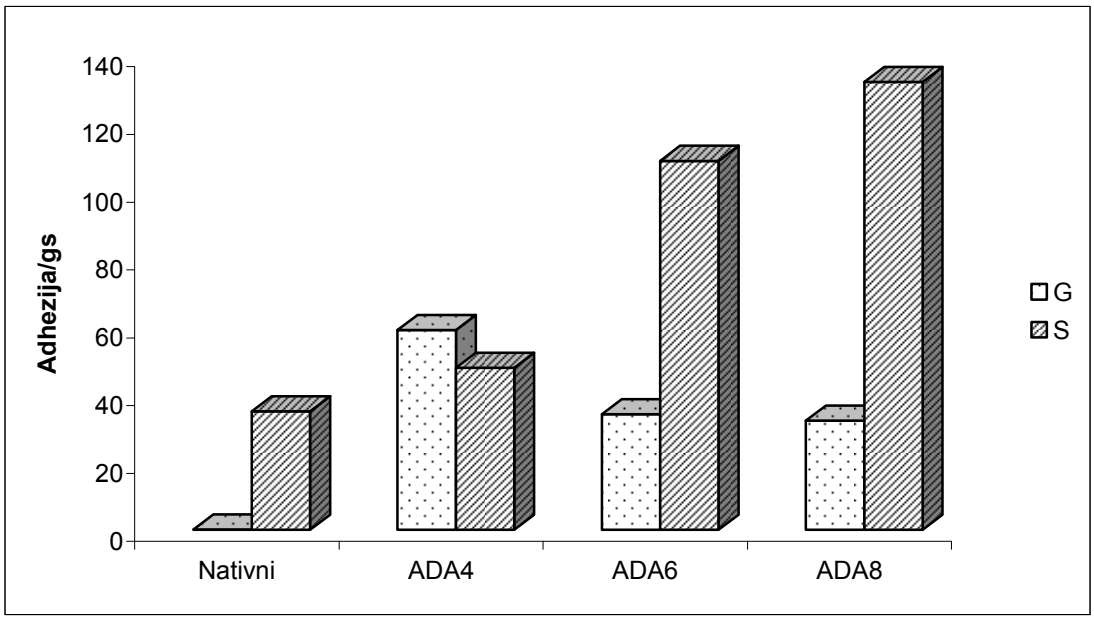
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



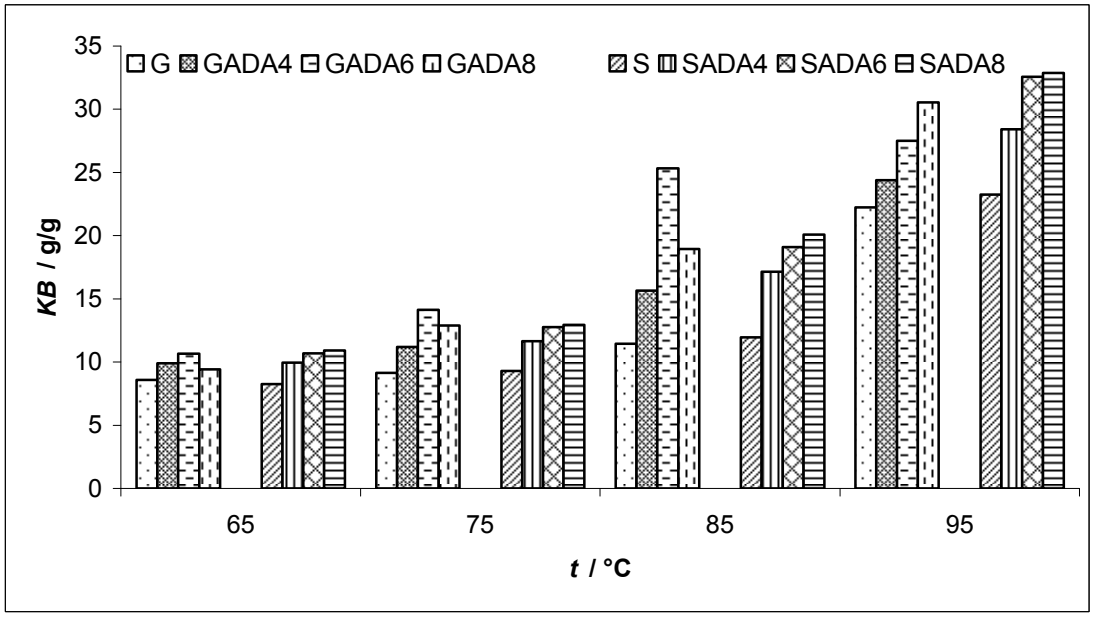
Slika 74 Čvrstoća gelova (11 % s. tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



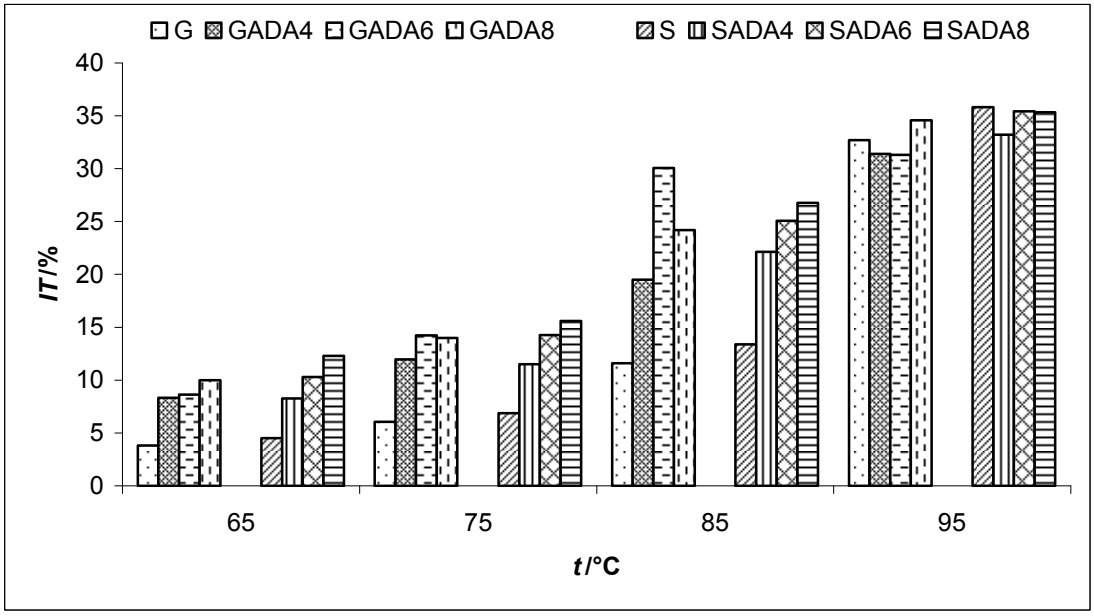
Slika 75 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 76 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 77 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

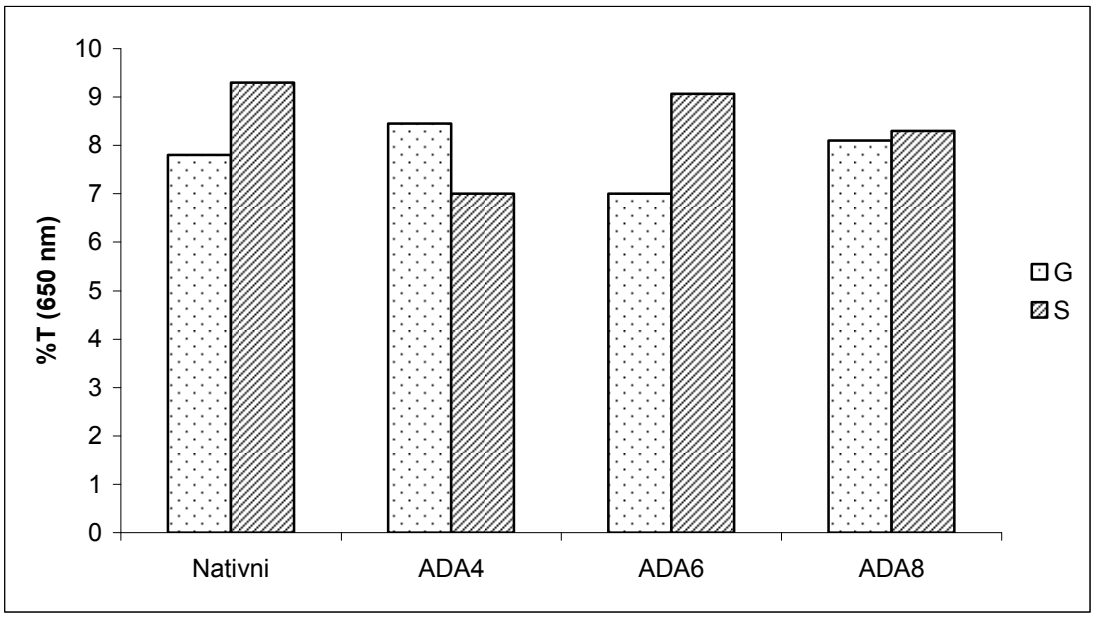


Slika 78 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

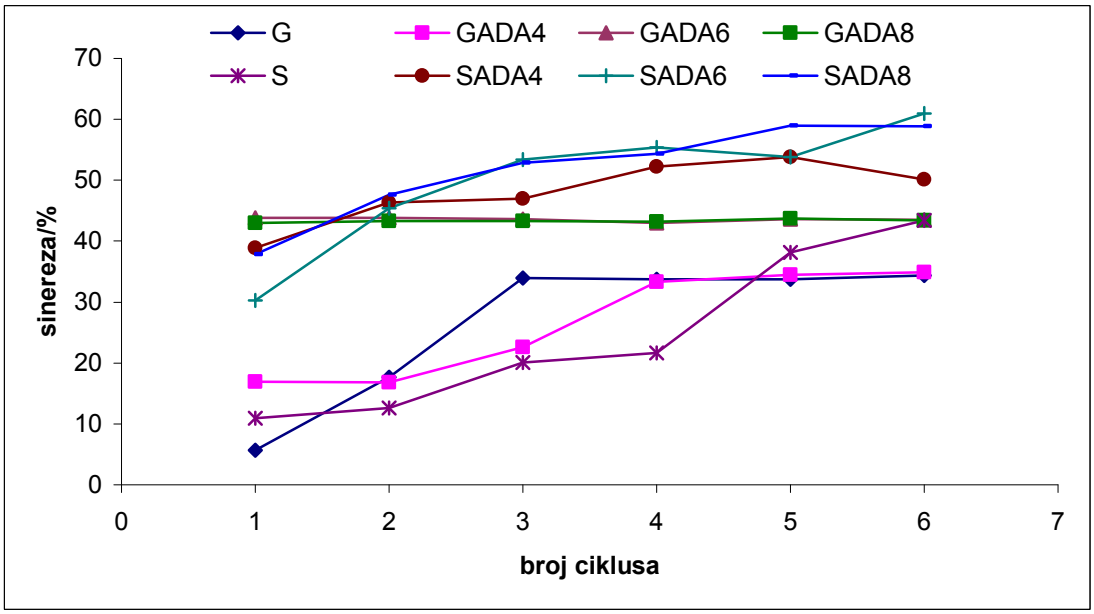
Tablica 31 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	L*	**a***	**b***	**C***	**h***	**$\Delta E_{nat.}$**
G	75,16±0,05^{b}	-1,19±0,01^{a}	+1,35±0,01^{c}	1,79±0,01^{c}	131,5±0,4^{a}	
GADA4	73,69±0,10^{a}	-1,16±0,01^{b}	+0,65±0,01^{b}	1,29±0,02^{b}	150,3±0,2^{c}	1,63
GADA6	77,33±0,04^{d}	-1,14±0,02^{b}	+0,57±0,01^{a}	1,29±0,01^{b}	153,5±0,3^{d}	2,31
GADA8	77,04±0,06^{c}	-0,95±0,01^{c}	+0,66±0,01^{b}	1,17±0,03^{a}	146,4±0,4^{b}	2,02
S	76,49±0,02^{b}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{d}	1,73±0,03^{c}	136,0±0,3^{a}	
SADA4	76,88±0,16^{c}	-0,81±0,02^{b,c}	+0,38±0,02^{b}	0,85±0,02^{a}	156,1±0,2^{c}	1,02
SADA6	76,87±0,09^{c}	-0,83±0,01^{b}	+0,23±0,01^{a}	0,84±0,02^{a}	164,4±0,6^{d}	1,14
SADA8	76,00±0,10^{a}	-0,78±0,03^{c}	+0,43±0,02^{c}	0,89±0,01^{b}	152,3±0,4^{b}	1,04

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 79 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 80 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

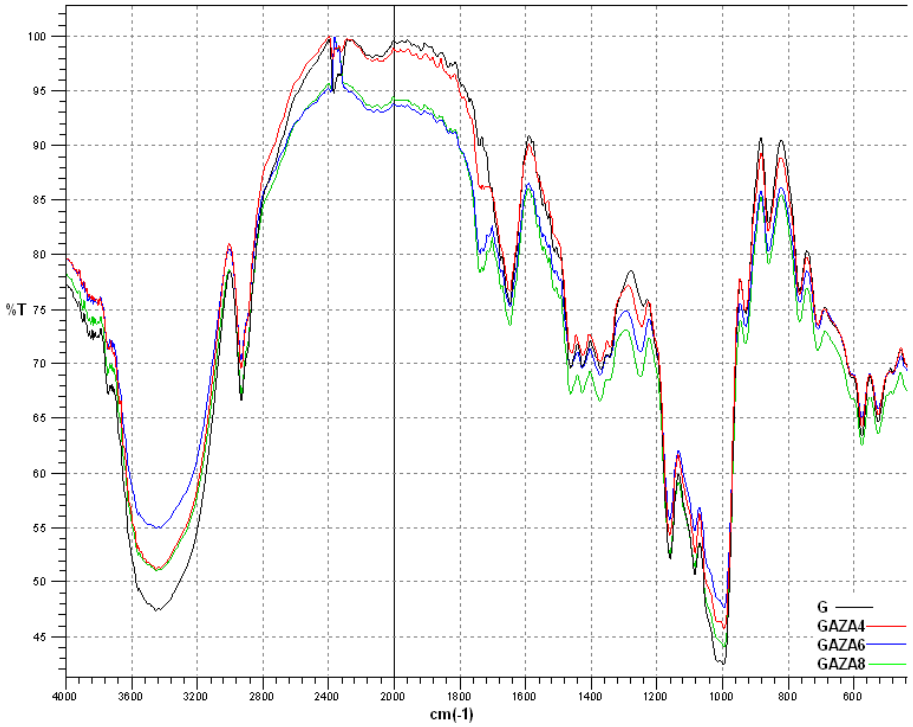
Tablica 32 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (ADA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03[a]	96,87±0,16[a]
GADA4	0,96±0,03[c]	96,89±0,14[a]
GADA6	0,48±0,03[a]	98,78±0,14[b]
GADA8	0,76±0,11[b]	99,65±0,28[c]
S	0,57±0,11[b]	96,11±0,02[c]
SADA4	0,14±0,01[a]	96,91±0,02[d]
SADA6	0,21±0,00[a]	95,16±0,02[b]
SADA8	0,48±0,00[b]	95,07±0,01[a]

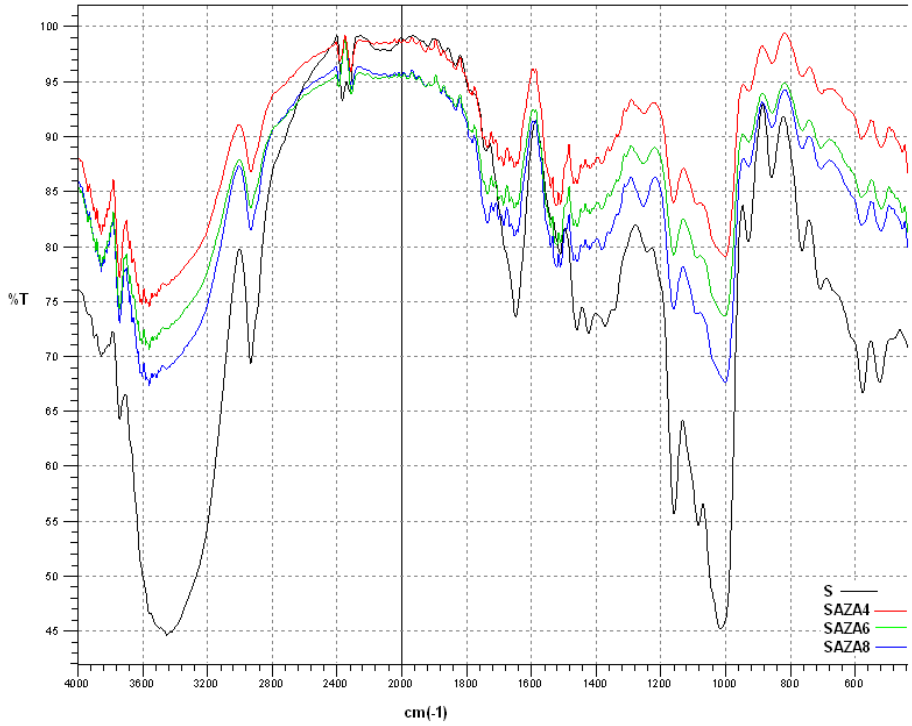
RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

Tablica 33 Stupanj supstitucije (DS) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w), izračunat preko postotka acetiliranja (% Acet)

	% Acet	***DS***
GAZA4	2,804±0,000[a]	0,109±0,000[a]
GAZA6	3,457±0,000[b]	0,135±0,000[b]
GAZA8	3,629±0,024[c]	0,142±0,001[c]
SAZA4	2,907±0,000[a]	0,113±0,000[a]
SAZA6	3,320±0,000[b]	0,129±0,000[b]
SAZA8	3,793±0,012[c]	0,148±0,000[c]



Slika 81 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 82 IR-spektar škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

Tablica 34 DMK parametri želatinizacije i retrogradacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

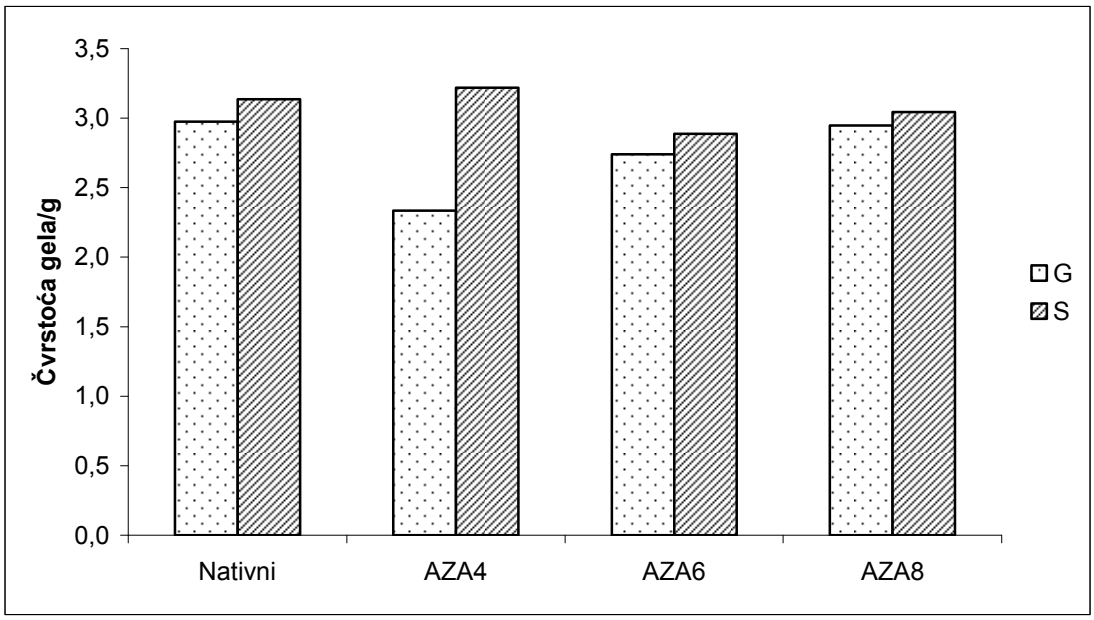
	t_o/°C	t_p/°C	t_e/°C	ΔH / J/g
Želatinizacija (n=3)				
G	59,49±0,07^{d}	62,68±0,03^{d}	66,66±0,06^{d}	7,17±0,10^{a}
GAZA4	57,96±0,05^{c}	61,86±0,05^{c}	65,91±0,10^{c}	7,94±0,11^{c}
GAZA6	56,17±0,15^{a}	59,70±0,10^{a}	63,80±0,17^{a}	7,63±0,21^{b}
GAZA8	56,61±0,09^{b}	60,39±0,10^{b}	64,43±0,06^{b}	7,82±0,12^{b,c}
S	59,94±0,17^{d}	63,72±0,02^{c}	67,82±0,09^{d}	8,47±0,01^{d}
SAZA4	58,40±0,44^{c}	62,27±0,12^{b}	66,33±0,06^{c}	7,44±0,04^{c}
SAZA6	57,23±0,06^{b}	62,12±0,08^{b}	63,80±0,17^{a}	7,16±0,01^{b}
SAZA8	55,44±0,06^{a}	60,61±0,35^{a}	64,83±0,07^{b}	6,66±0,01^{a}
Retrogradacija nakon 7 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,57±0,29^{a,b}	52,10±0,26^{b}	60,45±0,05^{a}	3,42±0,01^{d}
GAZA4	42,47±0,29^{a,b}	52,27±0,06^{b}	60,20±0,10^{a}	2,52±0,01^{c}
GAZA6	42,17±0,35^{a}	51,23±0,38^{a}	60,27±0,12^{a}	2,40±0,01^{a}
GAZA8	42,73±0,06^{b}	51,31±0,18^{a}	60,23±0,25^{a}	2,48±0,02^{b}
S	43,64±0,42^{c}	51,67±0,27^{b}	60,44±0,49^{b}	3,23±0,03^{c}
SAZA4	42,77±0,25^{b}	51,82±0,23^{b}	59,81±0,10^{a}	2,35±0,03^{b}
SAZA6	41,86±0,15^{a}	50,99±0,23^{a}	59,97±0,15^{a,b}	2,24±0,03^{a}
SAZA8	42,11±0,20^{a}	51,02±0,33^{a}	60,26±0,29^{a,b}	2,20±0,02^{a}
Retrogradacija nakon 14 dana pri 4°C (n=3)				
G	42,30±0,36^{a}	51,40±0,70^{a}	60,74±0,41^{a}	3,81±0,04^{d}
GAZA4	42,10±0,44^{a}	52,63±0,35^{b}	60,60±0,44^{a}	3,20±0,02^{c}
GAZA6	41,87±0,15^{a}	51,27±0,40^{a}	60,47±0,15^{a}	2,94±0,07^{b}
GAZA8	42,13±0,15^{a}	51,40±0,10^{a}	61,07±0,31^{a}	2,84±0,01^{a}
S	43,14±0,32^{a}	51,55±0,24^{a}	60,64±0,06^{a}	3,70±0,04^{c}
SAZA4	43,36±0,12^{a}	53,47±0,18^{b}	60,89±0,09^{a}	2,47±0,05^{b}
SAZA6	44,73±0,25^{b}	54,64±0,21^{c}	61,13±0,28^{a}	2,41±0,02^{b}
SAZA8	43,50±0,21^{a}	53,53±0,30^{b}	60,68±0,47^{a}	2,06±0,04^{a}

DMK parametri želatinizacije i retrogradacije: t_o, početna temperatura; t_p, temperatura vrha; t_e, završna temperatura; ΔH, entalpija želatinizacije/retrogradacije

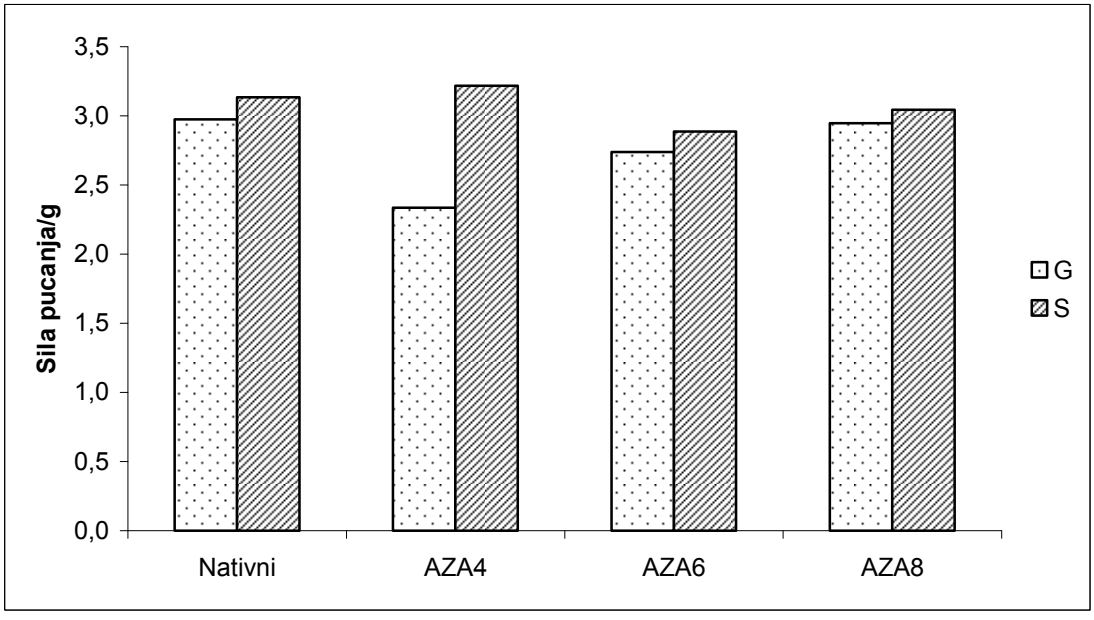
Tablica 35 Svojstva paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w). Paste su sadržavale 7 % (s. tv.) škroba

Škrob	Početak želatinizacije/°C	Maksimalna viskoznost/BU	Viskoznost pri 92 °C/BU	Nakon 15 min na 92 °C/BU	Viskoznost pri 50 °C/BU	Nakon 15 min pri 50 °C/BU	Kidanje	„Setback"
G	64,87±0,25^{d}	306,33±5,51^{a}	256,67±3,79^{a}	240,67±4,16^{a}	501,67±4,04^{a}	435,00±4,58^{a}	65,67±2,08^{b}	261,0±1,73^{a}
GAZA4	62,65±0,07^{c}	473,00±1,41^{c}	457,00±11,31^{b}	382,00±8,49^{c}	762,50±7,78^{c}	595,00±7,07^{b}	91,00±7,07^{c}	380,5±0,71^{c}
GAZA6	61,10±0,42^{a}	519,50±2,12^{d}	519,00±1,41^{c}	366,50±3,54^{b}	692,50±4,95^{b}	588,50±6,36^{b}	153,00±5,66^{d}	326,0±8,49^{b}
GAZA8	61,85±0,07^{b}	462,50±3,54^{b}	458,50±0,71^{b}	417,00±4,24^{d}	847,00±9,90^{d}	643,00±4,24^{c}	45,50±7,78^{a}	430,0±14,14^{d}
S	65,60±0,36^{c}	291,00±3,61^{a}	272,33±4,16^{a}	214,00±3,00^{a}	457,67±3,79^{a}	391,67±4,04^{a}	77,00±2,65^{b}	243,67±1,53^{a}
SAZA4	63,15±0,21^{b}	436,50±6,36^{b}	431,50±3,54^{b}	318,00±2,83^{c}	637,50±4,95^{b}	493,00±7,07^{c}	118,50±3,54^{c}	319,50±2,12^{b}
SAZA6	62,50±0,14^{b}	459,50±4,95^{c}	451,50±3,54^{c}	402,50±2,12^{d}	758,50±4,95^{c}	582,00±5,66^{d}	57,00±2,83^{a}	356,00±2,83^{d}
SAZA8	61,15±0,35^{a}	444,00±1,41^{b}	440,50±3,54^{b}	303,50±0,71^{b}	632,00±5,66^{b}	469,50±6,36^{b}	140,50±2,12^{d}	328,50±4,95^{c}

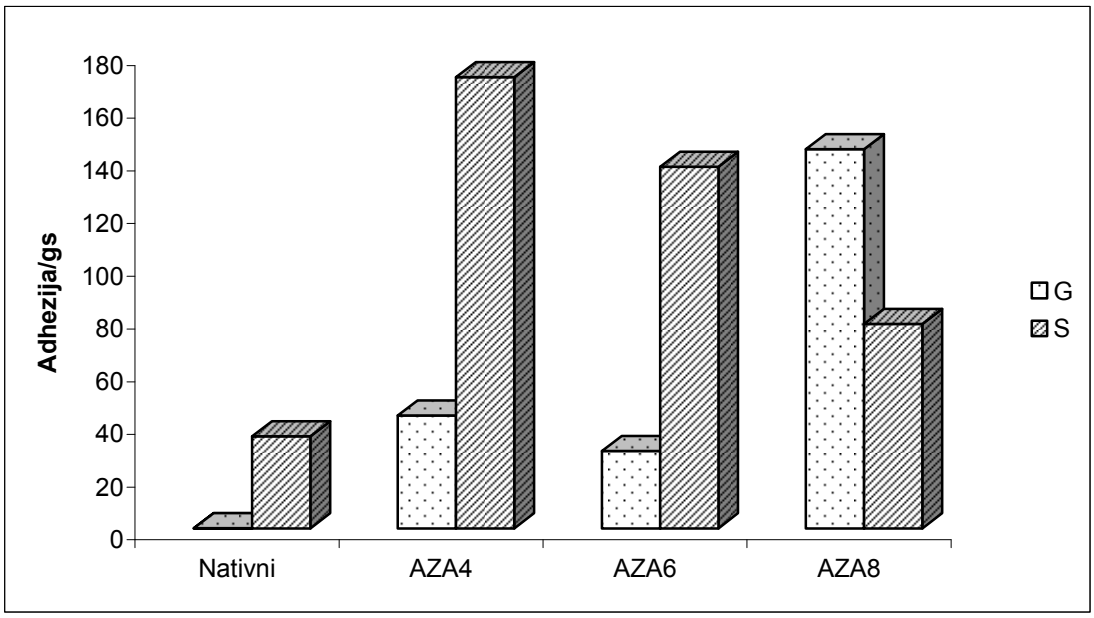
*Kidanje = viskoznost vrha - viskoznost 92 °C/15 min; „setback" = viskoznost 50 °C - viskoznost 92 °C/15 min.



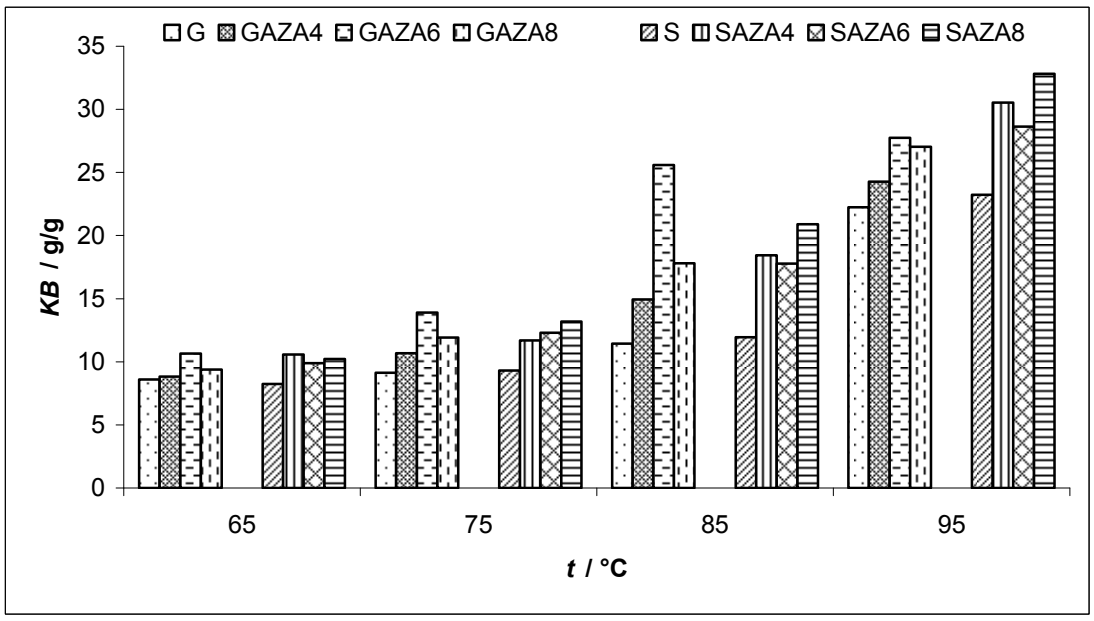
Slika 83 Čvrstoća gelova (11 % s. tv.) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



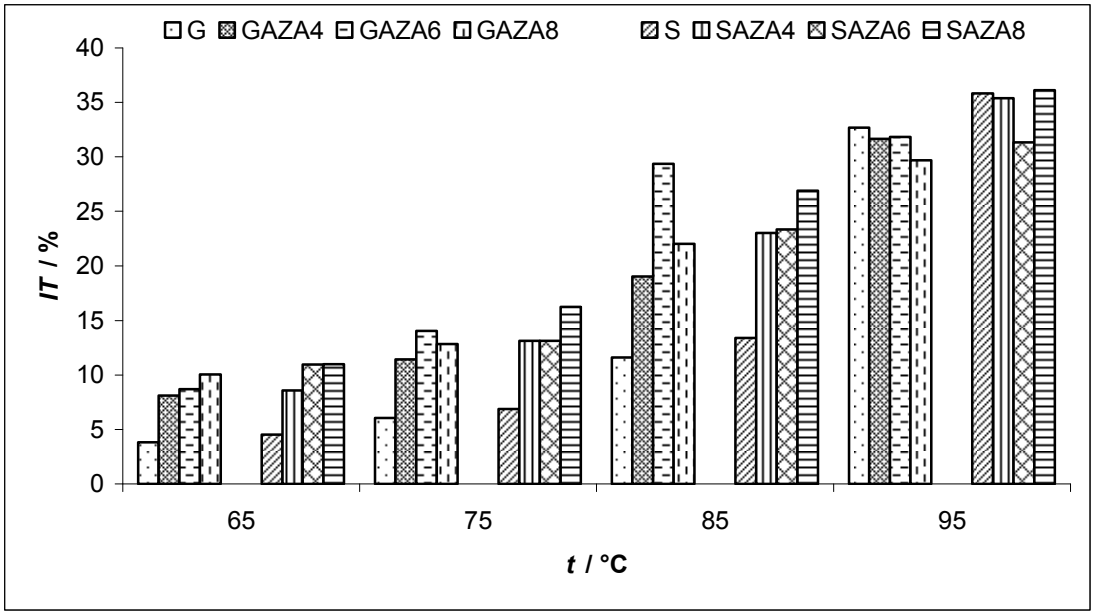
Slika 84 Sile pucanja gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 85 Adhezija gelova (11 %) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 86 Kapacitet bubrenja (KB) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

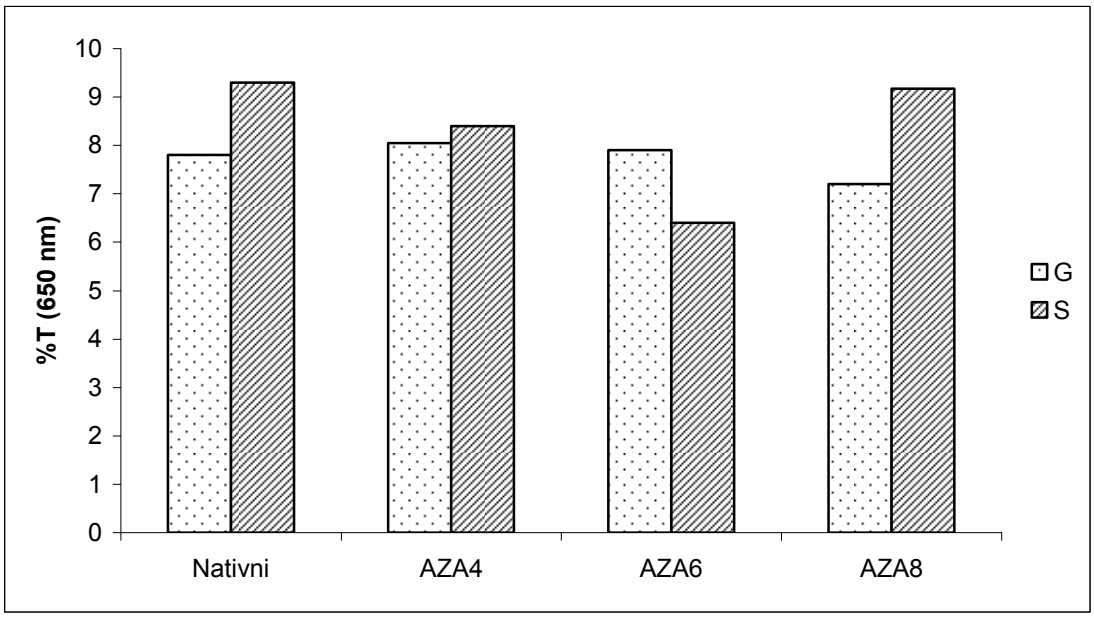


Slika 87 Indeks topljivosti (IT) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

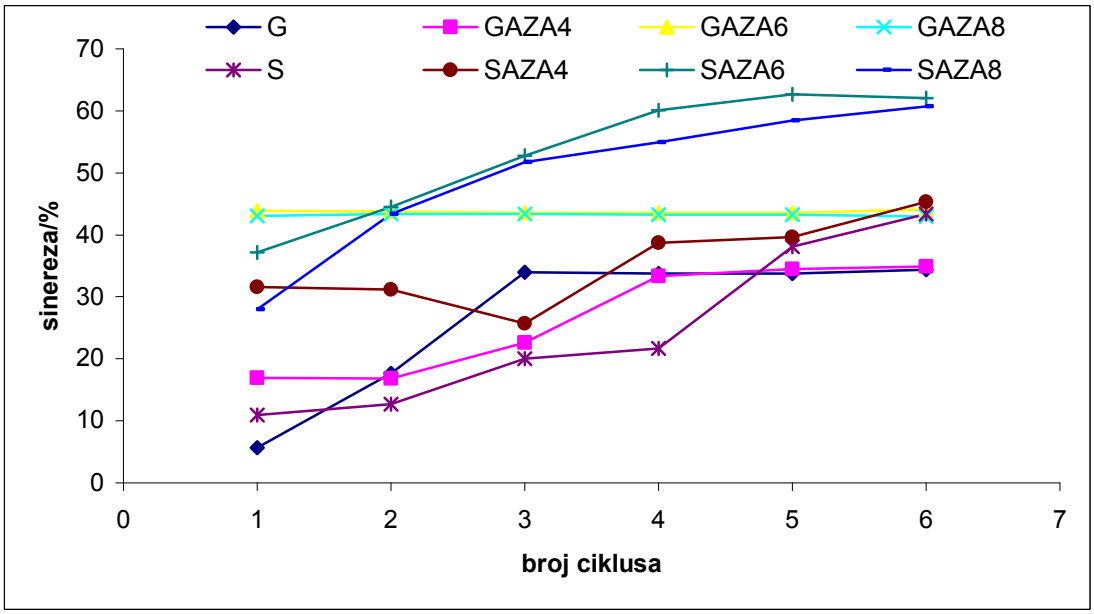
Tablica 36 Boja škroba (mjerena u CIELab sustavu) izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	L*	a*	b*	C*	h*	$\Delta E_{nat.}$
G	75,16±0,05^{a}	-1,19±0,01^{b}	+1,35±0,01^{c}	1,79±0,01^{c}	131,5±0,4^{a}	
GAZA4	77,13±0,05^{b}	-1,28±0,02^{c}	+0,54±0,00^{b}	1,40±0,02^{a}	156,5±0,3^{b}	2,13
GAZA6	77,30±0,02^{c}	-1,18±0,01^{a}	+0,54±0,01^{a}	1,32±0,01^{b}	155,7±0,3^{d}	2,29
GAZA8	75,45±0,17^{d}	-1,00±0,01^{b}	+0,81±0,01^{a}	1,29±0,03^{a}	140,9±0,2^{c}	0,64
S	76,49±0,02^{a}	-1,24±0,02^{a}	+1,22±0,00^{d}	1,73±0,03^{d}	136,0±0,3^{a}	
SAZA4	76,71±0,01^{b}	-0,92±0,01^{b}	+0,23±0,01^{c}	0,93±0,02^{c}	165,9±0,2^{b}	1,06
SAZA6	76,97±0,05^{c}	-0,89±0,02^{b}	+0,21±0,01^{b}	0,89±0,01^{b}	166,2±0,3^{b}	1,17
SAZA8	76,77±0,14^{b}	-0,85±0,01^{c}	+0,12±0,01^{a}	0,82±0,01^{a}	172,2±0,6^{c}	1,20

ΔE_{nat}, promjena boje modificiranog škroba u odnosu na nativni.



Slika 88 Bistroća paste (izražena kao % transmitancije pri 650 nm) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)



Slika 89 Stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (-18 °C, 22 h/30 °C 2 h), izražena kao % sinereze, škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

Tablica 37 Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (G) i *Srpanjka* (S) i modificiranom smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida (AZA) u udjelima 4, 6 i 8 % (w/w)

	***RS*/% s. tv.**	***TS*/% s. tv.**
G	0,48±0,03^{a}	96,87±0,16^{b}
GAZA4	0,63±0,05^{b}	94,65±0,29^{a}
GAZA6	0,49±0,05^{a}	98,85±0,22^{c}
GAZA8	2,00±0,05^{c}	98,62±0,14^{c}
S	0,57±0,11^{a}	96,11±0,02^{a}
SAZA4	14,02±0,18^{c}	97,88±0,02^{c}
SAZA6	1,70±0,04^{b}	97,44±0,01^{b}
SAZA8	0,37±0,01^{a}	98,04±0,01^{d}

RS, rezistentni škrob; *TS*, ukupni škrob

5. RASPRAVA

U radu je praćen utjecaj sorte pšenice te modifikacije epiklorhidrinom i smjesama dikarboksilnih kiselina na svojstva škroba: termofizikalna svojstva, svojstva paste, teksturu škrobnog gela, kapacitet bubrenja, indeks topljivosti, boju škroba, bistroću škrobne paste, stabilnost u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje i udio rezistentnog škroba. Rezultati istraživanja prikazani su u tablicama (6 – 37) i slikama (36 – 89).

Škrobovi za potrebe istraživanja izolirani su iz dviju sorti pšenice: *Golubica* i *Srpanjka,* čija su svojstva prikazana su u **Tablici 6**. Vlažnost pšenice sorte *Golubica*, određena Infratec Grain Analyzer-om, iznosila je 12,27 %, a *Srpanjke* 12,20 %. Količina vlage u žitaricama važan je parametar u određivanju kakvoće zrna jer utječe na skladišnu stabilnost zrna. U većini zemalja se u promet smije stavljati pšenica sa sadržajem vlage do 14 % (Kljusurić, 2000.).

Hektolitarska masa je masa pšenice u jednom hektolitru izražena u kilogramima. Prema Pravilniku o žitaricama, mlinskim i pekarskim proizvodima, tjestenini, tijestu i proizvodima od tijesta (NN78/05), minimalna hektolitarska masa pšenice iznosi 74 kg. Sorte pšenice korištene u ovom istraživanju imale su hektolitarsku masu 84,03 kg/hL (*Golubica*), odnosno 83,90 kg/hL (*Srpanjka*) (**Tablica 6**). Visoka hektolitarska masa ukazuje da su ispitivane sorte pšenice imale kompaktna, zrela zrna osrednje veličine, ovalnog oblika, tanke ljuske i glatke površine (Kljusurić).

Prema kanadskoj klasifikaciji, i sorta *Golubica* i sorta *Srpanjka* ubrajaju se u skupinu vrlo teške pšenice („very heavy“ 80 – 84 kg/hL). Skala uključuje još i klase teška („*heavy*“ 76 – 80kg/hL), obična („*low“* 72 – 76 kg/hL), laka („*light“* 68 – 72 kg/hL), vrlo laka („*very light“* 64 – 68 kg/hL) i ekstra laka („*extra light“* 60 – 64 kg/hL) (Mlinar i Ikić, 2009). Pšenica sorte *Golubica* uzgajana na području Kosova također je imala visoku hektolitarsku masu, koja je iznosila 79,8-81,5 kg/hL, ovisno o lokaciji uzgoja (Kelmendi i sur., 2008).

Pšenica sorte *Golubica* sadržavala je veći udio proteina (14,37 % s. tv.) od pšenice sorte *Srpanjka* (12,57 % s. tv.) i više vlažnog glutena (37,70 % s. tv. u odnosu na 33,73 % s. tv. *Srpanjke*) (**Tablica 6**). Svojstva glutena ispitivanih sorata pšenice određena pomoću Glutomatic sustava prikazana su u **Tablici 7**. Iako je pšenica sorte *Golubica* imala veći udio vlažnog (39,70 %) i suhog glutena (12,50 %) od pšenice sorte *Srpanjka* (30,70 % vlažnog i 9,90 % suhog glutena), pšenica sorte *Srpanjka* imala je puno veći gluten indeks (94,16 u odnosu na 73,19 *Golubice*), što pokazuje da je pšenica sorte *Srpanjka* imala čvršći gluten.

Škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* imao je vlažnost 15,43 %, a škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* 15,45 % (**Tablica 8**). Proteini nisu detektirani u škrobovima primijenjenom metodom, a udio pepela iznosio je 0,29 % s. tv. u škrobu izoliranom iz sorte *Golubica*, odnosno 0,20 % u škrobu izoliranom iz sorte *Srpanjka*. Udio vlakana iznosio je 0,07 % s. tv. u škrobu izoliranom iz sorte *Golubica* i 0,05 % u škrobu izoliranom iz sorte *Srpanjka*. Udio masti u škrobu izoliranom iz sorte *Golubica* iznosio je 0,49 % s. tv., a u

škrobu izoliranom iz sorte *Srpanjka* 0,42 %. Prema Pravilniku o šećeru i ostalim saharidima, njihovim otopinama te škrobu i škrobnim sirupima (NN174/04), pšenični škrob mora sadržavati najmanje 86 % suhe tvari, te može sadržavati najviše 0,2 % pepela, 0,1 % masti i 0,4 % proteina, izraženo na suhu tvar.

Sung i Stone (2003) utvrdili su da je škrob izoliran iz meke pšenice sadržavao 0,8 % proteina, 0,2 % masti i 0,2 % vlakana, dok je škrob iz tvrde pšenice sadržavao 0,6 % proteina, 0,2 % masti i 0,1% vlakana. Mohan i Maleshi (2006) utvrdili su 0,3 % proteina, 0,2 % masti i 0,06 % pepela u škrobu izoliranom iz pšenice. Udio amiloze u škrobu *Golubice* iznosio je 20,27 %, a u škrobu *Srpanjke* 22,49 %, što je u skladu s istraživanjem Wasserman-a i sur. (2007), koji su ispitivali svojstva škroba ruskih sorti ozime pšenice i talijanskih sorti jare pšenice te Yoo-a i Jane-a (2002), koji su ispitivali svojstva škroba ozime pšenice uzgajane u SAD-u.

Početna temperatura želatinizacije (t_o) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* iznosila je 59,49 °C, temperatura vrha (t_p) 62,68 °C, a završna temperatura želatinizacije (t_e) 66,66 °C (**Tablica 9)**. Za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* navedeni parametri imali su sljedeće vrijednosti: t_o 59,94 °C, t_p 63,72 °C i t_e 67,82 °C. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima istraživanja Mohan-a i Malleshi-ja (2006), prema kojima pšenični škrob želatinizira pri t_o 59,7 °C, t_p 64,5 °C i t_e 70,0 °C. Yoo i Jane (2002) su u istraživanju svojstava škroba različitih sorata pšenice utvrdili da škrob pšenice želatinizira u temperaturnom rasponu t_o 54,9 – 55,7 °C, t_p 58,9 – 62,1 °C i t_e 63,1 – 67,6 °C. Wickramasinghe i sur. (2005) utvrdili su da škrob japanskih sorata meke pšenice ima početnu temperaturu želatinizacije 55,6 °C i temperaturu vrha 61,2 °C, dok se za škrob tvrde pšenice t_o kreće u rasponu 52,0 – 54,4 °C, a t_p 58,8 – 60,5 °C. Van Hung i Morita (2005) ispitivali su razliku u želatinizaciji malih i velikih škrobnih granula te su utvrdili da su parametri želatinizacije za male granule t_o 55,8 °C, t_p 61,6 °C i t_e 66,9 °C, a za velike nešto niži (t_o 55,6 °C, t_p 60,5 °C, t_e 64,2 °C). Komercijalni škrob pšenice želatinizirao je pri t_o 55,62 °C, t_p 58,50 °C, t_e 69,19 °C (Majzoobi i sur., 2009).

Entalpija želatinizacije ΔH (**Tablica 9**) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* iznosila je 8,87 J/g, a za škrob izoliran iz sorte *Srpanjka* 8,47 J/g, što pokazuje da je za želatinizaciju škroba obje sorte potreban približno jednaka energija. Yoo i Jane (2002) utvrdili su da entalpija želatinizacije škroba izoliranog američkih sorti pšenice iznosi 10,6 – 13,6 J/g, a Wickramasinghe i sur. (2005) su utvrdili vrijednost entalpije 10,3 – 11,4 J/g za škrob tvrde pšenice i 11,7 J/g za škrob meke pšenice. Van Hung i Morita (2005) utvdili su vrijednost entalpije 4,70 J/g za male i 6,20 J/g za velike granule škroba, a Majzoobi-ja i sur. (2009) 5,16 J/g za škrob ruskih i talijanskih sorata pšenice.

Entalpija retrogradacije (**Tablica 9**) nakon 7 dana čuvanja pri 4 °C za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* iznosila je 3,42 J/g, a za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka*

3,23 J/g. Yoo i Jane (2002) su utvrdili da se entalpija retrogradacije škrobova američkih sorata pšenice kretala od 3,8 do 4,6 J/g.

Rezultati dobiveni mjerenjem Brabenderovim mikro viskoamilografom (**Tablica 10**), pokazali su da je stvaranje paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* počelo pri 64,87 °C, a škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* pri 65,6 °C. Slične rezultate dobili su Mohan i Maleshi (2006), a Yoo i Jane (2002) utvrdili su temperaturu stvaranja paste 62,5 °C (za voštani pšenični škrob) do 90,6 °C (za normalni pšenični škrob).

Vrijednost maksimalne viskoznosti paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* iznosila je 306 BU, a škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* 291 BU (**Tablica 10**). Dobivene vrijednosti značajno su više od vrijednosti utvrđenih u istraživanju Mohan-a i Malleshi-ja (2006) (140 RVU) te Yoo-a i Jane-a (2002) (96 – 122 RVU). Udio amiloze ima veliki utjecaj na svojstva škrobne paste, pri čemu škrobovi s manjim udjelom amiloze imaju veću maksimalnu viskoznost (Yoo i Jane, 2002). Veća maksimalna viskoznost škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* i manji udio amiloze (**Tablica 8**) u odnosu na škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* potvrđuju ovu tvrdnju.

Vrijednosti kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti nativnih škrobova izoliranih iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka* ne razlikuju se značajno niti pri jednoj temperaturi mjerenja, iako pri svim temperaturama škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* ima nešto veći kapacitet bubrenja (**Slike 41** i **42**).

Na percepciju boje škroba najviše utječe intenzitet bijele boje, odn. svjetlina koja se u CIELab sustavu izražava putem L* vrijednosti. Vrijednosti L* parametra kreću se u rasponu 0 (crno) – 100 (bijelo). Škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* imao je L* vrijednost 75,16, a škrob izoliran iz sorte *Srpanjka* 76,49. Ove vrijednosti u domeni su sive boje, no C* vrijednost, kojom se izražava zasićenost boje, vrlo je niska (1,80 za škrob izoliran iz sorte *Golubica* i 1,73 za škrob izoliran iz sorte *Srpanjka*), što percepciju boje približava bijeloj. Na percepciju boje pozitivno utječu i pozitivna b* vrijednost (+1,35 za škrob izoliran iz sorte *Golubica* i +1,22 za škrob izoliran iz sorte *Srpanjka*) i h* vrijednosti (132° za škrob izoliran iz sorte *Golubica* i 136° za škrob izoliran iz sorte *Srpanjka*) koje su u domeni žute.

Na bistroću škrobne paste utječu udio amiloze, molekulska i struktura granule škroba koji izravno utječu na bubrenje škrobne granule. Ukoliko je bubrenje veće, veća je i bistroća škrobne paste (Bhandari i Singhal, 2002; Van Hung i Morita, 2005). Škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* imao je veću bistroću paste od škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (**Slika 43**), što je u skladu s rezultatima mjerenja kapaciteta bubrenja.

Singh i sur. (2003) navode da na povećanje bistroće paste utječe izdvajanje amiloze iz granule škroba tijekom bubrenja. Stupanj izdvajanja topljivih tvari iz škrobne granule u najvećoj mjeri ovisi o udjelu lipida u škrobu te sposobnosti škroba da tvori amilozno-lipidne komplekse. Amilozno-lipidni kompleksi netopljivi su u vodi i razgrađuju se tek pri visokim

temperaturama. Amiloza koja je ugrađena u kompleks s lipidom neće se izdvojiti iz granule tijekom bubrenja. Kako je nativni škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* sadržavao nešto viši udio lipida od škroba izoliranog iz sorte *Srpanjka*, i to je djelomično uzrokovalo smanjenje bistroće.

Stabilnost škrobne paste u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje bitno je svojstvo u primjeni želatiniziranog škroba u zamrznutim proizvodima jer izravno utječe na kvalitetu i svojstva gotovog proizvoda. Iako je u prvom ciklusu (**Slika 44**) škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* imao veću sinerezu, u periodu od drugog do četvrtog ciklusa gubio je puno manje vode od škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*. Međutim, sinereza škroba izoliranog iz sorte *Golubica* od trećeg ciklusa nadalje ostala je na istoj razini i kretala se oko 30 %, dok je sinereza nativnog škroba izoliranog iz sorte *Srpanjka* rasla do 6. ciklusa, kada je poprimila vrijednost oko 43 %. Van Hung i Morita (2005) utvrdili su da su škrobne granule koje bubre u većoj mjeri manje stabilne u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje.

Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* iznosio je 0,48 % s. tv., a u škrobu izoliranom iz sorte *Srpanjka* 0,57 % s. tv (**Tablica 12**). Garcia-Alonso i sur. (1999) su u komercijalnom pšeničnom škrobu utvrdili 14,4 % rezistentnog škroba u suhoj tvari, Xie i sur. (2008) 2,48 %, a Eerlingen i sur. (1994) su utvrdili da pšenični škrob nakon uklanjanja lipida sadrži 1 % rezistentnog škroba.

Modifikacija škroba epiklorhidrinom

Modifikacija škroba epiklorhidrinom provedena je sa tri udjela epiklorhidrina: 0,1, 0,3 i 0,5 % (v/w). FT-IR spektri nativnih i modificiranih škrobova prikazani su na **Slikama 36** i **37.** Vrpca u području 3430 – 3440 cm^{-1} karakteristično je istezanje –OH skupina škroba, koje su povezane vodikovim vezama. Na 2935 cm^{-1} nalazi se vrpca istezanja C-H veze. Vrpca na 1465 cm^{-1} pripisuje se deformacijama $–CH_2$, $–CH_3$ te izvijanju –OH skupina. Vibracije C–O i –OH detektirane su pri 1425 – 1430 cm^{-1}. Područje 1157 – 1165 cm^{-1} pripisuje se istezanju C–O te –OH izvijanju C–OH skupine. Vrpca pri 1085 cm^{-1} rezultat je istezanja $–CH_2–O–CH–$ veze (C–O glikozidne veze), a područje 1010 – 1020 cm^{-1} CO/CC istezanja te C–OH vibracija. Vibracije piranoznog prstena karakterizirane su vrpcama pri 929, 765 i 709 cm^{-1} te u područjima 574 – 578 i 522 – 526 cm^{-1} (Delval i sur., 2004).

Vrpca na 1000 cm^{-1}, koja odražava kristalno uređenje škroba (B-tipa) (Ispas-Szabo i sur., 2000) smanjila se nakon modifikacije škroba epiklorhidrinom kod obje sorte pšenice, pri čemu je smanjenje bilo izraženije kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*. Smanjenje vrpce u području 1000 cm^{-1} uočili su i Ispas-Szabo i sur. (2000) kod visokoamiloznog škroba umreženog epiklorhidrinom. Osim toga, modifikacijom epiklorhidrinom došlo je i do smanjenja intenziteta vrpce (kod obje sorte) u području 3430 – 3440 cm^{-1}, što ukazuje na

smanjenje broja –OH skupina koje se istežu i povezuju H-vezama. Delval i sur. (2004) također su utvrdili smanjenje ove vrpce umrežavanjem škroba epiklorhidrinom, kao i Wang i sur. (2008) kod esterificiranih škrobova, a pojava je objašnjena stvaranjem novih (eterskih, odn. esterskih) veza.

Modifikacija oba škroba (izolirana iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka*) epiklorhidrinom u sva tri udjela uzrokovala je porast početne, temperature vrha i završne temperature želatinizacije (**Tablica 9**). Carmona-Garcia i sur. (2009) također su utvrdili porast temperature želatinizacije nakon umrežavanja škroba epiklorhidrinom. Ovaj fenomen objašnjava se smanjenjem mobilnosti lanaca u amorfnom dijelu škrobne granule koje je rezultat stvaranja intermolekulskih mostova (Singh i sur., 2007).

Modifikacija epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % (v/w) nije imala utjecaj na entalpiju želatinizacije. Modifikacija u udjelu 0,1 i 0,5 % uzrokovala je pad vrijednosti entalpije želatinizacije, koje je u skladu s istraživanjima Carmona-Garcie i sur. (2009) te Jyothi-ja i sur. (2006). Woo i Seib (2002) te Deetae i sur. (2008) su na osnovi DMK analiza zaključili da umreženi škrobovi imaju višu temperaturu želatinizacije i nižu entalpiju želatinizacije od nativnih škrobova.

Entalpija želatinizacije škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* povećavala se slijedom: nativni škrob < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 %. Umrežavanjem je porasla i entalpija želatinizacije voštanog škroba riže (Liu i sur., 1999a), no kod normalnog škroba riže došlo je do njenog pada.

Entalpija želatinizacije rasla je s porastom stupnja umrežavanja. Umrežavanje u manjim udjelima smanjuje dio škroba koji može želatinizirati, zbog čega vrijednost entalpije pada, no kod škrobova umreženih u većem udjelu dolazi do potpunog taljenja kristalnih područja unatoč umreženoj strukturi (Singh i sur., 2007).

Umrežavanje škroba epiklorhidrinom u udjelima 0,1 i 0,3 % dovelo je do pada entalpije retrogradacije (ΔH_r) nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C kod obje sorte, što pokazuje njihovu smanjenu sklonost retrogradaciji. Modifikacija u udjelu 0,5 % dovela je do pada entalpije retrogradacije kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* došlo do rasta entalpije retrogradacije nakon 7 dana.

Nakon 14 dana skladištenja pri 4 °C svi modificirani škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Golubica* imali su nižu, dok su modificirani škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Srpanjka* imali višu ΔH_r. Na svojstva retrogradacije škroba neizravan utjecaj ima strukturna organizacija škrobnih lanaca koja utječe na stupanj degradacije granule tijekom želatinizacije i na interakcije među škrobnim lancima tijekom skladištenja gela (Jyothi i sur., 2006; Singh i sur., 2007). Dok su Singh i sur. (2007) utvrdili da umreženi škrobovi imaju manju sklonost retrogradaciji zbog ograničene mobilnosti umreženih lanaca amilopektina, Jyothi i sur. (2006)

zaključili su da umrežavanje rezultira uređenijom strukturom škrobne paste zbog koje umreženi škrobovi imaju veću sklonost retrogradaciji od nativnih.

Rezultati analize svojstava paste Brabender-ovim mikro viskoamilografom (**Tablica 10**) pokazali su da je umrežavanje epiklorhidrinom dovelo do porasta temperature početka stvaranja paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, ali nije imalo značajan utjecaj na temperaturu stvaranja paste škroba izoliranog iz sorte *Srpanjka*. Stvaranje paste je pojava koja slijedi nakon želatinizacije škroba. Tijekom želatinizacije dolazi do narušavanja uređene molekulske strukture u škrobnoj granuli, što uzrokuje ireverzibilne promjene: bubrenje granule, taljenje kristala, gubitak birefrigencije i *otapanje* škroba. Stvaranje paste podrazumijeva daljnje bubrenje granule, izlazak molekula iz granule te konačno, potpunu degradaciju granule. Želatinizacija je proces u kojem škrob ima svojstva ugušćivanja, a stvaranje paste daje škrobu svojstva emulgiranja, želiranja te stvaranja punoće okusa u ustima (BeMiller i Whistler, 2009). Jyothi i sur. (2006) utvrdili su da je umrežavanje škroba tapioke epiklorhidrinom rezultiralo povećanjem temperature stvaranja paste sa 69,1 °C na 71 – 80 °C, ovisno o stupnju umreženja.

Maksimalna viskoznost škrobne paste pokazuje sposobnost ugušćivanja škroba (BeMiller i Whistler, 2009). Maksimalna viskoznost smanjila se proporcionalno povećanju stupnja umreženja kod obje sorte, te je za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* maksimalna viskoznost rasla slijedom: škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 % (143 BU) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % (147,50 BU) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % (284,50 BU) < nativni škrob (306,33 BU)

Vrijednosti maksimalne viskoznosti paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* rasle su od 37,00 BU za škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 %, preko 95,00 BU za škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % i 242,50 BU za škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % do 291,00 BU za nativni škrob.

Iz navedenih vrijednosti maksimalne viskoznosti vidljivo je da je umrežavanje epiklorhidrinom u udjelima 0,3 % i 0,5 % imalo značajno veći utjecaj na pad maksimalne viskoznosti škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* od škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*.

Maksimalna viskoznost škrobne paste odražava sposobnost granula da bubre (intenzitet bubrenja granula) prije nego što dođe do njihovog kidanja (degradacije) (Singh i sur., 2007). Bubrenje škrobnih granula smanjuje se s povećanjem stupnja umreženja zbog čega dolazi do pada viskoznosti (Kurakake i sur., 2009). Jyothi i sur. (2006) utvrdili su značajan pad viskoznosti škroba tapioke pri udjelima epiklorhidrina 0,75 % i 1,0 %.

Viskoznost pri 92 °C također je smanjena umrežavanjem proporcionalno stupnju umreženja. Za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* viskoznost pri 92 °C pala je sa 256,67 BU za nativni škrob, preko 224,50 BU za škrob modificiran u udjelu 0,1 % i 100,50 za škrob

modificiran u udjelu 0,3 % na 87,50 BU za škrob modificiran u udjelu 0,5 %. Maksimalna viskoznost škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* pala je sa 272,33 BU na 200,00 BU za škrob modificiran u udjelu 0,1 %, 60,00 BU za škrob modificiran u udjelu 0,3 % te 26,00 BU za škrob modificiran u udjelu 0,5 %. Kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* je, u odnosu na škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica*, umrežavanjem epiklorhidrinom u udjelima 0,3 % i 0,5 % došlo do značajno većeg pada viskoznosti pri 92 °C.

Nakon 20 minuta miješanja pri 92 °C kod nativnih škrobova izoliranih iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka* došlo je do pada viskoznosti paste, dok je kod modificiranih škrobova viskoznost porasla. Pad viskoznosti tijekom miješanja pri 92 °C uzrokovan je narušavanjem (kidanjem) strukture paste uslijed miješanja. Porast viskoznosti tijekom miješanja kod modificiranih škrobova mogao bi biti rezultat „naknadne“ želatinizacije i otapanja granula škroba.

Hlađenjem škrobne paste na 50 °C dolazi do porasta viskoznosti pasta nativnih i modificiranih škrobova, pri čemu je porast najmanji kod škrobova modificiranih u udjelima 0,3 % i 0,5 %. Porast viskoznosti tijekom hlađenja paste je mjera retrogradacije škroba uslijed ponovne reorganizacije škrobnih polimera (BeMiller i Whistler, 2009). Do porasta viskoznosti tijekom hlađenja dolazi uslijed povezivanja nabubrenih granula, dijelova granula, koloidno dispergiranih i otopljenih škrobnih molekula u veće nakupine (Adebowale i sur., 2002; Singh i sur., 2007).

Nakon 20 minuta miješanja pri 50 °C dolazi do ponovnog pada viskoznosti koji je također najmanje izražen kod škrobova modificiranih u udjelima 0,3 % i 0,5 %.

Iz razlike vrijednosti viskoznosti vrha i viskoznosti nakon 20 minuta miješanja pri 92 °C dobiva se vrijednost tzv. „kidanja“, koja označava stabilnost škrobne paste tijekom miješanja pri visokim temperaturama. Škrobovi koji bubre u većoj mjeri manje su otporni na degradaciju tijekom zagrijavanja i miješanja, zbog čega kod njih dolazi i do značajnijeg pada viskoznosti (Singh i sur., 2007). Umrežavanje epiklorhidrinom značajno je stabiliziralo škrobnu pastu tijekom miješanja pri visokim temperaturama kod obje ispitivane sorte. Slične rezultate dobili su i Liu i sur. (1999a) za umreženi rižin i voštani rižin škrob. Veze umrežavanja jačaju škrobnu granulu i čine ju otpornijom na degradaciju tijekom zagrijavanja. Granula ipak može bubriti tijekom kontinuiranog zagrijavanja, a kovalentne veze na mjestima umreženja osiguravaju dovoljno cjelovitosti granule kojom se smanjuje ili sprječava smanjenje viskoznosti (Lim i Seib, 1993; Jyothi i sur., 2006).

„Setback“ vrijednost pokazuje sklonost škrobne paste retrogradaciji (Luo i sur., 2009) te stupanj imobilizacije vode u nabijenim centrima škroba, slobodne i lipide vezane u komplekse u zavojnici škroba (Hoover i Vasanthan, 1992). Vezanje vode na nabijene centre u granuli škroba smanjuje efektivnu koncentraciju vode u kontinuiranoj fazi što rezultira porastom viskoznosti tijekom hlađenja.

Umreženi škrobovi izolirani iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka* imali su niže „setback“ vrijednosti od nativnih škrobova, pri čemu je sniženje bilo proporcionalno stupnju umreženja, te izraženije za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* (**Tablica 10**). Tako je „setback“ vrijednost škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modificiranog epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % iznosila 72,22 % „setback“ vrijednosti nativnog škroba, u udjelu 0,3 % 13,98 %, a u udjelu 0,5 % 13,41 % „setback“ vrijednosti nativnog škroba. „Setback“ vrijednost škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiranog epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % iznosila je 40,22 % „setback“ vrijednosti nativnog škroba, u udjelu 0,3 % 7,80 %, a u udjelu 0,5 % tek 3,69 % „setback“ vrijednosti nativnog škroba.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je modifikacijom epiklorhidrinom došlo do stabilizacije paste tijekom hlađenja i smanjenja sklonosti retrogradaciji. Jyothi i sur. (2006) utvrdili su da pri nižim udjelima epiklorhidrina dolazi do porasta vrijednosti „setback“ u odnosu na nativni škrob tapioke, dok pri višim udjelima epiklorhidrina „setback“ vrijednost pada.

Tekstura gelova nativnih i škrobova modificiranih epiklorhidrinom prikazana je **Slikama 38 – 40**. Modifikacija epiklorhidrinom nije značajno utjecala na čvrstoću gela škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, dok se čvrstoća gela škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* snižavala s porastom udjela epiklorhidrina (**Slika 38**). Čvrstoća škrobnog gela ovisi o veličini „mreže“ koju formiraju otopljene molekule amiloze te o svojstvu deformacije otopljenih granula škroba (Babić, 2007). Poznato je da umrežavanje smanjuje bubrenje škrobne granule, a time i topljivost amiloze, pa niža čvrstoća gela može biti uzrokovana ovom pojavom.

Isti trend uočen je i za silu pucanja škrobnih gelova (**Slika 39**). Sila pucanja gela povezuje se s elastičnošću i mekoćom gela – što je viša sila pucanja, elastičnost i mekoća gela su niže. Kao i na čvrstoću gela, na silu pucanja ima utjecaj količina vezane vode u škrobnom gelu. Što je viši kapacitet bubrenja škrobne granule, na nju će se vezati veća količina vode i gel će biti mekši. Umrežavanje učvršćuje škrobnu granulu i ograničava mobilnost škrobnih lanaca, što rezultira manjom elastičnošću i silom pucanja gelova.

Adhezija (**Slika 40**) je „površinsko“ svojstvo materijala te predstavlja rad potreban da se nadvladaju privlačne sile između gela i površine mjernog tijela, odnosno rad potreban da se gel odvoji od njegove površine (Huang i sur., 2007). Što su vrijednosti adhezije više, materijal se više lijepi za površinu. Izuzev škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiranog epiklorhidrinom u udjelu 0,1 %, svi modificirani škrobovi imali su više vrijednosti adhezije u odnosu na odgovarajući nativni škrob. Pri tome je najveći utjecaj na porast adhezije kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Gulubica* imala modifikacija u udjelu 0,1 % (43,43 gs u odnosu na 0,11 gs nativnog škroba), dok je kod škroba izoliranog iz

pšenice sorte *Srpanjka* najveći utjecaj imala modifikacija u udjelu 0,5 % (182,88 gs u odnosu na 34,99 gs nativnog škroba).

Kapacitet bubrenja i indeks topljivosti nativnih i modificiranih škrobova (**Slike 41** i **42**) rasli su s porastom temperature, pri čemu je porast bio umjereniji (postepeniji) kod modificiranih škrobova, i to s većim stupnjem umreženja. Kapacitet bubrenja nativnih i modificiranih škrobova (**Slika 41**) se pri 65 °C i 75 °C nije značajno razlikovao. Pri 85 °C i 95 °C smanjenje kapaciteta bubrenja bilo je proporcionalno stupnju modifikacije, izuzev škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modificiranog s 0,5 % epiklorhidrina, čiji je kapacitet bubrenja bio viši od kapaciteta bubrenja škroba modificiranog s 0,3 % epiklorhidrina. Pri 95 °C pad kapaciteta bubrenja modificiranih škrobova u odnosu na nativne bio je naročito izražen te je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* kapacitet bubrenja škroba modificiranog s 0,1 % epiklorhidrina bio upola niži u odnosu na nativni. Kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubice* to je sniženje bilo nešto manje izraženo, te je kapacitet bubrenja škroba modificiranog u udjelu 0,1 % iznosio 60 % kapaciteta bubrenja nativnog škroba. Indeks topljivosti slijedio je isti trend kao i kapacitet bubrenja, uz značajnije razlike između modificiranih i nativnog škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* pri svim ispitivanim temperaturama.

Do sniženja kapaciteta bubrenja došlo je i umrežavanjem škroba krumpira epiklorhidrinom (Dubois i sur., 2001), a utvrđeno je i sniženje kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti i kod umreženog škroba riže (Raina i sur., 2006) te škroba banane modificiranog epiklorhidrinom (Carmona-Garcia i sur., 2009).

Na bubrenje granule škroba utječu kemijske veze u granuli pa granule koje imaju jako povezanu jediničnu strukturu manje bubre (Adebowale i sur., 2002). Umrežavanjem se jačaju veze između škrobnih lanaca te se smanjuje bubrenje granule. Pri tome sredstva koja sporo reagiraju sa škrobom, poput epiklorhidrina, manje djeluju na smanjenje kapaciteta bubrenja od sredstava koja brzo reagiraju, poput fosfor-oksiklorida (Singh i sur., 2007). Ovim se može objasniti mala razlika u kapacitetu bubrenja modificiranih škrobova pri nižim temperaturama u ovom istraživanju.

Modifikacija epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % nije značajno utjecala na bjelinu škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* (**Tablica 11**), iako je došlo do porasta L* vrijednosti sa 75,16 na 75,20. Modifikacija u udjelu 0,3 % dovela je do pada L* vrijednosti na 74,77, a modifikacija u udjelu 0,5 % do porasta L* vrijednosti na 76,61 te tako pozitivno utjecala na percepciju boje škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*.

b* vrijednosti bile su u pozitivnoj (žutoj) domeni, što je također pozitivno djelovalo na ukupnu percepciju boje (negativne b* vrijednosti bi povećanjem plave komponente pojačale dojam sive boje). Kod obje sorte su b* vrijednosti nakon modifikacije bile niže, što je pojačalo

dojam bjeline škroba (veća b* vrijednost podrazumijeva veći udio žute komponente u ukupnoj boji).

a* vrijednosti svih ispitivanih škrobova bile su u negativnoj domeni (zelene boje) te su rasle s modifikacijama (vrijednosti se približavaju nuli). To je također pozitivno djelovalo na ukupnu percepciju boje jer se smanjio udio zelene komponente koja pojačava dojam sivog, ali se nije prešlo u pozitivnu domenu, koja bi negativno utjecala na percepciju boje (povećanjem udjela crvene komponente percepcija boje prešla bi ka smeđoj).

C* vrijednosti koriste se za opisivanje zasićenosti boje, koja je funkcija fizikalne jačine osvjetljenja i svojstava površine koja reflektira tu svjetlost, te se kreću u rasponu od 0 (potpuno nezasićeno) do 100 (vrlo visoko zasićenje boje). Ispitivani škrobovi imali su vrlo nisko zasićenje (škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* C* 1,23 – 1,80; škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* C* 1,14 – 1,73) što je povećalo dojam bjeline škroba (porastom C* vrijednosti percepcija boje se, preko sive, pomiče ka plavoj, odn. zelenoj boji).

Ton boje (h* vrijednosti) ispitivanih škrobova kretao se u rasponu 132 – 256,9 ° za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* te 136 – 155,1 ° za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka*. To je prijelaz zelene u žutu boju, što je u domeni sive boje, koja pak u kombinaciji s visokim L* i niskim C* vrijednostima potvrđuje ukupnu percepciju bijele boje.

Ukupna promjena boje pokazatelj je uočljivosti promjene boje. Prema Jukiću i sur. (2007), razliku u boji ΔE 0 – 0,5 nemoguće je uočiti okom, ΔE 0,5 – 1,5 je teško uočljiva, razliku ΔE 1,5 – 3,0 lako uočavaju trenirani senzorski analitičari, a ΔE 3 – 6 uočava se i netreniranim okom. Ukoliko je ΔE u rasponu 6 – 12, razlika u boji je jako velika, ali uzorci pripadaju istoj skupini boje, a pri ΔE > 12 uzorci pripadaju različitim skupinama boje.

Za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* ukupna promjena boje ΔE u odnosu na nativni škrob rasla je slijedom: škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % (ΔE 0,82) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % (ΔE 0,88) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 % (ΔE 1,57). Iz vrijednosti za ukupnu promjenu boje vidljivo je da je samo kod škroba modificiranog u udjelu 0,5 % došlo do značajnije promjene boje.

Za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* ukupna promjena boje ΔE u odnosu na nativni škrob rasla je slijedom: škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % (ΔE 0,86) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 % (ΔE 0,93) < škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % (ΔE 1,15). Razlika u boji teško je uočljiva ljudskim okom.

Bistroća škrobne paste kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* rasla je, a kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* padala je proporcionalno stupnju modifikacije (**Slika 43**). Bistroća paste, izražena transmisijom svjetlosti, mjera je bubrenja škrobne granule (Craig i sur., 1989). Međutim, kako je kapacitet bubrenja pao modifikacijom škroba obje sorte pšenice, u ovom istraživanju ne mogu se povezati ta dva svojstva, kao niti u istraživanju Van Hung-a i Morite (2005). Nadalje, Van Hung i Morita (2005) utvrdili su da se

umrežavanjem škroba bistroća paste smanjuje, dok su Lim i Seib (1993) utvrdili povećanje bistroće paste nakon umrežavanja škroba.

U novijim istraživanjima utvrđeno je da na bistroću paste utječe i retrogradacija škroba (Bhandari i Singhal, 2002). Što je veća sklonost škroba retrogradaciji, bistroća je manja. Kako je bistroća paste u ovom istraživanju mjerena nakon hlađenja paste tijekom jednog sata, na bistroću je najviše utjecala sklonost škroba retrogradaciji odmah nakon hlađenja, koja je vidljiva iz vrijednosti „setback" prikazanih u **Tablici 10**. Značajno niže „setback" vrijednosti modificiranih škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Srpanjka* u odnosu na modificirane škrobove izolirane iz pšenice sorte *Golubica* potvrđuju rezultate istraživanja Bhandari-ja i Singhal-a (2002), no paralela se ne može povući ukoliko se promatra odnos „setback" vrijednosti između nativnih i modificiranih škrobova.

Modifikacija škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % povoljno je djelovala na stabilnost paste u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (**Slika 44**) do petog ciklusa. Nakon prvog odmrzavanja sinereza škroba modificiranog s 0,1 % epiklorhidrina je zanemariva (0,20 %), a do 5. ciklusa sinereza mu je bila niža od sinereze nativnog škroba. Modifikacija epiklorhidrinom u udjelima 0,3 i 0,5 % rezultirala je visokom sinerezom već nakon prvog odmrzavanja, kada je škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % izgubio oko 27 % vode, a škrob modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,5 % čak oko 34 %, koliko nativni gubi tek u 3. ciklusu. Do posljednjeg ciklusa škrob modificiran u udjelu u 0,3 % izgubio je oko 48 %, a škrob modificiran u udjelu 0,5 % oko 53 % vode, dok se nativni škrob zadržavao na oko 34 % sinereze od 3. do 6. ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje.

Škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % imao je višu sinerezu u odnosu na nativni škrob do 4. ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje. U 5. i 6. ciklusu, međutim, izgubio je puno manje vode od nativnog. Modifikacija epiklorhidrinom u udjelu 0,3 % i 0,5 % znatno je povećala sinerezu nakon prvog odmrzavanja: za škrob modificiran u udjelu 0,3 % ona je iznosila oko 44 %, a za škrob modificiran u udjelu 0,5 % oko 48 %, što je više od sinereze nativnog škroba nakon 6. ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje (oko 43 %). Od prvog do šestog ciklusa sinereza modificiranih škrobova (u udjelu 0,3 % i 0,5 %) bila je značajno usporena pa je na kraju škrob modificiran u udjelu 0,3 % imao sinerezu oko 54 %, a škrob modificiran u udjelu 0,5 % oko 58 %.

Umrežavanje rezultira uređenijom strukturom u škrobnoj pasti, te većom sklonošću retrogradaciji (Jyothi i sur., 2006). Van Hung i Morita (2005) utvrdili su da umreženi škrobovi tijekom prva dva ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje imaju višu sinerezu od nativnih, dok je u druga dva ciklusa sinereza umreženih škrobova bila niža. Do stabilizacije škrobne paste tijekom zamrzavanja – odmrzavanja došlo je umrežavanjem škroba riže (Liu i sur., 1999a), te kod hidroksipropiliranih umreženih škrobova (Van Hung i Morita, 2005; Wattanachant i sur., 2002, 2003).

Udio rezistentnog škroba (**Tablica 44**) umanjen je modificiranjem škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* epiklorhidrinom u udjelu 0,1 % i 0,3 % sa 0,48 % s. tv. na 0,31, odn. 0,41 % s. tv. Modifikacija epiklorhidrinom u udjelu 0,5 % rezultirala je udjelom rezistentnog škroba 0,53 % s. tv. Modificiranje škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* rezultiralo je porastom udjela rezistentnog škroba sa 0,57 % s. tv. na 1,24 % s. tv. za modifikaciju u udjelu 0,3 %, na 1,32 % s. tv. za modifikaciju u udjelu 0,5 % te na 2,25 % s. tv. za modifikaciju u udjelu 0,3 %. Na enzimsku hidrolizu škroba (α-amilazom) značajno utječu strukturna svojstva škroba. Proces je sterički kontroliran te brzina reakcije ovisi o broju „blokirajućih" skupina u škrobu (Hamdi i Ponchel, 1999). Neka istraživanja pokazala su da umrežavanje u udjelima dopuštenima za modifikaciju škroba namijenjenog za upotrebu u prehrambenoj industriji nemaju značajan utjecaj na *in vitro* probavljivost škroba (Jyothi i sur., 2006).

Modifikacija škroba smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida (1:30)

Stupanj supstitucije i % acetiliranja škrobova izoliranih iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka* i modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazani su u **Tablicama 18, 23, 28 i 33**, a za acetilirane škrobove u **Tablici 13**. S povećanjem udjela reagensa za modifikaciju došlo je do povećanja % acetiliranja i stupnja supstitucije. Modifikacije smjesama jantarne kiseline i acetanhidrida, glutarne kiseline i acetanhidrida te adipinske kiseline i acetanhidrida rezultirale su višim % acetiliranja te višim stupnjem supstitucije (*D*S) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* u odnosu na škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka.* Izuzetak su modifikacija smjesama jantarne kiseline i acetanhidrida te glutarne kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 %, te modifikacija smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 4%. Modifikacija smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelima 4 i 8 % te acetiliranje u udjelima 6 i 8 % uzrokovale su viši % acetiliranja i *DS* kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*.

Stupanj supstitucije škrobova modificiranih u udjelu 4 % kretao se od 0,107 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida) do 0,116 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida). Teorijska vrijednost za *DS*, računata za slučaj da je % acetiliranja 4 %, iznosi 0,157. Iz toga proizlazi da se iskorištenje (efikasnost) reakcije modifikacije kretalo od 68,15 % do 73,88 %. Murua-Pagola i sur. (2009) su tretiranjem škroba sa 4 % oktenilsukcinanhidrida postigli *DS* 0,042, dok su Hui i sur. (2009) tretiranjem škroba sa 4 % oktenilsukcinanhidrida postigli *DS* oko 0,02.

Stupanj supstitucije škrobova modificiranih u udjelu 6 % kretao se od 0,129 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida) do 0,141 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom jantarne kiseline i

acetanhidrida te adipinske kiseline i acetanhidrida). Iskorištenje reakcije modifikacije bilo je od 53,75 % do 58,75 %.

Stupanj supstitucije škrobova modificiranih u udjelu 8 % kretao se od 0,142 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida te azelainske kiseline i acetanhidrida) do 0,151 (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida). Iskorištenje reakcije modifikacije kretalo se od 43,42 % do 46,17 %.

Svi modificirani škrobovi imali su stupanj supstitucije niži od 0,2, te se ubrajaju u škrobove s niskim stupnjem supstitucije, koji su komercijalno najvažniji (Eliasson, 2004).

Iako je s povećanjem udjela reagensa od 4 do 8 % rastao stupanj supstitucije škrobova, smanjivalo se iskorištenje (efikasnost) reakcije, što je zapaženo i u istraživanju Hui-ja i sur. (2009).

IR-spektri škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazani su **Slikama 54, 55, 63, 64, 72, 73, 81, 82**, a acetiliranih škrobova **Slikama 45** i **46**. Uz vrpce karakteristične za škrob, koje su prethodno opisane, kod modificiranih škrobova uočena je i nova vrpca u području oko 1740 cm^{-1}, čiji je intenzitet rastao s porastom stupnja modifikacije kod svih škrobova. Ova vrpca karakteristična je za karbonilnu skupinu estera koji nastaju reakcijom škroba s dikarboksilnim kiselinama i acetanhidridom. Uz ovu vrpcu, kod modificiranih škrobova javila se i vrpca oko 1240 – 1250 cm^{-1}, koja potječe od vibracije (C–COO)– skupine. Pojava ovih vrpci uočena je i kod škrobnih acetata (Xu i sur., 2008) i škrobnih citrata (Xie i sur., 2006).

Kod modificiranih škrobova došlo je i do smanjenja vrpce u području 3430 – 3440 cm^{-1}, koje je bilo posebno izraženo kod modificiranih škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Srpanjka*, a koje ukazuje na smanjenje broja –OH skupina koje se istežu i povezuju H–vezama.

Dzulkefly i sur. (2007) su snimanjem spektra otopine sago škroba u kloroformu prisustvo esterskih veza utvrdili preko istezanja esterske karbonilne skupine između 1750-1740 cm^{-1}, koje se razlikovalo od karbonilnih i karboksilnih skupina kiselina pri 1727 cm^{-1}. Dva pika između 2930 i 2850 cm^{-1} prisutna kod esterificiranog škroba pripisana su istezanju metilnog i metilenskog C-H, a jaka vrpca između 3450 i 3400 cm^{-1} pripisana je hidroksilnim skupinama. Intenzitet potonjeg pika u velikoj je mjeri ovisio o stupnju supstitucije (DS) – što je stupanj supstitucije bio veći, to je veće bilo smanjenje intenziteta vrpce. Karakteristični pik pri 1644 cm^{-1} pripisan je čvrsto vezanoj vodi prisutnoj u škrobu.

Wang i sur. (2008) analizirali su FT-IR spektar acetiliranog škroba slatkog krumpira. Esterifikacija škroba rezultirala je pojavom karbonilnog signala u FT-IR spektru oko 1750 cm^{-1}. Intenzitet pika karbonilne skupine na 1750 cm^{-1}, te pikova esterskih skupina na 1240

cm^{-1} i 1375 cm^{-1}, povećavao se s porastom stupnja supstitucije (DS). Ujedno je došlo do smanjenja intenziteta pika hidroksilnih skupina na 3400 cm^{-1}.

Termofizikalna svojstva škrobova izoliranih iz pšenice sorata *Golubica* i *Srpanjka* i modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazana su u **Tablicama 19, 24, 29 i 34.** Termofizikalna svojstva škrobova modificiranih acetanhidridom u udjelima u kojima je korišten u smjesama za modifikaciju prikazana su u **Tablici 14**.

Početna, temperatura vrha i temperatura završetka želatinizacije škroba snizile su se modifikacijama smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarne, glutarne, adipinske i azelainske) i acetanhidrida u udjelima 4 %, 6 % i 8 %.

Svi škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 4 % imali su više temperature početka, vrha i završetka želatinizacije od acetiliranih škrobova u udjelu 3,87 %. Od ispitivanih smjesa dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 4 %, najveći utjecaj na sniženje temperature želatinizacije škroba obje ispitivane sorte pšenice imala je smjesa glutarne kiseline i acetanhidrida.

Škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Golubica* modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 6 % imali su niže temperature početka, vrha i završetka želatinizacije od škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* acetiliranog u udjelu 5,81 %, dok su škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Srpanjka* imali više temperature želatinizacije u odnosu na acetilirani škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka*. Najveći utjecaj na sniženje temperature želatinizacije od ispitivanih smjesa dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 6 % imala je smjesa jantarne kiseline i acetanhidrida.

Modifikacija škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 8 % rezultirala je nižom temperaturom vrha u odnosu na škrob acetiliran u udjelu 7,74 %. Do sniženja temperature vrha u najvećoj mjeri došlo je modifikacijom škroba smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (59,30 °C), slijede smjesa azelainske kiseline i acetanhidrida te glutarne kiseline i acetanhidrida (60,39 °C), smjesa jantarne kiseline i acetanhidrida (60,45 °C) te acetilirani škrob (60,56 °C). Kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* modifikacijom smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 8 % došlo je do povišenja temperature vrha želatinizacije u odnosu na škrob acetiliran u udjelu 7,74 %.

Do sniženja početne, temperature vrha i završne temperature želatinizacije došlo je i modifikacijom škroba glutarnom kiselinom (Kim i sur., 2008), oktenilsukcinanhidridom (Segura-Campos i sur., 2008), te acetanhidridom (Babić i sur., 2009).

Raspon želatinizacije (razlika završne i početne temperature želatinizacije) se povećao acetiliranjem te modifikacijom škroba smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u odnosu na nativni škrob obje sorte. Iznimka je škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 6 %, kod kojega je

došlo do smanjenja raspona želatinizacije sa 7,17 °C (za nativni) na 6,57 °C. Veći raspon želatinizacije upućuje na heterogeniju strukturu, te promjene u obliku kristala, njihovoj veličini, stupnju uređenja, ispreplitanju škrobnih lanaca (linearni – linearni, linearni – razgranati, razgranati – razgranati) i stvaranju dvostrukih uzvojnica (Kim i sur., 2008).

Vrijednost entalpije želatinizacije pala je modifikacijom škroba obje sorte smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida. Sniženje entalpije želatinizacije bilo je proporcionalno stupnju modifikacije kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modifikacija u udjelu 8 % rezultirala višom entalpijom želatinizacije u odnosu na modifikaciju u udjelu 6 %. Sniženje entalpije želatinizacije u odnosu na nativne škrobove upućuje na narušavanje molekulske i kristalne strukture škroba tijekom modifikacije (Kim i sur., 2008). Acetiliranom škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* entalpija želatinizacije je porasla, no acetiliranom škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Srpanjka* je pala. Svi škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Golubica* modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su niže entalpije želatinizacije od acetiliranih škrobova, dok za škrobove izolirane iz pšenice sorte *Srpanjka* takve pravilnosti nije bilo.

Vrijednost entalpije retrogradacije škroba obje sorte pala je modifikacijom smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida proporcionalno stupnju modifikacije nakon 7 i 14 dana skladištenja pri 4 °C. Pri tome je škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imao veću sklonost retrogradaciji od modificiranog škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*, izuzev škroba modificiranog smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida nakon 14 dana skladištenja pri 4 °C. Mali i Grossman (2001) također su utvrdili smanjenu retrogradaciju škroba modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida uz primjenu ekstruzije. Do smanjenja sklonosti škroba retrogradaciji uslijed modifikacije dolazi zbog steričkog ometanja stvaranja vodikovih veza između lanaca škroba te povećanog kapaciteta vezanja vode uslijed prisustva esterski vezanih acetilnih skupina u škrobu (Singh i sur., 2004).

Najbolji utjecaj na sniženje retrogradacije imala je smjesa jantarne kiseline i acetanhidrida. Jantarna kiselina ima najmanju pK_{a1} (4,19), ali i najveću pK_{a2} (5,64) vrijednost od svih dikarboksilnih kiselina korištenih u ovom istraživanju. Zbog lakog odvajanja H^+ iona s prve karboksilne skupine i teškog odvajanja s druge skupine, u reakciji sa škrobom je najvjerojatnije došlo prvenstveno do tvorbe monoestera na vanjskom dijelu lanca, koji sterički ometaju povezivanje škrobnih lanaca H-vezama (John i Raja, 1999).

Kod ostalih dikarboksilnih kiselina pK_{a2} vrijednosti približno su jednake i iznose 5,41 – 5,42. (pK_{a1} vrijednosti rastu s porastom broja C-atoma u lancu i iznose: 4,35 za glutarnu, 4,43 za adipinsku i 4,55 za azelainsku kiselinu.) Manje pK_{a2} vrijednosti podrazumijevaju lakše odvajanje H^+ iona s druge –COOH skupine zbog čega je veća vjerojatnost da će u reakciji ovih kiselina sa škrobom doći do tvorbe diškrobnih estera, odn. do umrežavanja, koje

stvaranjem uređenije strukture pogoduje retrogradaciji. Naime, zbog lakše ionizacije ove dikarboksilne kiseline mogu prodrijeti u škrobni matriks te tvoriti veze na unutrašnjem dijelu lanca (John i Raja, 1999).

Acetilirani škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Golubica* u udjelima 5,81 % i 7,74 % imali su veću sklonost retrogradaciji nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C od škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida, dok su acetilirani škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Srpanjka* bili manje skloni retrogradaciji od škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida.

Nakon 14 dana skladištenja, kod pšenice sorte *Golubica* stabilniji su bili acetilirani, dok su kod sorte *Srpanjka* stabilniji bili škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida.

Rezultati analize svojstava paste škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida mjerena Brabender-ovim mikro viskoamilografom prikazana su u **Tablicama 20, 25, 30** i **35,** a acetiliranih škrobova u **Tablici 15.** Modifikacije smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida rezultirale su sniženjem temperature početka stvaranja paste. Za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* sniženje temperature početka stvaranja paste slijedilo je trend: nativni škrob < škrob modificiran u udjelu 4 % < škrob modificiran u udjelu 8 % < škrob modificiran u udjelu 6 %, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* sniženje bilo proporcionalno stupnju modifikacije. Do sniženja temperature početka stvaranja paste došlo je i acetiliranjem (Adebowale i sur., 2002) i sukciniranjem (Bhandari i Singhal, 2002) škroba, dok su Luo i sur. (2009) utvrdili povišenje temperature stvaranja paste kod škroba modificiranog smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida.

Najmanji utjecaj na sniženje temperature stvaranje paste imala je modifikacija smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida, kojom se temperatura stvaranja paste snizila na oko 98,5 % početne vrijednosti kod obje sorte. U usporedbi s acetiliranim škrobovima, škrobovi izolirani iz pšenice sorte *Srpanjka* modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su višu temperaturu stvaranja paste, dok su kod škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Golubica* razlike u temperaturi stvaranja paste ovisile kako o vrsti dikarboksilne kiseline, tako i o stupnju modifikacije.

Maksimalna viskoznost škrobne paste povisila se nakon svih modifikacija, s najvećim porastom kod škroba obje sorte modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (na 616 – 659,5 BU, ovisno o sorti i stupnju modifikacije). Za razliku od odnosa maksimalne viskoznosti škroba modificiranog u udjelu 4 % i nativnog škroba, povećanje stupnja modifikacije od 4 do 8 % nije imalo toliko izraženi utjecaj na porast maksimalne viskoznosti modificiranih škrobova, iako je postojala statistički značajna razlika među uzorcima.

U odnosu na acetilirani škrob, škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su više vrijednosti maksimalne viskoznosti. Do porasta maksimalne

viskoznosti došlo je i modifikacijom voštanog krumpirovog škroba smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida (u prisustvu NaCl) (Luo i sur., 2009) te sukciniranjem kukuruznog škroba (Bhandari i Singhal, 2002).

Viskoznost pri 92 °C također je porasla modifikacijama, te je i ovdje porast najizraženiji kod škroba modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida. Nakon 20 minuta miješanja pri 92 °C viskoznost škrobnih pasta se smanjila. Najmanji pad viskoznosti imala je pasta škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 % (9,84 %). Vrlo visoku stabilnost paste imali su i škrobovi modificirani smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida, čiji se pad viskoznosti kretao od 10,69 % (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran u udjelu 6 %) do 14,71 % (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran u udjelu 4 %) te škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 6 % (12,41 %).

Ostalim modifikacijama stabilnost paste se u odnosu na nativne škrobove smanjila, pri čemu su najnestabilnije bile paste acetiliranih (pad viskoznosti 35,55 – 42,18 %) i škrobova modificiranih smjesama jantarne kiseline i acetanhidrida (pad viskoznosti 37,69 – 43,18 %). Nestabilnost ovih pasta vjerojatno je uzrokovana nepovoljnim uvjetima, u kojima je vođena reakcija supstitucije – pH tijekom reakcije održavan je oko 9,0 što je optimalni pH za reakcije umrežavanja, ali ne i za reakcije supstitucije (monoesterifikacije), za koje je optimalna pH vrijednost oko 8,0. Uz reakciju acetiliranja, tijekom modifikacije škroba dolazi i do reakcije deacetiliranja škroba i nastajanja natrijevog acetata, kojoj pogoduje viši pH (Cui, 2005).

Hlađenjem na 50 °C ponovno dolazi do porasta viskoznosti škrobnih pasta. Sustav postepeno prelazi u stanje s nižim sadržajem energije te dolazi do reorganizacije škrobnih lanaca. Stoga, prema nekim autorima, razlika viskoznosti nakon 20 minuta miješanja pri 92 °C i viskoznosti pri 50 °C („setback“) označava sklonost škrobne paste retrogradaciji (Adebowale i sur., 2002). Prema drugim autorima, pak, ova vrijednost odražava sposobnost paste da tvori gel (Ragaee i Abdel-Aal, 2006), a prema trećima je to pokazatelj imobilizacije vode oko nabijenih centara škrobnih komponenti te slobodnih i lipida vezanih u komplekse (Hoover i Vasanthan, 1992).

Škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su višu viskoznost pri 50 °C od nativnih škrobova, što je u skladu s istraživanjima Luo-a i sur. (2009) te Bhandari-ja i Singhala (2002).

Viskoznost acetiliranih i škrobova modificiranih smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida pri 50 °C bila je značajno niža od viskoznosti škrobova modificiranih smjesama ostalih dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida. Najviše vrijednosti viskoznosti pri 50 °C imao je škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (788 – 1034 BU). Slijedi škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom

azelainske kiseline i acetanhidrida (692 – 847 BU), te škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (734 – 840 BU).

Izraženo u postocima viskoznosti paste nakon 20 minuta miješanja pri 92 °C, do najvećeg porasta viskoznosti hlađenjem paste dolazi kod acetiliranih škrobova (124 – 141 %), a najmanje se mijenja viskoznost paste škrobova modificiranih smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida (23 – 78 %). Ostali škrobovi imali su porast viskoznosti od 85 do 120 %. Iz ovih rezultata vidljivo je da su škrobovi modificirani smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida prikladni za primjenu u sustavima u kojima nije poželjno da se viskoznost značajno mijenja nakon hlađenja. Međutim, primjena škrobova modificiranih smjesama ostalih dikarboksilnih kiselina ima prednost u procesima u kojima je, zbog lakoće vođenja, poželjna manja viskoznost tijekom zagrijavanja proizvoda, u kojemu je ujedno potrebno osigurati visoku viskoznost na kraju procesa proizvodnje.

Tekstura škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazana je **Slikama 56 – 58, 65 – 67, 74 – 76 i 83 – 85**, a škrobova modificiranih acetanhidridom **Slikama 47 – 49**.

Čvrstoća gela i sila pucanja porasle su modifikacijom smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 %, glutarne kiseline i acetanhidrida u udjelima 6 i 8 %, te smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida u sva tri primijenjena udjela. Do porasta čvrstoće gela došlo je i modifikacijom škroba smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida uz primjenu ekstruzije (Mali i Grossman, 2001) te dvostrukom modifikacijom krumpirovog škroba (Das i sur., 2010). Smjesa azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 % nije značajno utjecala na čvrstoću gela i silu pucanja, dok su ih ostale smjese dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida snizile. Čvrstoća gela pala je i dvostrukom modifikacijom sago škroba (Wattanachant i sur., 2003). Modifikacija acetanhidridom u udjelima 3,87 i 7,74 % uzrokovala je porast čvrstoće gela i silu pucanja, dok je modifikacija u udjelu 5,81 % uzrokovala pad ovih parametara.

Adhezija gelova porasla je svim modifikacijama, uz najznačajniji rast modifikacijom acetanhidridom te smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida, a najmanji smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida. Dvostrukom modifikacijom i acetiliranjem krumpirovog škroba došlo je do pada adhezije gela (Das i sur., 2010).

Kapacitet bubrenja (KB) škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazan je **Slikama 59, 68, 77** i **86**, a acetiliranih škrobova **Slikom 50.** Indeks topljivosti (IT) škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazan je **Slikama 60, 69, 78** i **87**, a acetiliranih škrobova **Slikom 51**.

Pri svim temperaturama pri kojima je provedeno mjerenje, modificirani škrobovi imali su viši KB i IT od nativnih. Rast KB škrobova pripisuje se supstituiranim acetatnim skupinama koje slabe vodikove veze među škrobnim lancima te pospješuju formiranje vodikovih veza između molekula škroba i vode. Time se povećava sposobnost zadržavanja

vode, što za posljedicu ima rast KB i topljivosti (Raina i sur., 2006; Babić, 2007). Međutim, KB i IT ne rastu nužno s povećanjem postotka modifikacije, zbog utjecaja umreženih dijelova škroba, na kojima je ograničeno vezanje vode na škrobne lance te želatinizacija, čime se ograničava bubrenje granule (Raina i sur., 2006; Luo i sur., 2009).

Pri 95 °C škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su niži kapacitet bubrenja od acetiliranih škrobova. Pri 85 °C viši kapacitet bubrenja u odnosu na odgovarajuće acetilirane škrobove imali su škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida u udjelu 6 i 8 % te škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 %. Pri 65 °C i 75 °C KB škrobova modificiranih smjesama karboksilnih kiselina i acetanhidrida bili su viši u odnosu na odgovarajuće acetilirane škrobove. Iz ovih rezultata vidljivo je da je s porastom temperature mjerenja do izražaja sve više dolazilo stabilizirajuće djelovanje umreženih dijelova granule.

Indeksi topljivosti škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida su pri svim temperaturama mjerenja u pravilu bili niži u odnosu na acetilirane škrobove.

Boja škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazana je **Tablicama 21, 26, 31 i 36**, a acetiliranih škrobova u **Tablici 16**. Modifikacija škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelu 4 % nepovoljno je djelovala na bjelinu škroba, izraženu preko L* parametra boje, dok su acetiliranje (u svim udjelima) te modifikacije smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida u udjelima 6 i 8 % rezultirale povećanjem bjeline škroba. Na bjelinu (L* parametar boje) škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* sve modifikacije imale su pozitivan utjecaj, pri čemu je do najvećeg porasta L* vrijednosti došlo modifikacijom škroba smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida. Do porasta bjeline škroba došlo je i dvostrukom modifikacijom nativnog škroba slatkog krumpira (Das i sur., 2010)

a* vrijednosti svih ispitivanih škrobova bile su u negativnoj domeni (zelene boje) te su rasle s modifikacijama (vrijednosti se približavaju nuli), što je smanjenjem udjela zelene komponente u boji pozitivno utjecalo na ukupnu percepciju boje.

b* vrijednosti su kod obje sorte nakon modifikacija pale, što je pojačalo dojam bjeline škroba (veća b* vrijednost podrazumijeva veći udio žute komponente u ukupnoj boji).

Kod obje sorte škroba nakon svih modifikacija zasićenje boje je palo, a ton je porastao. Ton boje (h*) modificiranih škrobova kretao se u rasponu od 140,9 ° (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 %) do 172,2 ° (za škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 %), što je u domeni žuto – zeleno i povoljno utječe na percepciju boje.

Ukupnu promjenu boje modificiranih škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Golubica* lako bi uočili trenirani senzorski analitičari, dok je ukupna promjena boje modificiranih škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Srpanjka* teško uočljiva (Jukić i sur., 2007).

Bistroća paste škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida prikazana je **Slikama 61, 70, 79 i 88**, a acetiliranih škrobova **Slikom 52**. Modificiranje smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida rezultiralo je rastom bistroće paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* proporcionalno stupnju modifikacije, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* u udjelima 4 i 8 % uzrokovalo pad bistroće (**Slika 61**).

Modifikacija smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida uzrokovala je pad bistroće škrobne paste obiju sorata, pri čemu je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* pad bio proporcionalan stupnju modifikacije, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* pad bio slijedom udjela reagensa: 6 % < 4 % < 8 % (**Slika 70**).

Modifikacija smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 % rezultirala je rastom bistroće paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, dok je u udjelu 6 i 8 %, kao i u svim udjelima kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*, uzrokovala pad bistroće (**Slika 79**).

Utjecaj smjese azelainske kiseline i acetanhidrida na bistroću paste ovisio je kako o sorti, tako i o udjelu reagensa (**Slika 88**), dok je acetiliranje obiju sorti škroba rezultiralo rastom bistroće paste i to proporcionalno stupnju modifikacije (**Slika 52**). Kemijskom supstitucijom bočnih lanaca škroba, poput acetiliranja, pospješuje se međusobno odbijanje molekula škroba, što olakšava njihovu hidrataciju, usporava retrogradaciju te povećava bistroću paste (Bhandari i Singhal, 2002; Lim i Seib, 1993).

Kako je već spomenuto, prema nekim autorima na bistroću škrobne paste utječe kapacitet bubrenja (Craig i sur., 1989). U ovom istraživanju utvrđena je vrlo dobra korelacija između kapaciteta bubrenja acetiliranih i škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida i bistroće paste. Naime, bistroća paste bila je proporcionalna kapacitetu bubrenja za škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida, škrob izoliran iz pšenice sorte *Srpanjka* modificiran smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida te smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida, kao i za acetilirane i škrobove obiju sorata modificirane smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida.

Modificiranjem smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida je smanjena stabilnost škrobnih pasti u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje (**Slike 62, 71, 80, 89**). Pri tome je škrob izoliran iz pšenice sorte *Golubica* modificiran acetanhidridom (**Slika 53**) te smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida već u prvom ciklusu gubio oko 40 % vode, nakon čega mu sinereza nije rasla. Modificiranim škrobovima izoliranim iz pšenice sorte *Srpanjka* sinereza je rasla s povećanjem broja ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje, pri čemu

povećanje udjela smjese jantarne kiseline i acetanhidrida na kraju procesa nije imalo značajan utjecaj na sinerezu. Umrežavanjem je smanjena i stabilnost voštanih škrobova ječma i kukuruza (Woo i Seib, 1990) te škroba riže (Yeh i Yeh, 1993) u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje.

Udio rezistentnog škroba (RS) u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (izražen na suhu tvar) porastao je modifikacijama smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida (**Tablice 22, 27, 32, 37**) te acetiliranjem (**Tablica 17**). Iako je probavljivost modificiranih škrobova i dalje ostala vrlo visoka, porast udjela RS-a je u odnosu na udio RS-a u nativnom škrobu značajan.

Modificiranjem škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 % udio RS porastao je na 125 % početnog udjela, modificiranjem u udjelu 6 % na 248 % vrijednosti početnog udjela, a modificiranjem u udjelu 8 % na 143 % početnog udjela.

Modificiranje škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 % rezultiralo je porastom udjela RS na 129 % početne vrijednosti, u udjelu 6 % porastom na 102 %, a u udjelu 8 % na 141 % početne vrijednosti.

Modificiranje škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 6 % nije utjecalo na udio RS-a, no zato su modificiranje u udjelu 8 % sa 158 % početnog udjela i 4 % sa 200 % početne vrijednosti značajno utjecali na probavljivost *in vitro.*

Smjesa azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 6 % također nije značajno utjecala na udio RS u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (102 % početne vrijednosti), no bolji su rezultati postignuti s udjelom 4 % (131 % početne vrijednosti) i 8 % (416 % početne vrijednosti).

Acetiliranjem škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* u udjelu 3,87 % udio RS-a povećao se na 156 % početne vrijednosti, u udjelu 5,81 % na 112 % početne vrijednosti, a u udjelu 7,74 % na 110 % početne vrijednosti.

Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Srpanjka* umanjen je modifikacijama smjesama jantarne kiseline i acetanhidrida te adipinske kiseline i acetanhidrida, međutim, vrlo značajan porast udjela RS-a postignut je modificiranjima smjesama glutarne kiseline i acetanhidrida (121 – 537 % početne vrijednosti), azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelima 6 i 8 % (298, odn. 2460 % početne vrijednosti) te acetiliranjem u udjelu 3,87 % (277 % početne vrijednosti).

Udio rezistentnog škroba porastao je i modificiranjem škroba Jobove suze glutarnom kiselinom (Kim i sur., 2008), umrežavanjem voštanog kukuruznog škroba sa STMP (Khondkar i sur., 2009,) te umrežavanjem škroba riže, kukuruza i krumpira različitim

sredstvima (Woo i Seib, 2002), no pao je hidroksipropiliranjem škroba prosa (Lawal, 2009) i kukuruznog škroba (Liu i sur., 1999b).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi provedenih istraživanja, dobivenih rezultata te provedene rasprave može se zaključiti sljedeće:

- Rezultati kemijskih analiza pokazali su da je čistoća izoliranih i modificiranih škrobova bila vrlo visoka te su izolirani i modificirani škrobovi udovoljili zahtjevima kvalitete.
- Sorta pšenice nije imala značajan utjecaj na termofizikalna, fizikalna i kemijska svojstva škroba, ali je imala utjecaj na reakciju škroba s reagensima za modifikaciju.
- Modificiranje škroba obje sorte pšenice epiklorhidrinom rezultiralo je porastom temperature želatinizacije i sniženjem entalpije retrogradacije nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C. Nakon 14 dana skladištenja pri istoj temperaturi kod škroba *Srpanjke* modificiranog epiklorhidrinom došlo je do porasta entalpije retrogradacije u odnosu na nativni škrob, dok je entalpija retrogradacije škroba *Golubice* modificiranog epiklorhidrinom i dalje ostala niža u odnosu na nativni škrob.
- Umrežavanjem škroba epiklorhidrinom porasla je temperatura stvaranja paste. Maksimalna viskoznost škrobne paste snizila se proporcionalno stupnju umreženja škroba obje sorte, pri čemu je umrežavanje imalo veći utjecaj na maksimalnu viskoznost paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*. Osim toga, umrežavanje epiklorhidrinom značajno je stabiliziralo škrobnu pastu tijekom miješanja pri visokim temperaturama, što je vidljivo iz nižih vrijednosti „kidanja“. Niže „setback“ vrijednosti umreženih škrobova pokazale su da je došlo i do stabilizacije paste tijekom hlađenja, i to proporcionalno stupnju umreženja.
- Umrežavanje škroba epiklorhidrinom nije značajno utjecalo na čvrstoću i silu pucanja gela škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, ali je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* došlo do sniženja čvrstoće gela i sile pucanja i to proporcionalno povećanju udjela epiklorhidrina. Adhezija škrobnog gela porasla je uslijed modificiranja epiklorhidrinom.
- Kapacitet bubrenja i indeks topljivosti škrobova modificiranih epiklorhidrinom bili su niži u odnosu na nativne škrobove.
- Iz vrijednosti ukupne promjene boje vidljivo je da je modificiranjem epiklorhidrinom došlo do teško uočljive razlike u boji škroba u odnosu na nativne škrobove. Rezultati mjerenja bistroće škrobne paste pokazali su da je modificiranjem škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* epiklorhidrinom došlo do porasta, a kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* do pada bistroće škrobne paste proporcionalnu stupnju modifikacije.
- Modificiranje škroba epiklorhidrinom rezultiralo je porastom sinereze, odnosno padom stabilnosti škrobne paste u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje.
- Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* se smanjio, a u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Srpanjka* povećao modificiranjem epiklorhidrinom.

- Modificiranjem škrobova smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarne, glutarne, adipinske i azelainske) i acetanhidrida došlo je do porasta stupnja supstitucije proporcionalno povećanju udjela smjese za modifikaciju, no efikasnost reakcije se smanjila.
- IR-spektri škrobova pokazali su da je modificiranjem škroba smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarne, glutarne, adipinske i azelainske) i acetanhidrida došlo do pojave nove vrpce u području oko 1740 cm^{-1}, koja je karakteristična za karbonilne skupine estera, te vrpce u području 1240 – 1250 cm^{-1}, koja potječe od vibracije (C–COO)– skupine. Osim toga, kod modificiranih škrobova smanjen je i intenzitet vrpce u području 3430 – 3440 cm^{-1}, koje ukazuje na smanjenje broja –OH skupina koje se istežu i povezuju vodikovim vezama.
- Početna, temperatura vrha i temperatura završetka želatinizacije škroba snizile su se modificiranjem smjesama dikarboksilnih kiselina (jantarne, glutarne, adipinske i azelainske) i acetanhidrida u udjelima 4 %, 6 % i 8 %. Entalpija želatinizacije smanjila se modificiranjem škroba izoliranog iz obje sorte pšenice smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida. Sniženje entalpije želatinizacije bilo je proporcionalno stupnju modifikacije kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modificiranje u udjelu 8 % rezultiralo višom entalpijom želatinizacije u odnosu na modificiranje u udjelu 6 %. Entalpija retrogradacije škroba izoliranog iz obje sorte pšenice snizila se modificiranjem smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida proporcionalno stupnju modifikacije nakon 7 i 14 dana skladištenja pri 4 °C.
- Modificiranje smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida rezultiralo je sniženjem temperature početka stvaranja paste. Maksimalna viskoznost škrobne paste povisila se nakon svih modifikacija, s najvećim porastom kod škroba obje sorte modificiranog smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida. U odnosu na acetilirani škrob, škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su više vrijednosti maksimalne viskoznosti.
- Najmanji pad viskoznosti imala je pasta škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* modificiranog smjesom azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 % (9,84 %). Vrlo visoku stabilnost paste imali su i škrobovi modificirani smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida, a ostalim modifikacijama stabilnost paste se u odnosu na nativne škrobove smanjila.
- Čvrstoća gela i sila pucanja porasle su modificiranjem smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 %, glutarne kiseline i acetanhidrida u udjelima 6 i 8 %, te smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida u sva tri primijenjena udjela.
- Smjesa azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelu 8 % nije značajno utjecala na čvrstoću gela i silu pucanja, dok su ostale smjese dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida dovele do sniženja navedenih parametara.

- Adhezija gelova porasla je kod svih škrobova modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida, uz najznačajniji rast modificiranjem acetanhidridom te smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida, a najmanji smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida.
- Pri svim temperaturama pri kojima je provedeno mjerenje, škrobovi modificirani smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida imali su viši KB i IT od nativnih.
- Ukupnu promjenu boje škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Golubica* modificiranih smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida lako bi uočili trenirani senzorski analitičari, dok je ukupna promjena boje modificiranih škrobova izoliranih iz pšenice sorte *Srpanjka* teško uočljiva. Modificiranje smjesom jantarne kiseline i acetanhidrida rezultiralo je porastom bistroće paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica* proporcionalno stupnju modifikacije, dok je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* u udjelima navedenih reagensa od 4 i 8 % uzrokovalo smanjenje bistroće. Modificiranje smjesom glutarne kiseline i acetanhidrida uzrokovalo je pad bistroće škrobne paste obiju sorata pšenice, pri čemu je kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka* pad bio proporcionalan stupnju modifikacije. Modificiranje smjesom adipinske kiseline i acetanhidrida u udjelu 4 % uzrokovalo je porast bistroće paste škroba izoliranog iz pšenice sorte *Golubica*, dok je u udjelu 6 i 8 %, kao i u svim udjelima kod škroba izoliranog iz pšenice sorte *Srpanjka*, uzrokovalo pad bistroće. Utjecaj smjese azelainske kiseline i acetanhidrida na bistroću paste ovisio je kako o sorti, tako i o udjelu reagensa.
- Modificiranje škroba smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida rezultiralo je povišenjem sinereze, odnosno smanjenjem stabilnosti škrobne paste u ciklusima zamrzavanje – odmrzavanje.
- Udio rezistentnog škroba (RS) u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Golubica* (izražen na suhu tvar) povećao se modificiranjem smjesama dikarboksilnih kiselina i acetanhidrida. Udio rezistentnog škroba u škrobu izoliranom iz pšenice sorte *Srpanjka* smanjio se modificiranjem smjesama jantarne kiseline i acetanhidrida te adipinske kiseline i acetanhidrida, međutim, vrlo značajna povećanja udjela RS-a postignuta su modificiranjem smjesama glutarne kiseline i acetanhidrida (121 – 537 % početne vrijednosti), azelainske kiseline i acetanhidrida u udjelima 6 i 8 % (298, odn. 2460 % početne vrijednosti) te acetiliranjem u udjelu 3,87 % (277 % početne vrijednosti).

7. LITERATURA

Adamu BOA: Resistant starch derived from extruded corn starch and guar gum as affected by acid and surfactants: structural characterization. *Starch/Stärke*, 53: 582-591, 2001.

Adebowale KO, Adeniyi Afolabi T, Lawal OS: Isolation, chemical modification and physico-chemical characterisation of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*) starch and flour. *Food Chemistry*, 78:305-311, 2002.

Ahmed R, Segal I, Hassan h: Fermentation of dietary starch in humans. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(4): 1017-1020, 2000.

Akerberg A, Liljeberg H, Bjorck I: Effects of amylose/amilopectin ratio and baking conditions on resistant starch formation and glycaemic indices. *Journal of Cereal Science* 28:71-80, 1998.

AOAC Official Method 2002.02. *Resistant starch in starch and plant materials*. Official methods of analysis of the AOAC international (18th ed.). Gaithersburg, Maryland: AOAC International.

Babić J: Utjecaj acetiliranja i dodataka na reološka i termofizikalna svojstva škroba kukuruza i tapioke. *Doktorski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.

Babić J, Šubarić D, Nedić Tiban N, Kopjar M: The effect of lactose and whey powder on the gelatinization and retrogradation of tapioca starch. *Proceedings of the 4th international symposium on food rheology and structure, ISFRS* 707-708, 2006.

Babić J, Šubarić D, Nedić Tiban N, Kopjar M: Acetylation and characterization of corn starch. *Journal of Food Science and Technology*, 46(5):423–426, 2009.

BeMiller JN, Whistler RL: *Starch: Chemistry & Technology*, 3rd Ed. Academic Press, SAD, Kanada, UK, 2009.

BeMiller JN, Whistler RL: Carbohydrates. U: *Food Chemistry*. O.R. Fennema (ur.), MarcelDekker, Inc. New York, 191 – 204, 1996.

Bhandari PN, Singhal RS: Effect of succinylation on the corn and amaranth starch pastes - review. Carbohydrate Polymers, 48:233-240, 2002.

Biliaderis CG: Structures and phase transitions of starch polymers. U *Polysaccharide Association Structures in Food*. Marcel Dekker, New York, 57 – 168, 1998.

Blazek J, Salman H, Lopez Rubio A, Gilbert E, Hanley T, Copeland L: Structural characterization of wheat starch granules differing in amylose content and functional characteristics. *Carbohydrate Polymers* 75:705–711, 2009.

Carmona-Garcia R, Sanchez-Rivera MM, Mendez-Montealvo G, Garza-Montoya B, Bello-Perez LA: Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (Musa parasitica). *Carbohydrate Polimers* 76:117-122, 2009.

Champ M Molis C, Flourie B, Bornet F, Pellier P, Colonna P, Galmiche JP, Rambaud JC: Small-intestinal digestion of partially resistant cornstarch in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 705-710, 1998.

Choi SG: The effect of chemical modification on the molecular mobility, texture, and retrogradation of starch-water suspensions. *Doktorski rad.* Univeristy of Georgia, Athens, Georgia, SAD, 2001.

Chung KH, Lee CM: Water binding and ingredient dispersion pattern effects on surimi gel texture. *Journal of Food Science* 56:1263-1266, 1991.

Cook SI, Sellin JH: Review article: short chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacology & Therapeutics*, 12: 499-507, 1998.

Craig SAS, Maningat CC, Seib PA, Hoseney RC: Starch paste clarity. *Cereal Chemistry*, 66(3):173-182, 1989.

Cresci A, Orpianesi C, Silvi S, Mastrandrea V, Dolara P: The effect of sucrose or starch-based diet on short chain fatty acids and faecal microflora in rats. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 245-250, 1999.

Crowe TC, Seligman SA, Copppeland L: Inhibition of enzymatic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *Nutrient Metabolism – Research Communication*, 2000.

Cui SW: *Food Carbohydrates*. CRC Press, Boca Raton, SAD, 2005.

Dai ZM, Yin YP, Zhang M, Li WY, Yan SH, Cai RG, Wang ZL: Distribution of Starch Granule Size in Grains of Wheat Grown Under Irrigated and Rainfed Conditions. *Acta Agronomica Sinica* 34(5):795-802, 2008.

Das AB, Singh G, Singh S, Rijar CS: Effect of acetylation and dual modification on physico-chemical, rheological and morphological characteristics of sweet potato (*Ipomoea batatas*) starch. *Carbohydrate Polymers*, 80:725-732, 2010.

De Schrijver R, Vanhoof K, Vande Ginste J: Nutrient utilization in rats and pigs fed enzyme resistant starch. *Nutrition Research*, 19 (9): 1349-1361, 1999.

Deetae P, Shobsngob S, Varanyanond W, Chinachoti P, Naivikul O, Varavinit S: Preparation, pasting properties and freeze-thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 73:351-358, 2008.

Delval F, Crini G, Bertini S, Morin-Crini N, Badot P-M, Vebrel J, Torri G: Characterization of crosslinked starch materials with spectroscopic techniques. *Journal of Applied Polymer Science*, 93:3650-2663, 2004.

Dubois I, Picton L, Muller G, Audibert-Hayet A, Doublier JL: Structure/rheological properties relations of crosslinked potato starch suspensions. *Journal of Applied Polymer Science*, 81:2480-2489, 2001.

Dzulkefly K, Koon SY, Kassim A, Sharif A, Abdullah AH: Chemical modification of sago starch by solventless esterification with fatty acid chlorides. *The Malasyan Journal of Analytical Sciences* 11:395-399, 2007.

Eerlingen RC, Cillen G, Delcour JA: Enzyme-resistant starch. IV. Effect of endogenous lipids and added sodium dodecyl sulfate on formation of resistant starch. *Cereal Chemistry*, 71(2):170-177, 1994.

Eliasson AC: *Starch in Food*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, Engleska, 2004.

Elkhalifa AEO, Schiffler B, Bernhard R: Effect of fermentation on the starch digestibility, resistant starch and some physicochemical properties of sorghum flour. *Nahrung/Food* 48(2):91-94, 2004.

Engels, J: Resistant starh: Rx for good health. www.preparedfoods.com/CDA/ Archives/3f51022f62..., 2003 [20.07. 2006.]

Englyst KN, Liu S, Englyst SN: Nutritional characterization and measurment of dietary carbohydrates. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(1): S19-S39, 2007.

Escarpa A, Gonzales MC, Morales MD, Saura-Calixto F: An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation. *Food Chemistry* 60(4):527-532, 1997.

FAO www.fao.org [11. 3. 2010.]

Faraj A, Vasanthan T, Hoover R: The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International* 37:517-525, 2004.

Garcia-Alonso A, Goni I: Effect of processing on potato starch: In vitro availability and glaecemic index. *Starch/Stärke* 52:81-84, 2000.

Garcia-Alonso A, Jimenez-Escrig A, Martin-Carron N, Bravo L, Saura-Calixto F: Assessement of some parameters involved in the gelatinisation and retrogradation of starch. *Food Chemistry* 66:181-187, 1999.

Goni I, Garcia-Diz L, Manas E, Saura-Calixto F: Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry* 56:445-449, 1996.

Gormley R, Walshe T: Effects of boiling, warm holding, mashing and cooling on the levels of enzyme-resistant potato starch. *International Journal of Food Science and Technology* 34:281-286, 1999.

Granfeldt Y, Wu X, Bjoerck I: Determination of glyceamic index; some methodological aspects related to the analysis of carbohydrate load and characteristics of the previous evening meal. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60: 104-112, 2006.

Guntzler H, Gremlich HU: *Uvod u infracrvenu spektroskopiju*. Školska knjiga, Zagreb, 2006.

Guraya HS, James C, Champagne ET: Effect of cooling and freezing on the digestibility of debranched rice starch and physical properties of the resulting material. *Starch/Stärke* 53:64-74, 2001a.

Guraya S, James C, Champagne ET: Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch. *Starch/Staerke* 53:131-139, 2001b.

Hamdi G, Ponchel G: Enzymatic degradation of epichlorohydrin crosslinked starch-based microspheres by alpha-amylase. *Pharmaceutical Research* 16(6):967-875, 1999.

Haralampu SG: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers* 41:285-292, 2000.

Heacock PM, Hertzler SR, Wolf B: The glycemic, insulinemic, and breath hydrogen responses in humans to a food starch esterified by 1-octenyl succinic anhydride. *Nutrition Research* 24: 581–592,2004.

Henry F, Costa LC, Aymes-Chodur C: Influence of ionizing radiation on physical properties of native and chemically modified starches. *Radiation Physics and Chemistry* 79:75-82, 2010.

http://www.zuckerforschung.at [11. 03. 10.]

Hoover R, Vasanthan T: Studies on isolation and characterization of starch from oat (Avena nuda) grains. *Carbohydrate Polymers*, 19:285–297, 1992.

Huang M, Kennedy JF, Li B, Xu X, Xie BJ: Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan and glucomannan: a texture profile analysis study. *Carbohydrate Polymers* 69:411-418, 2007.

Hui R, Qui-He C, Ming-liang F, Quiong X, Guo-quing H: Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Chemistry* 114:81-86, 2009.

Huth M, Dongowski G, Gebhardt E, Flamme W: Functional properties of dietary fibre enriched extrudates from barley. *Journal of Cereal Science* 32:115-128, 2000.

Islas-Hernandez JJ, Rendon-Villalobos R, Agama-Acevedo E, Gutierrez-Meraz F, Tovar J, Arambula-Villa G, Bello-Perez LA: In vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas stored at two different temperatures. *LWT-Food Science and Technology* 39:947-951, 2006.

Ispas-Szabo P, Ravenelle F, Hassan I, Preda M, Mateescu MA: Structure - properties relationship in cross-linked high-amylose starch for use in controlled drug release. *Carbohydrate Research* 323:163-175, 2000.

Jayakody L, Hoover R: Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins - a review. *Carbohydrate Polymers* 74:691-703, 2008.

Jenkins, P. J., and Donald, A. M. 1998. Gelatinisation of starch: A combined SAXS/WAXS/ SANS study. *Carbohydrate Research* 308:133-147, 1998.

Jenkins DJA, Kendall CWC: Resistant starches. *Current Opinion in Gastroenterology* 16: 178-183, 2000.

John JK, Raja KCM: Properties of cassava starch-dicarboxylic acid complexes. *Carbohydrate Polymers* 39:181-186, 1999.

Jouppila K, Roos YH: The physical state of amrphous corn starch and its impact on crystallization. *Carbohydrate polymers* 32:95-104, 1997.

Jukić M, Ugarčić-Hardi Ž, Koceva Komlenić D: Colour changes of pasta produced with different supplements during drying and cooking. *Deutche Lebensmittel-Rundschau* 103(4):159–163, 2007.

Jyothi AN, Moorthy SN, Rajasekharan KN: Effects of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch. Starch/Staerke 58:292-299, 2006.

Kelmendi B, Musa F, Kukalaj Q, Berisha D, Arifaj A: Svojstva istraživanih sorata ozime pšenice na Kosovu ovisno o godini i lokaciji. *Zbornik radova 43. hrvatskog i 3. međunarodnog simpozija agronoma* 273-277, Agronomski fakultet, Zagreb, 2008.

Kerr RW, Cleveland FC: Orthophosphate esters of starch. US Patent 2884413, 1959.

Khondkar D, Tester RF, Karkalas J: Effect of cross-linking on the resistance to enzymatic hydrolysis of waxy maize starch and low-methoxy pectin. *Food Hydrocolloids* 23:387–393, 2009.

Kim HS, Huber KC: Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. *Journal of Cereal Science* 48:159-172, 2008.

Kim MJ, Shoi SJ, Shin SI, Sohn MR, Lee CJ, Kim Y, Cho WI, Moon TW: Resistant glutarate starch from adley: preparation and properties. *Carbohydrate Polymers* 74:787-796, 2008.

Kim SK, Kwak JE, Kim WK: A simple method for estimation of enzyme resistant starch content. *Starch/Staerke* 55: 366-368, 2003.

Kljusurić S.: *Uvod u tehnologiju mljevenja pšenice*. PTF Osijek, Metković, 2000.

Knight JW, Olson RM: Wheat starch: production, modification and uses. U: *Starch chemistry and technology (1st Edition)*. Academic Press, Orlando, Florida, SAD, 491 – 505, 1984.

Kovačević J: Sorte pšenice i ječma. http://www.poljinos.hr/dokumenti/SORTE%20PSENICE%20I%20JECMA.pdf [5. 5. 2010.]

Kricheldorf HR: *Handbook of Polymer Synthesis, part B*. Marcel Dekker, 1992.

Kurakake M, Akiyama Y, Hagiwara Y, Komaki T: Effects of cross-linking and low molecular amylose on pasting characteristics of waxy corn starch. *Food Chemistry*, 116:66-70, 2009.

Starch structure and gelatinisation. http://www.landfood.ubc.ca/courses/fnh/301/carb/carbprin.htm [18. 7. 2006.]

Lawal OS: Starch hydroxyalkylation: Physicochemical properties and enzymatic digestibility of native and hydroxypropylated finger millet (*Eleusine coracana*) starch. *Food Hydrocolloids* 23:415–425, 2009.

Li BZ, Wang LJ, Li D, Chiu YL, Zhang ZJ, Shi J, Chen XD, Mao ZH: Physical properties and loading capacity of starch-based microparticles crosslinked with sodium trimetaphosphate. *Journal of Food Engineering* 92: 255-260, 2009.

Li JY, Yeh A-I: Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power of various starches. *Journal of Food Engineering* 50:141–148, 2001.

Li W, Cui SW, Cao R: Isolation and characterization of wheat bran starch. *Food Research International* 41:882-887, 2008.

Li WY, Yan SH, Yin YP, Li Y, Liang TB, Gu F, Dai ZM, Wang ZL: Comparison of starch granule size distribution between hard and soft wheat cultivars in Eastern China. *Agricultural Sciences in China* 7(8):907-914, 2008.

Lim S, Seib PA: Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates. *Cereal Chemistry* 70(2):137-144, 1993.

Liu H, Ramsden L, Corke H: Physical properties of cross-linked and acetylated normal and waxy rice starch. *Starch/Staerke* 51:249-252, 1999.

Liu H, Ramsden L, Corke H: Physical properties and enzymatic digestibility of hydroxypropylated *ae, wx*, and normal maize starch. *Carbohydrate Polymers* 40:175–182, 1999b.

Liu Q, Thompson DB: Effects of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy-type maize starches. *Carbohydrates research* 314:221-235, 1998.

Lopez HW, Coudray C, Bellanger J, Levrat-Verny MA, Demigne C, Rayssiguier Y, Remesy C: Resistant starch improves mineral assimilation in rats adapted to a wheat bran diet. *Nutrition Research* 20(1):141-155, 2000.

Luo FX, Huang Q, Fu X, Zhang LX, Yu SJ: Preparation and characterisation of cross-linked waxy potato starch. *Food Chemistry* 115:563-568, 2009.

Mahadevamma S, Tharanthan RN: Processing of legumes: resistant and dietary fiber content. *Journal of Food Quality* 27:289-303, 2004.

Majzoobi M, Radi M, Farahnaky A, Jamalian J, Tongdang T: Physico-chemical properties of phosphoryl chloride cross-linked wheat starch. *Iranian Polymer Journal* 18(6):491-499, 2009.

Mali S, Grossman MVE: Preparation of acetylated distarch adipates by extrusion. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 34:384-389, 2001.

Mathew S, Abraham TE: Physico-chemical characterisation of starch ferulates of different degrees of substitution. *Food Chemistry* 105:579-589, 2007.

Merten HL, Bachman GL: Glutaric acid: a potential food acidulant. *Journal of Food Science* 41(2):463-464, 2006.

Mlinar R, Ikić I: Bc Renata – nova sorta ozime pšenice. *Sjemenarstvo* 26:3-4, 2009.

Mohan BH, Maleshi NG: Characteristics of native and enzymatically hydrolised common wheat (*Triticum aestivum*) and *diococcum* wheat (*Triticum diococcum*) starch. *European Food Research and Technology* 223:355–361, 2006.

Moniharapon T, Moniharapon E, Watanabe Y, Hashinaga F: Inhibition of food pathogenic bacteria by azelaic acid. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8:450-455, 2005.

Murua-Pagola B, Beristain-Guevara CI, Martinez-Bustos F: Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering* 91:380-386, 2009.

Mun SH, Shin M: Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chemistry* 96:115-121, 2006.

Namratha J, Asna U, Prasad NN: Effect of storage on resistant starch content of processed ready-to-eat foods. *Food Chemistry* 79:395-400, 2002.

Niba LL: Effect of storage period and temperature on resistant starch and ß-glucan content in cornbread. *Food Chemistry* 83:493-498, 2003.

Oates CG: Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science and Technology,* **8**: 375-382, 1997.

Ortega FE i Eliasson AC: Gelatinisation and retrogradation behaviour of some starch mixtures. *Starch/Starke* 53:520-529, 2001.

Parchure AA, Kulkarni PR: Effect of food processing treatments on generation of resistant starch. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 48:257-260, 1997.

Park SH, Wilson JD, Seabourn BW: Starch granule size distribution of hard red winter and hard red spring wheat: Its effects on mixing and breadmaking quality. *Journal of Cereal Science* 49:98-105, 2009.

Perry PA, Donald AM: The effect of sugars on the gelatinisation of starch. *Carbohydrate Polymers* 49:155-165, 2002.

Pomeranz Y: Wheat science and technology. U: *Encyclopedia of Food Science and Technology, 2nd ed*. Ur. Francis FJ, Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, Inc. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 2000.

Pravilnik o prehrambenim aditivima (NN81/2008)

Pravilnik o šećeru i ostalim saharidima, njihovim otopinama te škrobu i škrobnim sirupima (NN174/04)

Pravilnik o žitaricama, mlinskim i pekarskim proizvodima, tjestenini, tijestu i proizvodima od tijesta (NN78/05)

Ragaee S, Abdel-Aal E-SM: Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry* 95:9–18, 2006.

Raina CS, Singh S, Bawa AS, Saxena DC: Some characteristics of acetylated, cross-linked and dual-modified Indian rice starches. *European Food Research and Technology* 223:561-570, 2006.

Ratnayake WS, Jackson DS: A new insight into the gelatinization process of native starches. *Carbohydrate Polymers* 67:511-529, 2007.

Reddy I, Seib, PA: Modified waxy wheat starch compared to modified waxy corn starch. *Journal of Cereal Science* 31:25-39, 2000.

Robertson MD, Currie JM, Morgan LM, Jewell DP, Frayn KN: Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. *Diabetologia* 46:659-665, 2003.

Rosin PM, Lajolo FM, Menezes EW: Measurement and characterization of dietary starches. *Journal of Food Composition and Analysis* 15:367-377, 2002.

Sagum R., Arcot J: Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. *Food Chemistry* 70:107-111, 2000.

Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR: Resistant starch – A Review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5:1-17, 2006.

Sajilata MG, Singhal RS: Specialty starches for snack foods. *Carbohydrate Polymers* 59:131-151, 2005.

Sambucetti ME, Zuleta A: Resistant starch in dietary fiber values measured by the AOAC method in different cereals. *Cereal Chemistry* 73(6):759-761, 1996.

Sasaki T, Yasui T, Matsuki J: Effect of amylose content on gelatinisation, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their F1 seeds. *Cereal Chemistry* 77:58-63, 2000.

Schwiertz A, Lehmann U, Jacobasch G, Blaut M: Influence of resistant starch on the SCFA production and cell counts of butyrate-producing Eubacterium spp. in the human intestine. *Journal of Applied Microbiology* 93:157–162, 2002.

Segura-Campos M, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D: Synthesis and partial characterisation of octenylsuccinic starch from *Phaseolus lunatus. Food Hydrocolloids* 22:1467-1474, 2008.

Shin M, Song J, Seib PA: In vitro digestibility of cross-linked starches – RS4. *Starch/Staerke* 56:478-483, 2004.

Singh J, Kaur L, McCarthy OJ: Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications - a review. *Food Hydrocolloids* 21:1-22, 2007.

Singh J, Kaur L, Singh N: Effect of acetylation on some properties of corn and potato starches. *Starch/Starke* 56:586-601, 2004.

Singh N, Singh J, Kaur L, Sodhi Singh N, Singh Gill B: Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry* 81:219–231, 2003.

Sodhi NS, Singh N: Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *Journal of Food Engineering* 70:117–127, 2005.

Sodhi NS, Singh N: Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. *Food Chemistry* 80: 99–108, 2002.

Sopade PA, Halley PJ, Junming LL: Gelatinisation of starch in mixtures of sugars II. Application of differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers* 58:311–321, 2004.

Sung W-C, Stone M: Characterisation of various wheat starch in pasta development. *Journal of Marine Science and Technology* 11(2):61-69, 2003.

Svihus B, Uhlen AK, Harstad OM: Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology* 122:303-320, 2005.

Themeier H, Hollman J, Neese U, Lindhauer MG: Structural and morphological factors influencing the quantification of resistant starch II in stasrches od different botanical origin. *Carbohydrate Polymers* 61:72-79, 2005.

Thompson DB: Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Science and Technology* 11:245-253, 2000.

Tomlin J, Read W: The effect of resistant starch on colon function in humans. *British Journal of Nutrition* 64:589-595, 1990.

Topping DL, Fukushima M, Bird AR: Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of art. *Proceedings of the Nutrition Society* 62:171-176, 2003.

Unlu E, Faller JF: Formation of resistant starch by a twin-screw extruder. *Cereal Chemistry* 75:346-350, 1998.

Van Der Borght A, Goesaert H, Veraverbeke WS, Delcour JA: Fractionation of wheat flour into starch and gluten: overview of main processes and the factors involved. *Journal of Cereal Science* 41:221-237, 2005.

Van Hung P, Maeda T, Morita N: Waxy and high-amylose wheat starches and flours—characteristics, functionality and application. *Trends in Food Science and Technology* 17:448-456, 2006.

Van Hung P, Morita N: Physiccochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules. *Carbohydrate Polymers* 59:239-246, 2005.

Walter RH: *Polysaccharide association structures in food*. Marcel Dekker, Inc. New York, SAD, 1998.)

Wang X, Brown IL, Khaled D, Mahoney MC, Evans AJ, Conway PL: Manipulation of colonic bacteria and volatile fatty acid production by dietary high amylose maize (amylomaize) starch granules. *Journal of Applied Microbiology* 93:390–397, 2002.

Wang X, Gao WY, Zhang LM, Xiao PG, Yao LP, Liu Y, Li KF, Xie WG: Study on the morphology, crystalline structure and thermal properties of yam starch acetates with different degrees of substitution. *Sciences in China Series B: Chemistry* 859-865, 2008.

Wasserman LA, Signorelli M, Schiraldi A, Yuryev V, Boggini G, Bertini S, Fessas D: Preparation of wheat resistant starch. Treatment of gels and DSC characterisation. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 87:153-157, 2007.

Wattanachant S, Muhammad SKS, Hashim DM, Rahman RA: Characterisation of hydroxypropylated crosslinked sago starch as compared to commercial modified starches. *Songklanakarin Journal Science and Technology* 24(3):439-450, 2002.

Wattanachant S, Muhammad K, Hashim DM, Rahman RA: Effect of crosslinking reagents and hydroxypropylation levels od dual-modified sago starch properties. *Food Chemistry* 80:461-471, 2003.

Wickramasinghe HAM, Miura H, Yamauchi H, Noda T: Comparison of the starch properties of Japanese wheat varieties with those of popular commercial wheat classes from the USA, Canada and Australia. *Food Chemistry* 93:9-15, 2005.

Woo KS, Seib PA: Cross-linked resistant starch: preparation and properties. *Cereal Chemistry* 79(6):819-825, 2002.

Woo Y, Seib PA: Acetylated and hydroxypropylated distarch phosphates from waxy barley: paste properties and freeze-thaw stability. *Cereal Chemistry* 67(2):202-208, 1990.

www.engormix.com/starch_digestion_in_the_e_ar... [18. 07. 2006.]

www.landfood.ubc.ca/.../301/carb/carbprin.htm [17. 07. 2006.]

www.landfood.ubc.ca/.../301/water/waterq5.htm [18. 07. 2006.]

Xie X, Cui SW, Liu Q: Isolation and characterisation of wheat bran starch. Food *Research International* 41:882-887, 2008.

Xie X, Liu Q, Cui SW: Studie on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Research International* 39:332-341, 2006.

Xu W, WenYuan G, LiMing Z, PeiGen X, LiPing Y, Yi L, KeFeng L, WeiGuang X: Study on the morphology, crystalline structure and thermal properties of yam starch acetates with different degrees of substitution. *Science in China Series B: Chemistry* 51:859-865, 2008.

Yamada Y, Hosoya S, Nishimura S, Tanaka T, Kajimoto Y, Nishimura A, Kajimoto O: Effect of bread containing resistant starch on postprandial blood glucose levels in humans. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* 69 (3):559-566, 2005.

Yeh A-I, Yeh S-L: Some characteristics of hydroxypropylated and cross-linked rice starch. *Cereal Chemistry* 70(5):596-601, 1993.

Yoo SH, Jane JL: Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers* 49:297-305, 2002.