

# Varijabilnost kvalitativnih osobina germplazme ozime pšenice i selekcija za posebne namjene

---

Weg, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:549071>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Nikolina Weg, apsolvent

Diplomski studij, smjer: Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

**VARIJABILNOST KVALITATIVNIH OSOBINA GERMPLAZME OZIME PŠENICE  
I SELEKCIJA ZA POSEBNE NAMJENE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2014.**

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Nikolina Weg, apsolvent

Diplomski studij, smjer: Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

**VARIJABILNOST KVALITATIVNIH OSOBINA GERMPLAZME OZIME PŠENICE  
I SELEKCIJA ZA POSEBNE NAMJENE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2014.**

SVEUČILIŠTE J.J. STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU**

Nikolina Weg, apsolvent

Diplomski studij, smjer: Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

**VARIJABILNOST KVALITATIVNIH OSOBINA GERMPLAZME OZIME PŠENICE  
I SELEKCIJA ZA POSEBNE NAMJENE**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Đurđica Ačkar, predsjednik
2. prof. dr. sc. Sonja Marić, mentor
3. doc. dr. sc. Sonja Petrović, član

**Osijek, 2014.**



## Sadržaj

<b>1. Uvod</b>	1
1.1. Cilj istraživanja	2
<b>2. Pregled literature</b>	3
1.1. Škrob i ispitivanje škrobnih granula	3
1.2. Utjecaj amiloze, amilopektina i njihovog omjera na svojstva škroba	5
1.3. Škrob sa smanjenim udjelom amiloze - voštani škrob	7
1.4. Rezistentni škrob	10
1.5. Modificirani škrob	11
1.6. Determinacija amiloze i amilopektina	12
<b>3. Materijal i metode</b>	14
1.1. Biljni materijal	14
1.2. Metode rada	15
1.2.1. Obrada škroba	15
1.2.2. Taloženje amilopektina pomoću Con A i određivanje amiloze	17
1.2.3. Određivanje ukupnog škroba	19
<b>4. Rezultati</b>	20
<b>5. Rasprava</b>	24
<b>6. Zaključak</b>	27
<b>7. Popis literature</b>	28
<b>8. Sažetak</b>	34
<b>9. Summary</b>	35
<b>10. Popis tablica</b>	36
<b>11. Popis slika</b>	37
<b>12. Popis grafikona</b>	38

**Temeljna dokumentacijska kartica**

**Basic documentation card**

## 1. Uvod

Pšenica (*Triticum aestivum* L. ssp. *vulgare*) je danas kultura koja po važnosti u ljudskoj prehrani zauzima prvo mjesto. Prije svega koristi se kao krušna biljka, a pšeničnim kruhom hrani se oko 70% stanovništva svijeta. Koristi se u mlinsko - pekarskoj industriji, konditorskoj, te farmaceutskoj i pivarskoj industriji. Važna je i kao sirovina za proizvodnju stočne hrane, a slama se koristi kao stelja za životinje. Može se koristiti i za proizvodnju celuloze i papira. Najveći značaj ima obična ili meka pšenica koja se dijeli na ozimu i jaru formu. U svijetu ozima pšenica zauzima veće površine i u prosjeku daje veće i stabilnije prinose od jare, iz čega proizlazi i njihov opći ekonomski značaj.

Glavni kemijski spojevi zrna pšenice koji određuju kvalitetu zrna i prinos su bjelančevine (9-19%) i škrob (60-73%). Kao međunarodni standard pšenice uzima se sadržaj bjelančevina u zrnu od 13,5%. Pšenični kruh bogat je vitaminima kompleksa B (B1, B2, B3), te sadrži za ljudski organizam važne elemente (kalcij, fosfor i željezo). Omjer amiloze i amilopektina igra važnu ulogu u kvaliteti pšenice, jer značajno utječe na svojstva škroba, a prema Van Hung i sur. (2006.) uobičajeno se kreće u rasponu 25-28% i 72-75%. Tvrdoća zrna je drugo važno svojstvo koje utječe na kvalitetu pšenice. Krajnja namjena i produkt ovisi o sorti pšenice i okolišu, te njihovim interakcijama. Kvaliteta pšeničnog brašna i urod zrna pod snažnom su kontrolom genetskih faktora, a uvjeti okoliša tijekom nalijevanja zrna utječu na njihovu ekspresiju.

Mutacijom gena sintaze vezane na granulu (eng. *Granule-Bound Starch Synthase*, GBSS), enzima koji je odgovoran za biosintezu amiloze, dolazi do proizvodnje škroba sa smanjenim udjelom amiloze, tj. povećanim udjelom amilopektina (tzv. djelomično voštane pšenice) ili škroba koji se sastoji samo od amilopektina (tzv. voštane pšenice) (Graybosch, 1998.).

Djelomično voštane pšenice mogu poslužiti kao izvor brašna za azijsku tjesteninu "noodles", a brašno voštanih pšenica može poslužiti u industriji ljepila i papira, te za povećanje roka trajanja pekarskih proizvoda.

S druge strane, visokoamilozni škrob izvor je rezistentnog škroba, koji ima veliki utjecaj na ljudsko zdravlje (Van Hung i sur., 2006.), jer regulira razinu kolesterola u krvi i glikemijskog indeksa, utječe na funkcioniranje probavnog sustava, pomaže u kontroli dijabetesa i dr. Sastav pšeničnog škroba treba biti jedan od glavnih ciljeva budućih oplemenjivačkih programa obzirom na koristi za ljudsko zdravlje, a intenzivno se radi i na modificiranju

škroba zbog proširenja primjene, čime se mogu dobiti i rezistentni škrobovi za primjenu u pekarskoj industriji sa svrhom poboljšanja pekarskih proizvoda (Šubarić i sur., 2012.)

### **1.1. Cilj istraživanja**

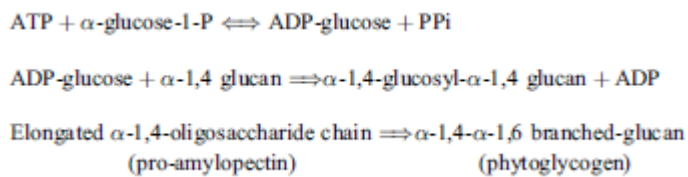
Cilj ovog istraživanja bio je ispitati varijabilnost kvalitativnih svojstava kod 24 hrvatske i šest stranih sorata ozime pšenice metodom Megazyme k-amyl 07/11 (Megazyme International Ireland, 2011.), te istražiti potencijal istih za posebne namjene.



## 2. Pregled literature

### 2.1. Škrob i ispitivanje škrobnih granula

Škrob je polisaharid opće formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Uz celulozu, najvažniji je produkt asimilacije u biljkama koji nastaje fotosintezom (u kloroplastima) tijekom osvjetljenja (Slika 1). Omjer amiloza / amilopektin igra važnu ulogu u kvaliteti pšenice, jer značajno utječe na svojstva škroba (Lee i sur., 2001.).



Slika 1. Sinteza škroba u biljkama i algama (Eliasson, 2004.)

Škrob se sastoji od dvije vrste polimera glukoze (amiloza i amilopektin) uz omjer amiloza / amilopektin u rasponu između 25-28% i 72-75%. Amiloza je linearna molekula, u kojoj su glukoze jedinice povezane  $\alpha$ -1,4 glikozidnom vezom (Van Hung i sur., 2006.). Postoje mjesta grananja, ali su vrlo rijetka, tako da amiloza zadržava svojstva ravnolančastog polimera i uvija se u strukturu dvostruke uzvojnice (BeMiller i Whistler, 1996.). Amilopektin je jako razgranata molekula u kojoj su jedinice glukoze, osim  $\alpha$ -1,4-vezama u strukturi ravnog lanca, vezane i  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama na mjestima grananja (BeMiller i Whistler, 1996., Peng i sur., 1999., Van Hung i sur., 2006.).

Amiloza i amilopektin radijalno se povezuju u škrobnu granulu čija veličina i oblik ovise o botaničkom podrijetlu škroba (Ačkar, 2010.). Poznato je da endosperm zrele pšenice sadrži dvije vrste škrobnih granula, to jest velike A i male B vrste granula. Škrobne granule tipa A imaju oblik diska ili leće s prosječnim promjerom od 10-35  $\mu\text{m}$ , a škrobne granule tipa B su manje od 10  $\mu\text{m}$  u promjeru, te su okruglog ili poligonalnog oblika. U prosjeku, škrobne granule tipa A čine do 3% od ukupnog broja granula škroba u endospermu žitarica, ali više od 70% od ukupne težine škroba endosperma, dok škrobne granule tipa B iznose više od 90% od ukupnog broja granula škroba, ali 25-30% u odnosu na ukupnu masu škroba u zreлом endospermu pšenice (Dai i sur., 2008.). Osim škroba, u škrobnoj granulici nalaze se i neškrobne komponente, od kojih su najznačajniji proteini, lipidi i fosfor (Ačkar, 2010.).

Omjer A i B granula može utjecati na svojstva pšeničnog škroba. Peterson i Fulcher (2001.) ispitivali su na tvrdim jarim pšenicama povezanost distribucije veličine škrobnih granula sa reološkim svojstvima paste i miješenja. Udio velikih granula škroba značajno je korelirao sa reološkim svojstvima paste pšeničnog brašna, dok je udio malih granula škroba (veličine ispod 10  $\mu\text{m}$  u promjeru) značajno korelirao sa svojstvima miješenja pšeničnog brašna.

Li i sur. (2008.) ispitivali su veličinu granula škroba, te odnos između distribucije granula škroba i sadržaja amiloze u zrnu mekih i tvrdih sorata pšenice uzgajanih u Kini. Dobiveni rezultati ukazivali su na vrlo značajne varijacije između tvrdih i mekih sorata pšenice, tj. pokazalo se da tvrde pšenice imaju više granula tipa B ( $<9,9 \mu\text{m}$ ) i manje granula tipa A (22,8-42,8  $\mu\text{m}$ ) u odnosu na meke pšenice.

Obzirom da na veličinu granule pšeničnog škroba utječu genetski i okolišni čimbenici, Dai i sur. (2008.) su koristili dvije sorte pšenice, Lumai 21 (sadržaj škroba 68,9%) i De 99-3 (sadržaj škroba 64,6%) za ispitivanje veličine škrobnih granula pod utjecajem navodnjavanja i prirodno dostupne vode. U usporedbi s umjetnim navodnjavanjem, tlo sa prirodno dostupnom vodom (kiša) utjecalo je na škrobne granule u zrnu obje sorte povećanjem volumena i površine granula  $< 9,8 \mu\text{m}$ , te smanjenjem navedenoga kod granula  $> 18,8 \mu\text{m}$ . Manjak vode u tlu smanjio je sadržaj amiloze i škroba u žitaricama, ali je povećao udio proteina, te maksimalnu i završnu viskoznost. Na temelju rezultata, utvrdili su da je stres uzrokovan sušom koristan za poboljšanje kvalitete zrna ozime pšenice.

Navedeni autori utvrdili su također da je udio amiloze i škroba u zrnu u negativnoj korelaciji s volumenom granula škroba  $< 9,8 \mu\text{m}$ , te da je udio proteina u zrnu u pozitivnoj korelaciji s navedenim, stoga B granule imaju nizak udio amiloze i škroba, a visok udio proteina, dok je u A granulama udio amiloze i škroba visok.

Park i sur. (2009.) ispitivali su veličine škrobnih granula tvrde crvene ozime i tvrde crvene jare pšenice, te njihove učinke na miješenje i kvalitetu kruha. Postojale su značajne razlike u distribuciji veličine između ozimih i jarim pšenica. U jarim pšenicama, B-granule zauzele su volumen od prosječnih 47,3 %, što je više u odnosu na ozime pšenice kod kojih su zauzeli prosječnih 39,9%. Udio proteina je bio obrnuto proporcionalan s promjerom i volumenom B-granula. Brojne kvalitativne osobine pšenice i brašna također su pokazale značajnu korelaciju sa distribucijom veličine škrobne granule.

Salman i sur. (2009.) su pet vrsta pšeničnog škroba (*Triticum aestivum* L.) sa sličnim udjelom amiloze, te voštane pšenice (smanjeni udio amiloze) razdvojili na velike (A) i male (B) granule. Korelacije između strukturnih i funkcionalnih parametara su bile značajnije za izdvojene A i B granule, u odnosu na nefrakcionirani škrob. Ovo ispitivanje pokazuje da se A i B granule razlikuju u strukturi i funkcionalnosti, te da neke korelacije između tih svojstava mogu biti „prikrivene“ u nefrakcioniranom škrobu s bimodalnom distribucijom veličine granula. Autori ukazuju na vrijednost proučavanja A i B granula odvojeno, kako bi se bolje razumio odnos između strukture i funkcionalnosti škroba.

## **2.2. Utjecaj amiloze, amilopektina i njihovog omjera na svojstva škroba**

Pšenični škrob posjeduje jedinstvena svojstva koja su važna za njegovu primjenu u prehrambenoj industriji. Prema Ačkar i sur. (2010.) neka od svojstava pšeničnog škroba su: želatinizacija, retrogradacija, kapacitet bubrenja, indeks topljivosti, boja škroba, bistroća škrobne paste, reološka svojstva paste, udio rezistentnog škroba, stabilnost paste tijekom ciklusa zamrzavanje – odmrzavanje, čvrstoća škrobnog gela itd.

Želatinizacija u najužem smislu je toplinski poremećaj kristalne strukture u nativnim škrobnim granulama, ali u širem smislu uključuje povezane događaje, kao što su bubrenje granula i ispiranje topivih polisaharida (Tester i Morrison, 1990.), stoga zagrijavamo li škrobnu suspenziju u vodi, doći će do želatinizacije i otapanja škrobnih granula.

Hlađenjem želatiniziranog škroba dolazi do procesa retrogradacije, u kojem se molekule rekristaliziraju (Ačkar i sur., 2010.), čime nastaje sporo ili teško probavljivi škrob. Kontinuiranim zagrijavanjem škrobne suspenzije uz miješanje dolazi do otapanja granula i porasta viskoznosti otopine pri čemu nastaje pasta, koja se prema Cui (2005.) definira kao složeni polimerni sustav u kojemu su nabubrene granule uklopljene u matriks molekula amiloze.

Nakon hlađenja paste, dolazi do dodatnog povećanja viskoznosti, pri čemu se lanci amiloze spajaju, te uz pomoć amilopektina tvore gel, pod uvjetom da je koncentracija dovoljno visoka (Eliasson, 2004.).

Tester i Morrison (1990.) su ispitivali utjecaj amilopektina, amiloze i lipida na bubrenje i želatinizaciju škrobova žitarica. Razvili su postupak za mjerenje volumena vode koju su

škrobne granule apsorbirale. Krivulje bubrenja pšeničnog škroba, normalnog i voštanog ječmenog, te kukuruznog škroba utvrđene mjerenjem faktora bubrenja na različitim temperaturama do 85°C, obilježili su u početnoj fazi lagano bubrenje, u drugoj fazi brzo bubrenje, a u završnoj fazi maksimalno bubrenje. Mnogi čimbenici mogu pridonijeti bubrenju i želatinizaciji. Tako su ova ispitivanja pokazala da je bubrenje škrobnih granula žitarica grijanih u vodi povezano s nizom događaja, posebice poremećajem kristalne strukture. Ispitivanja s voštanim i normalnim škrobom dovela su do zaključka da je amilopektin odgovoran za svojstvo bubrenja, dok je amilozno-lipidni kompleks u negativnoj korelaciji sa svojstvom bubrenja. Ispiranje polisaharida (amiloza, amilopektin ili oboje, ovisno o škrobu) sa granula uglavnom visoko korelira sa stupnjem bubrenja svakog škroba.

Škrob pšeničnog brašna (*Triticum aestivum* L.) utječe na kvalitetu prehrambenih proizvoda zbog temperaturno ovisnih interakcija škroba s vodom tijekom želatinizacije, bubrenja i stvaranja gela.

Miles i sur. (1985.) ispitivali su retrogradaciju škrobnih gelova difrakcijom X-zraka i diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom. Rezultati su pokazali da komponenta amiloze u škrobnim gelovima retrogradira brzo, a kristalizacija amiloze doseže granicu nakon dva dana. Amilopektin je bio visoko kristaliziran nakon nekoliko dana skladištenja, te su dugoročne promjene u kristalizaciji bile uglavnom povezane s frakcijama amilopektina, stoga je zaključeno da amilopektin retrogradira polako tijekom vremena.

Navedene rezultate, koji pokazuju da škrob s većim sadržajem amilopektina ima tendenciju da kristalizira više tijekom dužeg vremena skladištenja, potvrdilo je ispitivanje Sasaki i sur. (2000.) u kojemu se pokazalo da je entalpija taljenja rekristaliziranog škroba u negativnoj korelaciji sa sadržajem amiloze.

Blazek i Copeland (2008.) ispitivali su utjecaj ukupnog sadržaja amiloze, slobodne amiloze i amilozno-lipidnih kompleksa, distribuciju duljine lanaca amilopektina na bubrenje, te reološka svojstva paste pšeničnog brašna (*Triticum aestivum* L.) i škroba iz sorte pšenice s povećanim udjelom amiloze. Amilopektinski lanci sa stupnjem polimerizacije većim od 36 su povezani s povećanjem maksimalne, minimalne i završne viskoznosti škrobne paste, što može biti uzrokovano građom molekula amilopektina koje sprečavaju gomilanje tih vrlo dugih lanaca, tako da oni zadržavaju svoju sposobnost formiranja intermolekularnih veza s ostalim komponentama gela (Blazek i Copeland, 2008.). Nije utvrđena značajna korelacija između

distribucije duljine lanca amilopektina i bubrenja brašna i škroba. Ovo ispitivanje je pokazalo da je bubrenje brašna jednostavan test koji pokazuje broj industrijski relevantnih karakteristika škroba, te se može koristiti kao indikator sadržaja amiloze i reoloških svojstava škrobne paste.

Singh i sur. (2009.) ispitivali su reološka svojstva paste, te strukturna i toplinska svojstva škroba indijskih i egzotičnih vrsta pšenice. Većina škrobova pokazali su udio amiloze u rasponu od 22% i 28%. Egzotermne temperature bile su u negativnoj korelaciji sa bubrenjem. Zabilježena je povezanost jedinica amilopektinskih lanaca, s različitim stupnjem polimerizacije, (eng. *Degree of polymerization*, DP) sa temperaturom želatinizacije, te toplinskih i „setback“ parametara. Temperatura želatinizacije pokazala je pozitivnu korelaciju s kratkim lancima (DP 6-12), te negativnu korelaciju sa srednjim lancima (DP 13-24) amilopektina. U ovom ispitivanju autori su ukazali na jaku vezu između molekularnih čimbenika kao što su amilozno-lipidni kompleksi i temperatura želatinizacije. Zaključili su da amilopektin pridonosi bubrenju škrobnih zrnaca i stvaranju tijesta, dok amiloza i lipidi inhibiraju taj proces.

Blazek i sur. (2009.) ispitivali su termofizikalna svojstva pšeničnih škrobova sa sadržajem amiloze između 36% i 43%. Utvrdili su da se želatinizacija škroba pšenice odvija u rasponu 61,5 – 65,4 °C, dok je voštani škrob imao višu temperaturu želatinizacije (66,8 °C) zbog višeg stupnja kristalčnosti. Također su zaključili da sadržaj amiloze izravno utječe na organizaciju polu-kristalnih lamela u prstenovima koji izgrađuju škrobne granule, dok su toplinska svojstva pod utjecajem interakcije sadržaja amiloze i amilopektina.

### **2.3. Škrob sa smanjenim udjelom amiloze - voštani škrob**

Omjer amiloza / amilopektin se razlikuje među škrobovima, a uobičajeni nivo amiloze i amilopektina je 25-28 i 72-75%. Škrob nekih sorata pšenice sadrži ili veći udio amiloze (do 70%), te se nazivaju visokoamilozne pšenice ili veći udio amilopektina (više od 90% amilopektina), te se nazivaju voštane pšenice (Van Hung i sur., 2006.). Voštana pšenica i visokoamilozna pšenica razvijaju jedinstvena funkcionalna svojstva škroba (Van Hung i sur., 2006.). Škrob tih pšenica ima specifične strukture i jedinstvene karakteristike koje se koriste u svrhu poboljšanja kvalitete prehrambenih proizvoda.

Graybosch (1998.) navodi karakteristike i potencijalnu korist djelomično voštanih i voštanih pšenica. GBSS je enzim odgovoran za biosintezu amiloze u pšenici, kojega kodiraju tri gena (W<sub>x</sub>-A1, W<sub>x</sub>-B1, W<sub>x</sub>-D1). Pojavom mutacija, dolazi do stvaranja nultih alela<sup>1</sup>. Prisutnošću jednog ili dva GBSS nulta alela dolazi do proizvodnje škroba sa smanjenim sadržajem amiloze, tj. nastanka djelomično voštanih pšenica. Kod pšenica s mutacijama na sva tri kodirajuća gena škrob se sastoji samo od amilopektina, tj. nastaju voštane pšenice. Autor navodi da su djelomično voštane pšenice izvori brašna s optimalnom kvalitetom za azijsku tjesteninu, tj. rezance ili „noodles“, za što se voštani pšenični škrob ne može koristiti, no može imati primjenu kao supstrat za razvoj modificiranih škrobova za hranu, te u industriji ljepila i papira. Brašno voštanih pšenica se također može koristiti za povećanje roka trajanja pekarskih proizvoda, bez istodobnog razrjeđenja glutena.

Baik i sur. (2003.) koristili su djelomično voštane pšenice s 2 nulta alela za izolaciju škroba i pripremu bijelih rezanaca ("noodles"). Karakteristike škroba i teksturu rezanaca uspoređivali su s brašnom pšenice normalnog sadržaja amiloze. Djelomično voštani škrob imao je udio amiloze 15,4-18,9%, a normalni škrob 22,7-25,8%. Unatoč visokom sadržaju proteina, brašno djelomično voštanih pšenica je rezultiralo mekšim i kohezivnijim tijestom uz manje lijepljenja za razliku od brašna pšenice s normalnim sadržajem amiloze. Također, dodatak brašna djelomično voštane pšenice rezultirao je poboljšanjem tijesta.

Yoo i Jane (2002.) ispitivali su strukturu i svojstva škrobova izoliranih iz voštane pšenice, pšenice sa smanjenim udjelom amiloze i normalne ozime pšenice (sorta Centura i komercijalni škrob). Udio amiloze u navedenim bio je < 0.2, 21.5, 26.2 i 26.6 %. Molekulska masa amilopektina je pokazivala negativnu korelaciju sa sadržajem amiloze u škrobu, a udio dugih bočnih ogranaka amilopektina pokazivao je pozitivnu korelaciju sa sadržajem amiloze. Rezultati su također pokazali da je struktura amilopektina voštane pšenice kompaktnija od strukture amilopektina ostalih pšenica. Razlike u temperaturi želatinizacije i maksimalnoj viskoznosti između normalnog i voštanog pšeničnog škroba bile su znatno veće od razlika između odgovarajućih kukuruznih škrobova. Odsustvo amiloze u voštanom pšeničnom škrobu nije utjecalo na kristalni polimorfizam, veličinu granula, morfologiju i temperaturu želatinizacije, ali je povećalo stupanj kristalčnosti. Amilopektin voštane pšenice imao je

---

<sup>1</sup> Nuti alel je mutirana kopija gena kojoj u potpunosti nedostaje normalna funkcija tog gena ([http://www.nfstc.org/pdi/Subject06/pdi\\_s06\\_m02\\_10\\_b.htm](http://www.nfstc.org/pdi/Subject06/pdi_s06_m02_10_b.htm))

značajno veću molekulsku masu i veću molekulsku gustoću od amilopektina drugih pšeničnih škrobova, a prisustvo dugih bočnih ogranaka nije utvrđeno.

Van Hung i sur. (2006.) su ispitivali utjecaj omjera amiloza / amilopektin na kvalitetu proizvoda. Nije utvrđena značajna razlika u duljini lanaca i stupnju polimerizacije amilopektina, što ukazuje da voštani karakter ima mali utjecaj na duljinu lanaca molekule amilopektina. Difrakcija X-zraka pokazala je da voštani škrob sadrži A-tip granula i ima viši stupanj kristalčnosti zbog višeg udjela amilopektina, zbog čega zahtijeva veću energiju, tj. temperaturu za želatinizaciju u odnosu na nevoštani i visokoamilozni škrob. Voštani škrob pokazivao je brzu želatinizaciju, visoku viskoznost, te visoku otpornost na retrogradaciju tijekom skladištenja. Toplinska svojstva voštane i visokoamilozne pšenice određena pomoću diferencijalne motridbene kalorimetrije (DSC) također su se značajno razlikovala i specifična su za svaku sortu.

Labuschagne i sur. (2007.) ispitivali su utjecaj okoline na sadržaj škroba, omjera amiloza / amilopektin i kvalitetu pečenja kruha. Ispitivali su 10 jarih pšenica na 3 različita okruženja. Sadržaj škroba značajno je bio pod utjecajem okoliša, te je bio u negativnoj korelaciji s volumenom kruha, sadržajem vlažnog glutena i sadržajem proteina u brašnu. Omjer amiloza / amilopektin bio je konstantan za sva 3 okruženja, ali nije bio značajno povezan s kvalitetom brašna i kruha, iako je bilo značajne korelacije na pojedinim sredinama. Autori su zaključili da izbor sorte i područje uzgoja utječe na sadržaj škroba, te da visoki sadržaj škroba kod sorata ne mora nužno rezultirati lošom kvalitetom brašna i kruha.

Corcuera i sur. (2007.) ispitivali su sastav škroba pet argentinskih komercijalnih sorti. Količina škroba kretala se između 58% i 59,9%, te nije bilo utvrđene statistički značajne razlike između godina za svaku sortu niti između sorata, dok se sadržaj amiloze i amilopektina razlikovao. Zaključili su da se sadržaj škroba ne može modificirati okolišnim činiteljima.

Purna i Kumar (2010.) ispitivali su čimbenike koji djeluju na reološka svojstva paste kod brašna voštane pšenice. Brašno voštane pšenice imalo je značajno veću aktivnost  $\alpha$ -amilaze u odnosu na normalno i djelomično voštano pšenično brašno. Matriks proteina i osjetljivost na  $\alpha$ -amilazu su faktori koji doprinose širokom rasponu reoloških svojstava paste brašna voštane pšenice. Izolirani voštani pšenični škrobovi koji više ne sadrže  $\alpha$ -amilaze su imali vrlo slična

reološka svojstva paste. Granule škroba voštane pšenice su imale veći stupanj bubrenja u odnosu na granule normalnog pšeničnog škroba, stoga je i brašno voštanih pšenica imalo veću apsorpciju vode, a također i kraće vrijeme miješenja od normalnog pšeničnog brašna.

#### **2.4. Rezistentni škrob**

Razgradnja probavljivog škroba se odvija u tankom crijevu, dok se veliki dio škroba ne probavlja niti nakon 120 min, već nerazgrađen odlazi u debelo crijevo gdje dolazi do fermentacije i nastanka kratkolančanih masnih kiselina, među kojima je i maslačna kiselina koja je najvažniji izvor energije za stanice (Fuentes-Zaragoza i sur., 2010.). Škrob se prema probavljivosti dijeli na brzo, lako probavljivi, te rezistentni škrob (eng. *Resistant starch*, RS) (Sajilata i sur., 2006.). Brojna ispitivanja su pokazala da rezistentni škrob ima svojstva vlakana. RS je razmatran i kao novi sastojak za stvaranje hrane bogate vlaknima, no problem je što nema sva svojstva topivih i netopivih vlakana zajedno (Sharma i sur., 2008.). Rezistentni škrob je prema otpornosti na probavu u tankom crijevu i prehrambenim izvorima razvrstan u četiri podtipa: RS1-RS4 (Fuentes-Zaragoza i sur., 2010.).

Eerlingen i Delcour (1995.) ispitivali su svojstva rezistentnog škroba tip III. Tijekom retrogradacije, dio škroba koji postaje otporan na amilolitičke enzime je rezistentni škrob tip III, koji je toplinski vrlo stabilan. Različiti čimbenici utječu na formiranje njegove strukture. Autori navode da osim vrste škroba, koji definira odnos amiloza / amilopektin, dužina polimernog lanca i sadržaj lipida, te prisutnost drugih komponenti, imaju utjecaj na količinu i kvalitetu nastalog RS.

Sajilata i sur. (2006.) navode da rezistentni škrob pozitivno utječe na crijevnu mikrofloru, na funkcioniranje probavnog sustava kao prebiotik, regulira razinu kolesterola u krvi i glikemijskog indeksa, pomaže u kontroli dijabetesa, te sadrži još mnogo beneficija, zbog čega se intenzivno istražuje u posljednje vrijeme, kako zbog značajnog utjecaja na ljudsko zdravlje, tako i zbog djelovanja na svojstva proizvoda u koje se dodaje.

Prema Van Hung i sur. (2006.), visokoamilozni škrob je izvor rezistentnog škroba, koji ima veliki utjecaj na ljudsko zdravlje.

Van Hung i sur. (2008.) su izolirali pšenični škrob iz različitih visokoamiloznih sorti pšenice zbog ispitivanja njihovih fizikalno-kemijskih svojstava i strukture škroba. Visokoamilozni



pšenični škrob imao je manju maksimalnu i konačnu viskoznost, te višu temperaturu želatinizacije od normalnog pšeničnog škroba.

Prema Šubarić i sur. (2012.), 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.

Wronkowska i Soral-Šmietana (2012.) su ispitivale sposobnost korištenja rezistentnog škroba iz nativnog škroba pšenice za rast odabranih sojeva *Bifidobacterium*, te potencijalni utjecaj želatinizacije na stupanj iskorištenosti rezistentnog škroba. Nativni škrobovi i njihovi pripravci imali su različit sadržaj frakcije RS, koji je metaboliziran tijekom *in vitro* fermentacije za rast *Bifidobacteriuma*. Frakcija RS iz nativnog škroba pokazala se kao bolji supstrat za odabrane bakterije i njihova je iskorištenost bila veća (19-34%) u usporedbi s modificiranim škrobnim pripravcima (0-13%). Postupak želatinizacije nativnih škrobova i njihovih pripravaka imao je zanemariv učinak na metabolizam rezistentnog škroba kod odabranih *Bifidobacteriuma*.

Rezistentni škrobovi dobiveni modifikacijom (tip IV) primjenjuju se prije svega u pekarskoj industriji za dobivanje kruha i ostalih pekarskih proizvoda kako bi im se povećao udio vlakana i smanjila energetska vrijednost (Šubarić i sur., 2012.). „Obična“ vlakna vežu velike količine vode, no rezistentni škrob ima mali kapacitet zadržavanja vode što poboljšava teksturu i kvalitetu krajnjeg proizvoda (Sajilata i sur., 2006.). Prema Šubarić i sur. (2012.), RS se osim u pekarskoj industriji, može koristiti i u proizvodnji majoneze, margarina, kolača, keksa, tjestenine, termoreverzibilnih gelova, gelova visoke čvrstoće, kao sredstvo za zgušnjavanje i želiranje itd. RS je privukao mnogo pažnje zbog svojih potencijalnih zdravstvenih beneficija i funkcionalnih svojstava.

## **2.5. Modificirani škrob**

Kod primjene nativnih škrobova postoje određena ograničenja, zbog čega je njihova primjena u različitim granama industrije relativno niska (Abbas i sur., 2010.). U svrhu poboljšanja funkcionalnih svojstava primjenjuju se različiti fizikalni, kemijski, enzimski postupci i njihova kombinacija, te se proizvode modificirani škrobovi funkcionalnih svojstava različitih od nativnog škroba (Šubarić i sur., 2012.), s tim da im se molekularna struktura uglavnom ne

mijenja. Prema Gunaratne i Corke (2007.); Van Hung i Morita (2005.), primjenom različitih postupaka, kod škroba se modificira temperatura želatinizacije, viskoznost, otpornost na procese zamrzavanje / odmrzavanje, otpornost na nizak pH, povećanje stabilnosti i dr. Osim postizanja željenih svojstava škroba za prehrambenu industriju, modifikacijama se omogućuje i primjena škroba u neprehrambenoj industriji, npr. u farmaceutskoj industriji kao nosača različitih aktivnih tvari, u papirnoj industriji, u proizvodnji biorazgradive ambalaže i dr. (Fang i Fowler, 2003., Šubarić i sur., 2012.).

## **2.6. Determinacija amiloze i amilopektina**

Amiloza i amilopektin iz različitih škrobova se razlikuju u svojim molekularnim strukturama, a razne kromatografske tehnike su korištene kako bi se te razlike utvrdile i iskoristile u odabiru najboljeg škroba za hranu.

Williams i sur. (1970.) su ispitivali sadržaj amiloze u škrobu i brašnu koristeći precizan, brz i jednostavan kolorimetrijski test, čiji je princip u razvijanju plave boje dodatkom reagensa joda u otopinu amiloze pod standardnim uvjetima, te su razmotrili mogućnost primjene testa na neke od problema vezanih uz kvalitetu pečenja i kuhanja proizvoda od brašna.

Gérard i sur. (2001.) ispitivali su sadržaj amiloze u škrobovima različitog podrijetla koristeći nekoliko metoda, među kojima je jedino kromatografija gel-filtracijom (eng. *Size-exclusion chromatography*, SEC) dala točne rezultate, jer su ostale testirane metode pokazale prividno veći sadržaj amiloze.

Majzoobi i sur. (2002.) ispitivali su postupak razdvajanja amiloze i amilopektina metodom zonalnog ultracentrifugiranja na osnovi njihovih razlika u veličini i razini sedimentacije, što se postiže kada se primjenjuje u prethodno formiranom gradijentu gustoće saharoze u zonalnom ultracentrifugiranju. Navode da se ovom metodom razdvajanje komponenti škroba ostvaruje s visokim stupnjem uspjeha.

Zhu i sur. (2008.) ispitivali su različite metode determinacije amiloze. Sadržaj amiloze iz čistog škroba, tortilja, te iz smjese škrobova različitih izvora s različitim udjelima amiloze su mjerili pomoću diferencijalne motridbene kalorimetrije (eng. *Differential scanning calorimetry*, DSC), tehnike visokodjelotvorne kromatografije gel-filtracijom (eng. *High-performance size-exclusion chromatography*, HPSEC), postupka vezivanja joda i Megazyme

amiloza / amilopektin kita. U postupku vezivanja joda, za ispitivanje apsorpcije svjetlosti kompleksa amiloza - jod obično se koristila valna duljina od 620 nm, no autori su za ispitivanje dodali još jednu valnu duljinu od 510 nm, čime su dobili modificirani postupak vezivanja joda s dvije valne duljine, što je značajno povećalo točnost i preciznost metode.

### 3. Materijal i metode

#### 3.1. Biljni materijal

U istraživanje je uključeno 30 sorata heksaploidne krušne pšenice (*Triticum aestivum* L. ssp. *vulgare*). Odabir sorata napravljen je na temelju godine priznavanja, zastupljenosti u proizvodnji i području uzgoja (Tablica 1).

Tablica 1. Podrijetlo, godina priznavanja i pedigre sorata ozime pšenice

	<b>Sorta</b>	<b>Godina</b>	<b>Podrijetlo</b>	<b>Pedigre</b>
1.	Sirban prolifik	1905.	Bohutinsky	-
2.	San Pastore	1940.	Italija	Balilla/Villa-Glori
3.	Glenlea	1972.	Kanada	UM-530/(MEX)CB-100
4.	Patria	1994.	Bc Institut	Odesskaya 51/ZG IPK 82-10//GK 32-82
5.	OS-Elvira	2005.	PIO	Srpanjka/Kata// Super Žitarka
6.	Marta	-	PIO	Aljmašanka/Srpanjka
7.	Hana	2000.	PIO	GO3135/Žitarka
8.	Jasna	-	PIO	Ana/K.148/46
9.	Tonka	2004.	PIO	Osk. 8.37-10-91/Srpanjka
10.	Ema	2001.	PIO	Srpanjka/Kutjevčanka
11.	Tena	1973.	PIO	Libellula/Bezostaja
12.	Marija	1995.	Bc Institut	Venera/NSJP-49
13.	Snaša	1993.	PIO	Skopljanka/Slavonija
14.	OS-Sofija	1998.	PIO	BH-87-83/OSK-3.68-2
15.	Kata	1997.	PIO	OSK-7.5-3-82/Žitarka
16.	Renan	1991.	Francuska	Mironovs.808/M.Hunstm./3/VPM/Mo isson 1.5//Courtot
17.	Nova Žitarka	2010.	PIO	FS-800/89/Žitarka
18.	Sw Maxi	2002.	Njemačka	Milan/2/Alidos
19.	Una	2009.	Agrigenetics d.o.o.	Gabi/AG 8.9/9-95
20.	Dea	2005.	Agrigenetics d.o.o.	Srpanjka/Brutus
21.	Mia	2008.	Agrigenetics d.o.o.	Helia/Srpanjka
22.	Fiesta	1998.	Agrigenetics d.o.o.	By 87-83/Osk.3.68/2-85
23.	Matea	2005.	Agrigenetics d.o.o.	Soissons/Perla
24.	Koleda	1998.	Jošt	NE-7060-76-Y-335/VG-19
25.	Cerera	1993.	Jošt	NE-7060-76-Y-342/VG-19
26.	Prima	2001.	Bc Institut	Sana/Gala

27.	Mihelca	1996.	Bc Institut	ZG 1325/78/SO-1065
28.	Bambi	2004.	Srbija	<i>Tr. aestivum ssp. compactum/S.</i> Banatka
29.	Simonida	2003.	Srbija	NS 63-27/NS-3142//Novosadska Rana 5
30.	Ana	1988.	PIO	Osk-4.216-2-76/Zg-2877-74

Od 30 sorata pšenice, 24 je kreirano u Hrvatskoj, od kojih 12 pripadaju Poljoprivrednom institutu iz Osijeka (PIO), četiri sorte Bc institutu, pet sorata oplemenjivačkoj kući Agrigenetics d.o.o, Osijek, dvije sorte pripadaju oplemenjivačkoj kući Jošt sjeme-istraživanja d.o.o., Križevci, a autor jedne sorte je Gustav Bohutinsky, hrvatski agronom.

Od stranih sorata po jedna je iz Italije, Kanade, Francuske i Njemačke, te dvije sorte iz Srbije.

### 3.2. Metode rada

Udio amiloze i amilopektina utvrđen je metodom Megazyme k-amyl 07/11 (Megazyme International Ireland, 2011.) pomoću istoimenog seta. Ispitivanje škroba provedeno je u laboratoriju Katedre za tehnologiju ugljikohidrata Prehrambeno-tehnološkog fakulteta u Osijeku.

#### 3.2.1. Obrada škroba

Uzorci 30 sorata pšenice samljeveni su u laboratorijskom mlinu, izvagani u dvije epruvete od 10 ml, za dva ponavljanja. Nakon toga dodano je 1 ml DMSO (dimetil sulfoksid). Epruvete su zatim grijane 15 minuta u vrućoj kupelji, dok su istovremeno miješane na vrtložnoj miješalici (vorteksu), kako se uzorak ne bi želatinizirao. Navedeni postupak obavljan je dok se uzorak nije u potpunosti rastopio. Nakon toga je slijedila inkubacija na sobnoj temperaturi 5 minuta, nakon čega je u epruvete dodano 2 ml 96 %-tnog etanola uz miješanje na vorteksu, gdje se škrob već počeo odvajati (Slika 2).



Slika 2. Odvajanje škroba odmah po dodatku etanola (foto original; N. Weg)

Zatim je dodano još 4 ml 96 %-tnog etanola, što je uz lagano i pažljivo ručno miješanje rezultiralo pojavom taloga škroba. Nakon toga epruvete su stajale na sobnoj temperaturi 15 minuta. Epruvete su centrifugirane (2.000 g, 5 minuta), supernatant je oddekantiran, a epruvete su ocijeđene na filter papiru u trajanju od 10 minuta, dok se sav etanol nije osušio (Slika 3).



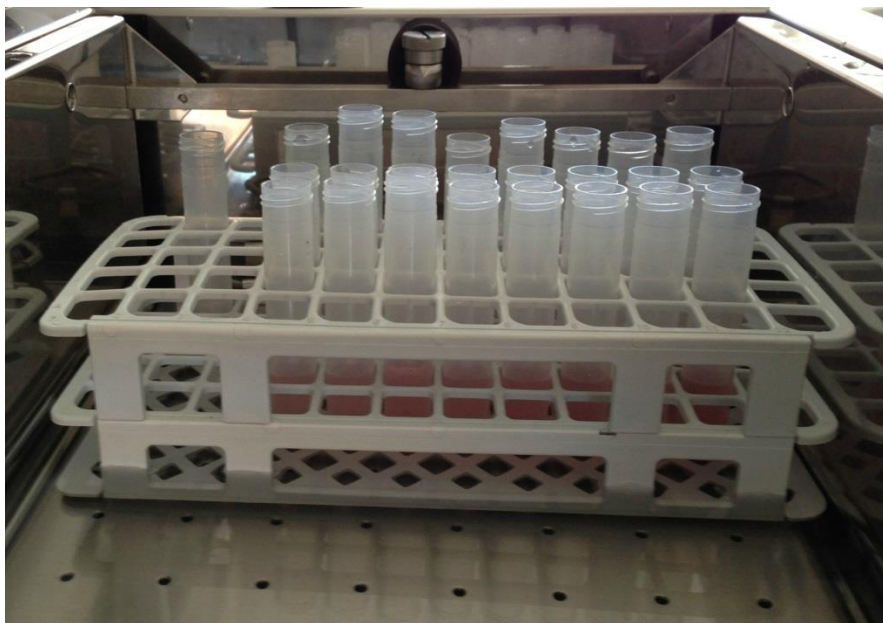
Slika 3. Talog škroba i cijedenje etanola (foto original; N. Weg)

Talogu škroba dodano je 2 ml DMSO, nakon čega su epruvete stavljene u vruću kupelj na 15 minuta uz povremeno miješanje na vorteksu. Nakon što su epruvete maknute sa kupelji, dodano je 4 ml Con A otapala (konkanavalin A otopljen u natrij-acetatnom puferu), čijim se

mlazom otopina još malo promiješala. Nakon miješanja sadržaj epruvete je profiltriran, prebačen u odmjerne tikvice od 25 ml, te nadopunjen istim otapalom (otopina A).

### 3.2.2. Taloženje amilopektina pomoću Con A i određivanje amiloze

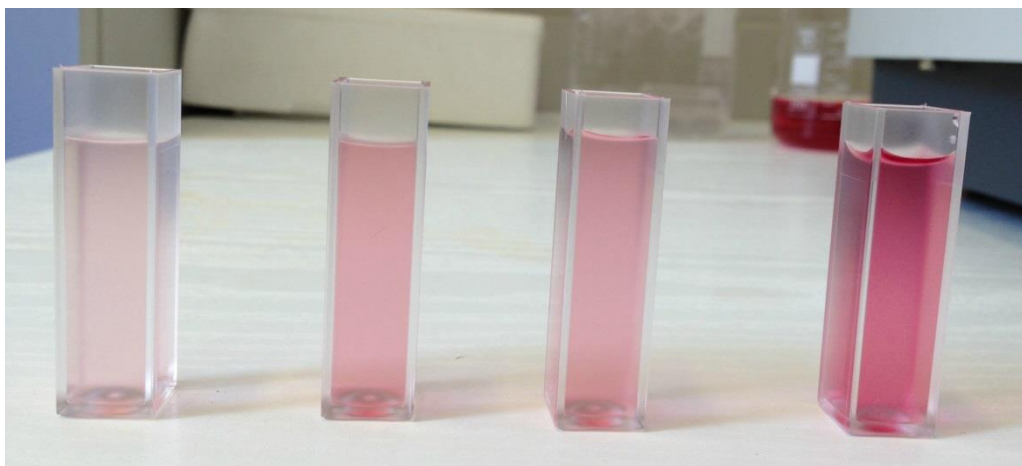
U Eppendorf tubice volumena 2 ml dodan je 1 ml filtrirane otopine iz odmernih tikvica i 0,50 ml Con A otopine uz miješanje. Tubice su inkubirane sat vremena od miješanja prvog uzorka na sobnoj temperaturi. Slijedilo je centrifugiranje na 14.000 g u trajanju od 10 minuta na temperaturi od 20°C. 1 ml supernatanta prenesen je u kivete volumena 15 ml i dodano je 3 ml 100 mM natrij-acetat pufera (pH 4,5) uz miješanje. Slijedilo je zagrijavanje u vodenoj kupelji 5 minuta kako bi se denaturirao Con A. Zatim je dodano 0,1 ml enzimske smjese amiloglukozidaza /  $\alpha$ -amilaza, nakon čega su kivete inkubirane 30 minuta na 40°C, te je uslijedilo centrifugiranje na 2.000 g u trajanju od pet minuta. Nakon toga je alikvotima od 1 ml dodano 4 ml GOPOD reagensa (smjesa glukoza oksidaze, peroksidaze i 4-aminoantipirina otopljene u puferu (smjesa 1 M kalij-fosfatnog pufera (pH 7.4),  $\rho$ -hidroksibenzojevoj kiselini i natrijeva azida), te je uslijedila inkubacija 20 min na 40°C (Slika 4).



Slika 4. Inkubacija sa GOPOD-om (foto original; N. Weg)

Paralelno je također na inkubaciju od 20 min na 40°C stavljena slijepa proba (smjesa 0,1 natrij-acetat pufera i GOPOD reagensa) i kontrolni uzorak glukoze (0,1 ml standardne glukoze otopine (1mg/ml), 0,9 natrij-acetat pufera i GOPOD reagensa). Nakon inkubacije, na spektrofotometru Camspec M501 (jednozračni UV / VIS spektrofotometar) očitana je

apsorbancija, na 510 nm svakog uzorka u odnosu na slijepu probu (Slika 5 i 6). Udio amiloze u uzorku škroba određuje se kao omjer GOPOD apsorbance na 510 nm supernatanta uzorka precipitiranog sa Con A i ukupnog škroba.



Slika 5. Uzorak s GOPOD-om u kivetama pripremljen za mjerenje apsorbancije (foto original; N. Weg)



Slika 6. Uzorci u spektrofotometru Camspec M501 (jednozračni UV / VIS spektrofotometar) (foto original; N. Weg)

Za izračunavanje sadržaja amiloze korištena je sljedeća formula:

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



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

### **3.2.3. Određivanje ukupnog škroba**

U ranije spomenutom koraku, nakon što su epruvete maknute sa kupelji, dodano je 4 ml Con A otapala. Nakon miješanja sadržaj epruvete je profiltriran, prebačen u odmjerne tikvice od 25 ml, te nadopunjen istim otapalom (otopina A). Nakon toga se za mjerenje ukupnog škroba pomiješalo 0,5 ml navedene otopine sa 4 ml 100 mM natrij-acetat pufera (pH 4,5). Zatim je dodano 0,1 ml enzimske smjese amiloglukozidaza /  $\alpha$ -amilaze, nakon čega su kivete inkubirane 10 min na 40°C, bez centrifugiranja. Nakon toga su alikvoti od 1 ml prebačeni u staklene kivete (svaki uzorak u dvije kivete zbog ponavljanja) uz dodatak 4 ml GOPOD reagensa, nakon čega su se uzorci dobro promiješali, te inkubirali 20 min na 40°C. Dodavanje GOPOD reagensa i inkubacija se treba napraviti istovremeno za sve uzorke iz ranije navedenih koraka zajedno sa uzorcima za mjerenje ukupnog škroba.

Statistička obrada podataka dobivenih vrijednosti sastava škroba sistematizirane su prema količini amiloze i amilopektina, a njihove postotne vrijednosti su transformirane u omjer (Am / Amp). Dobiveni omjeri su dalje analizirani analizom varijance (ANOVA) te međusobno uspoređeni Fisher-ovim LSD testom koristeći SAS/STAT® software, a grupiranje sorata prema omjeru Am / Amp obavljeno je u SPSS ver. 22.0.

## 4. Rezultati

Analizom varijance utvrđene su statistički visoko značajne razlike ( $p < 0,01$ ) između svih ispitivanih sorata pšenice u količini amiloze i amilopektina u zrnu (Tablica 2).

Tablica 2. Analiza varijance omjera amiloze i amilopektina u zrnu pšenice ispitivanih sorata

Izvor variranja	Stupnjevi slobode	Suma kvadrata	F vrijednost	Pr>F
Genotip	29	0,418	34,17	**

\*\*=statistički značajno na razini  $P < 0,01$ ; \*=statistički značajno na razini  $P < 0,05$ ; n.s.=nije statistički značajno

Najmanji omjer amiloze i amilopektina (Am / Amp) utvrđen je u sorti Ana (0,18), a najveći omjer Am / Amp utvrđen je u sorti Hana (0,46) (Tablica 3). Prosječna vrijednost količine amiloze za sve sorte iznosila je 25,48%, dok je za amilopektin iznosila 73,81%. Koeficijent varijacije omjera Am / Amp iznosio je 5,98.

Statistički visoko opravdano najveći omjer, odnosno najveći sadržaj amiloze i najmanji sadržaj amilopektina u odnosu na sve ispitivane sorte, utvrđen je u sorte Hana (Tablica 4). Zatim slijede sorte Tena, Cerera i Kata. Statistički opravdane razlike nije bilo između sorata Renan, Bambi i Dea, te između sorata Marta, Matea i San Pastore. Sorta Ana imala je statistički visoko opravdano najmanji omjer, odnosno najmanji sadržaj amiloze i najveći sadržaj amilopektina u odnosu na 29 ispitivanih sorata. U većini sorata (27) utvrđen je manji sadržaj amiloze koji se kretao u rasponu od 20% do 30%.

Na dendrogramu (Grafikon 1) sorte se mogu razdvojiti na tri skupine. Prvu skupinu čini ukupno devet sorata, među kojima su Patria, Snaša, Jasna, Marija, Os Sofija, Cerera, Tena, Kata i sorta Hana koja se izdvaja pojedinačno. Drugu skupinu čini 17 sorata, a treću skupinu čine četiri sorte od kojih Mia i San Pastore tvore jednu, a Ana i Sw Maxi drugu podskupinu.

Tablica 3. Količina, omjer i standardna devijacija omjera amiloze i amilopektina u zrnu pšenice ispitivanih sorata

<b>Red. Br.</b>	<b>Sorta</b>	<b>%amiloze</b>	<b>%amilopektina</b>	<b>Omjer Am/Amp</b>	<b>Std. Dev. omjera Am/Amp</b>
1.	Sirban Prolifik	25,17	74,83	0,34	0,011
2.	San Pastore	21,71	78,29	0,28	0,020
3.	Glenlea	26,15	73,85	0,35	0,023
4.	Patria	28,18	71,82	0,39	0,023
5.	OS-Elvira	26,35	73,9	0,36	0,034
6.	Marta	23,30	76,71	0,30	0,010
7.	Hana	31,32	68,69	0,46	0,034
8.	Jasna	28,44	71,56	0,40	0,010
9.	Tonka	27,02	72,98	0,37	0,004
10.	Ema	24,94	75,06	0,33	0,010
11.	Tena	29,33	70,67	0,42	0,002
12.	Marija	28,47	71,53	0,40	0,017
13.	Snaša	28,16	71,85	0,39	0,030
14.	OS-Sofija	27,78	72,22	0,38	0,014
15.	Kata	29,18	70,82	0,41	0,010
16.	Renan	24,69	75,31	0,33	0,030
17.	Nova Žitarka	25,70	74,3	0,35	0,030
18.	Sw Maxi	17,62	82,38	0,21	0,015
19.	Una	23,97	76,03	0,32	0,013
20.	Dea	24,34	75,66	0,32	0,024
21.	Mia	20,09	79,91	0,25	0,010
22.	Fiesta	24,82	75,18	0,33	0,020
23.	Matea	23,06	76,94	0,30	0,009
24.	Koleda	26,39	73,61	0,36	0,039
25.	Cerera	29,28	70,72	0,41	0,031
26.	Prima	26,80	73,21	0,37	0,022
27.	Mihelca	25,05	74,95	0,33	0,003
28.	Bambi	24,56	75,44	0,33	0,020
29.	Simonida	25,86	74,14	0,35	0,028
30.	Ana	15,10	84,9	0,18	0,004
			<b>CV%</b>	<b>5,98</b>	
			<b>F vrijednost</b>	<b>34,17</b>	
			<b>LSD_0,05</b>	<b>0,0289</b>	
			<b>LSD_0,01</b>	<b>0,0382</b>	

Tablica 4. Rezultati LSD testa za omjer amiloze i amilopektina kod ispitivanih sorata ozime pšenice

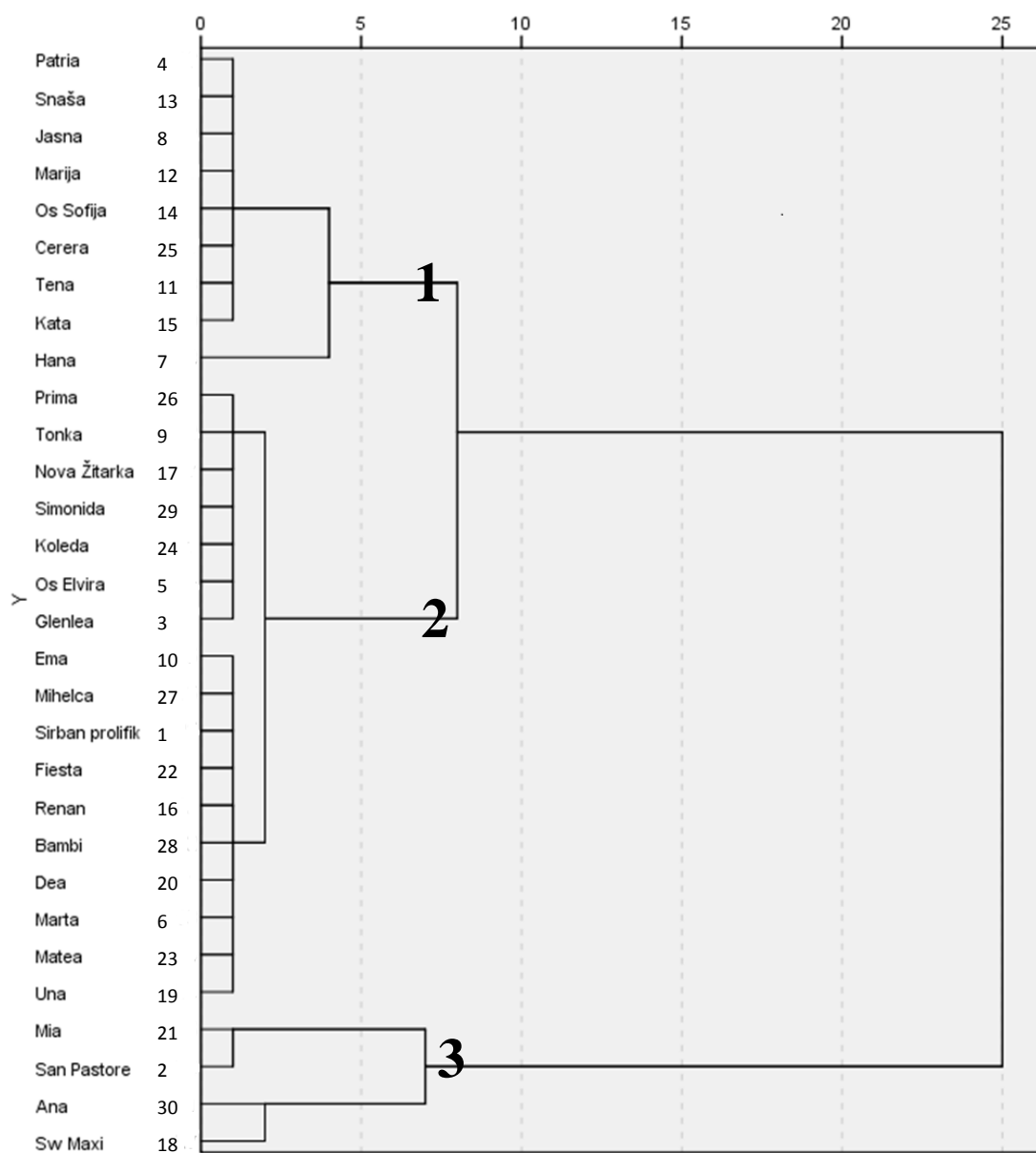
	0.457	0.415	0.414	0.412	0.398	0.398	0.393	0.392	0.385	0.37	0.366	0.359	0.357	0.354	0.349	0.346	0.336	0.334	0.332	0.326	0.322	0.315	0.304	0.3	0.278	0.251	0.214	0.178					
	7	11	25	15	8	12	4	13	14	9	26	24	5	3	29	17	1	27	10	22	16	28	20	19	6	23	2	21	18	30			
0.178	0.279	0.237	0.236	0.224	0.22	0.22	0.215	0.214	0.207	0.192	0.188	0.181	0.179	0.176	0.171	0.168	0.158	0.156	0.154	0.152	0.15	0.148	0.144	0.137	0.126	0.122	0.1	0.073	0.066	0			
0.214	0.243	0.201	0.2	0.198	0.184	0.184	0.179	0.178	0.171	0.156	0.152	0.145	0.143	0.14	0.135	0.132	0.122	0.12	0.118	0.116	0.114	0.112	0.108	0.101	0.09	0.086	0.064	0.037	0	0			
0.251	0.206	0.164	0.163	0.161	0.147	0.147	0.142	0.141	0.134	0.119	0.115	0.108	0.106	0.103	0.098	0.095	0.085	0.083	0.081	0.079	0.077	0.075	0.071	0.064	0.053	0.049	0.027	0	0	0			
0.278	0.179	0.137	0.136	0.134	0.12	0.12	0.115	0.114	0.107	0.092	0.088	0.081	0.079	0.076	0.071	0.068	0.058	0.056	0.054	0.052	0.05	0.048	0.044	0.037	0.026	0.022	0	0	0	0	0		
0.3	0.157	0.115	0.114	0.112	0.098	0.098	0.093	0.092	0.085	0.07	0.066	0.059	0.057	0.054	0.049	0.046	0.036	0.034	0.032	0.03	0.028	0.026	0.022	0.015	0.004	0	0	0	0	0	0		
0.304	0.153	0.111	0.11	0.108	0.094	0.094	0.089	0.088	0.081	0.066	0.062	0.055	0.053	0.05	0.045	0.042	0.032	0.03	0.028	0.026	0.024	0.022	0.018	0.011	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.315	0.142	0.1	0.099	0.097	0.083	0.083	0.078	0.077	0.07	0.055	0.051	0.044	0.042	0.039	0.034	0.031	0.021	0.019	0.017	0.015	0.013	0.011	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.322	0.135	0.093	0.092	0.09	0.076	0.076	0.071	0.07	0.063	0.048	0.044	0.037	0.035	0.032	0.027	0.024	0.014	0.012	0.01	0.008	0.006	0.004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.326	0.131	0.089	0.088	0.086	0.072	0.072	0.067	0.066	0.059	0.044	0.04	0.033	0.031	0.028	0.023	0.02	0.01	0.008	0.006	0.004	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.328	0.129	0.087	0.086	0.084	0.07	0.07	0.065	0.064	0.057	0.042	0.038	0.031	0.029	0.026	0.021	0.018	0.008	0.006	0.004	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.33	0.127	0.085	0.084	0.082	0.068	0.068	0.063	0.062	0.055	0.04	0.036	0.029	0.027	0.024	0.019	0.016	0.006	0.004	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.332	0.125	0.083	0.082	0.08	0.066	0.066	0.061	0.06	0.053	0.038	0.034	0.027	0.025	0.022	0.017	0.014	0.004	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.334	0.123	0.081	0.08	0.078	0.064	0.064	0.059	0.058	0.051	0.036	0.032	0.025	0.023	0.02	0.015	0.012	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.336	0.121	0.079	0.078	0.076	0.062	0.062	0.057	0.056	0.049	0.034	0.03	0.023	0.021	0.018	0.013	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.346	0.111	0.069	0.068	0.066	0.052	0.052	0.047	0.046	0.039	0.024	0.02	0.013	0.011	0.008	0.003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.349	0.108	0.066	0.065	0.063	0.049	0.049	0.044	0.043	0.036	0.021	0.017	0.01	0.008	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.354	0.103	0.061	0.06	0.058	0.044	0.044	0.039	0.038	0.031	0.016	0.012	0.005	0.003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.357	0.1	0.058	0.057	0.055	0.041	0.041	0.036	0.035	0.028	0.013	0.009	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.359	0.098	0.056	0.055	0.053	0.039	0.039	0.034	0.033	0.026	0.011	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.366	0.091	0.049	0.048	0.046	0.032	0.032	0.027	0.026	0.019	0.004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.37	0.087	0.045	0.044	0.042	0.028	0.028	0.023	0.022	0.015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.385	0.14	0.072	0.03	0.029	0.027	0.027	0.013	0.008	0.007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.392	0.13	0.065	0.023	0.022	0.02	0.02	0.006	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.393	0.4	0.064	0.022	0.021	0.019	0.019	0.005	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0.398	0.12	0.059	0.017	0.016	0.014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.398	0.8	0.059	0.017	0.016	0.014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.412	0.15	0.045	0.003	0.002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.414	0.25	0.043	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.415	0.11	0.042	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.457	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

F test: 34,17  
LSD<sub>0,05</sub>= 0,0289  
LSD<sub>0,01</sub>= 0,0382

Legendat:

- 1 Sirban Prolifik
- 2 San Pastore
- 3 Glenlea
- 4 Patria
- 5 OS Elvira
- 6 Maura
- 7 Hana
- 8 Jasna
- 9 Tonka
- 10 Ema
- 11 Tena
- 12 Marija
- 13 Snaša
- 14 OS Sofija
- 15 Kata
- 16 Renan
- 17 Nova Žitarka
- 18 Sw Maxi
- 19 Una
- 20 Dea
- 21 Mia
- 22 Fiesta
- 23 Matea
- 24 Koleda
- 25 Cerera
- 26 Prima
- 27 Mhelca
- 28 Bambi
- 29 Simonda
- 30 Ana

visoko opravdane razlike p<0,01  
opravdane razlike p<0,05



Grafikon 1. Dendrogram na temelju srednjih vrijednosti omjera amiloze i amilopektina

## 5. Rasprava

U posljednje se vrijeme više pažnje pridaje sadržaju škroba i njegovim svojstvima koja imaju ključnu ulogu u determinaciji kvalitete pšenice. Škrob je glavni skladišni polisaharid biljnog podrijetla, najzastupljeniji ugljikohidrat u žitarica, te ima važnu ulogu u prehrambenoj industriji. Osim kao sastojak namirnica u kojima je prirodno prisutan, škrob se danas koristi kao dodatak brojnim proizvodima i kao samostalna sirovina u raznim granama industrije. Cilj ovoga rada bio je ispitati sastav škroba u 30 sorata ozime pšenice te potencijalnu uporabu istih u posebne svrhe.

Analizom varijance utvrđeno je postojanje visoko statistički značajne razlike u količini amiloze i amilopektina između ispitivanih sorata pšenice. Gotovo sve sorte pripadaju u skupinu klasičnih krušnih pšenica s uobičajenim omjerom amiloze između 20 i 30% odnosno prema Van Hung i sur. (2006.) uobičajeni nivo amiloze i amilopektina je 25-28 i 72-75%.

U sadržaju amilopektina izdvaja se sorta Ana. Dobivena je iz kombinacije križanja Osk.4.216/2-76 x Zg 2877-74 iz koje je prema Drezner i Novoselović (1999.) dobiveno osam sorti. Pra-roditeljsku osnovu OS sorti pšenice čine Libellula, Bezostaja-1, Slavonka i Zlatna Dolina koje prema Petrović (2011.) također imaju viši postotak amilopektina. Prema Jurković i sur. (1998.) kruh proizveden od brašna sorte Ana svrstan je u izvrsnu kategoriju kakvoće, što obzirom na udio amilopektina u navedenoj sorti odgovara rezultatima ispitivanja Miles i sur. (1985.); Sasaki i sur. (2000.) koji navode da amilopektin retrogradira polako tijekom vremena, što znači da kruh koji sadrži škrob s većim udjelom amilopektina sporije stari.

U prehrambenoj industriji retrogradacija uzrokuje probleme većih razmjera koji se događaju naročito kod smrzavanja hrane, nakon čega se tekstura hrane može vratiti u određenoj mjeri, ali ne u potpunosti. Ti problemi javljaju se kod korištenja škroba s visokim sadržajem amiloze i jedan su od razloga zbog kojih je velika potražnja za škrobom s povećanim udjelom amilopektina.

Većina istraživanja i stvaranja voštanog škroba, zbog jednostavnosti primjene, bazira se na kukuruzu obzirom da ima diploidni genom u odnosu na pšenicu koja je heksaploidna biljka, te su zbog kompleksnosti genoma istraživanja otežana. Prema Messenger i Despre (2008.). tehnike korištene za dobivanje voštanog škroba također su više prilagođene diploidnim biljkama, obzirom na prisutnost nekoliko izoenzima kod poliploidnih biljaka koji sudjeluju u sintezi amiloze zbog kojih je teže proizvesti voštani škrob.

Ranije je spomenut enzim GBSS, odgovoran za biosintezu amiloze u pšenici, kojega kodiraju tri gena (W<sub>x</sub>-A1, W<sub>x</sub>-B1 i W<sub>x</sub>-D1), te pojavom mutacija, dolazi do stvaranja nultih alela. Postojanje prirodne voštane pšenice je vrlo malo vjerojatno, jer je potrebno postojanje recesivne mutacije na sva tri lokusa. Nakamura i sur. (1995.) razvili su postupak za dobivanje voštane heksaploidne pšenice. Sastoji se od križanja djelomično voštane heksaploidne pšenice s mutacijom na A i B genomu sa djelomično voštanom heksaploidnom pšenicom s mutacijom na D genomu. Mali postotak biljaka dobivenih ovim križanjem su potpuno voštane, te su generacije proizvedene iz njih potpuno voštane.

Prema Baik i sur. (2003.) djelomično voštane pšenice koje su ispitali s udjelom amiloze 15,4-18,9% pokazale su se kao izvori brašna s optimalnom kvalitetom za azijsku tjesteninu, tj. rezance ili „noodles“, a sorte Ana i Sw Maxi, koje na dendrogramu (Grafikon 1) tvore podskupinu, zadovoljavaju navedene kriterije sa sadržajem amiloze od 15,10% i 17,62% tj. sa visokim udjelom amilopektina. Osim za samu proizvodnju azijske tjestenine, djelomično voštane pšenice mogu se koristiti i kao poboljšivači istoga. Po visokom sadržaju amilopektina, sljedeće sorte koje su se izdvojile su Mia (79,91%) i San Pastore (78,29%), koje na dendrogramu (Grafikon 1) također tvore podskupinu. Prema Bede i sur. (2010.) sorta Mia posebno se izdvojila u trogodišnjem pokusu po kvaliteti zrna, brašna i kruha, te se po svim ispitivanim parametrima kvalitete može uvrstiti u vrlo kvalitetne pšenice. Početkom intenziviranja poljoprivrede introducirana je i visokoproduktivna talijanska sorta San Pastore koja je imala važnu ulogu u proizvodnji i stvaranju novih sorata pšenice (Jošt i Samobor, 2008.). Prema članku dr. Jošta (<http://www.jost-seeds-research.eu/about-wheat-grown-in-china-and-in-croatia/>), San Pastore je zajedno sa ostalim introduciranim talijanskim sortama uzgajana između ostalog i u nekim regijama Kine, što znači da se budućim križanjima otvara mogućnost za uzgojem hrvatskih sorata na istim područjima, te širenjem tržišta.

Brašno i škrob voštanih pšenica u prehrambenoj industriji imaju prednost u tome što je njihov okus neutralniji, a boja bjelja od brašna voštanog kukuruza. U ne-prehrambenoj industriji, može se upotrijebiti za kozmetiku, boje i ljepila za povećanje kohezije tih proizvoda. Upotreba brašna i škroba voštanih pšenice moguća je u proizvodnji biskvita, u stočnoj hrani, umacima, kuhanim jelima i mliječnim proizvodima. Obzirom na postotak amilopektina u sortama Ana i Sw Maxi, upotreba molekularnih markera za detekciju GBSS nultih alela mogla bi dovesti do uspješnog izbora roditelja za križanja.

Fang i Fowler (2003.); Šubarić i sur. (2012.) navode također da se primjena škroba u ne-prehrambenoj industriji, npr. u papirnoj industriji, u proizvodnji biorazgradive ambalaže i dr. omogućuje i modifikacijama.

Prema Petrović (2011.) sorta Žitarka ima viši sadržaj amiloze, a dio je roditeljske osnove (GO3135/Žitarka) sorte Hana, koja se na dendrogramu (Grafikon 1) izdvojila pojedinačno unutar grupe 1, obzirom da među ispitivanim sortama ima najveći sadržaj amiloze od 31,32%, a prema Šubarić i sur. (2012.) visokoamilozni škrobovi sadrže više od 40% amiloze. Prema Van Hung i sur. (2006.), visokoamilozni škrob je izvor rezistentnog škroba, koji ima veliki utjecaj na ljudsko zdravlje. Sajilata i sur. (2006.) navode da rezistentni škrob pozitivno utječe na funkcioniranje probavnog sustava, regulira razinu kolesterola u krvi i glikemijskog indeksa, pomaže u kontroli dijabetesa i dr. Obzirom da se među ispitivanim sortama Hana izdvojila po visokom udjelu amiloze, ima potencijal za korištenje u pekarskoj industriji za dobivanje kruha i ostalih pekarskih proizvoda s ciljem povećanja sadržaja dijetetskih vlakana i smanjenja energetske vrijednosti.

Jošt i sur. (2006.) ukazali su na nedostatak oplemenjivanja namjenskih pšenica u Hrvatskoj, te ukazuju na važnost provođenja dodatnih analiza namjenske kakvoće linija pšenice koje su odbačene, jer nisu zadovoljavale primarne ciljeve oplemenjivačkog programa. Linija Kž 809-1 koju su ispitali također je primarno bila odbačena, no dodatnim analizama pokazalo se da bi po svim ostalim karakteristikama brašna odgovarala potrebama konditorske industrije za kekse i biskvite, dok su jedino za svojstva upijanja vode i rastezljivosti tijesta registrirane granične vrijednosti.

Među ispitivanim sortama, Bambi ima uobičajen nivo amiloze i amilopektina, a prema Denčić i sur. (2007.) namijenjena je za proizvodnju tvrdog i čajnog keksa, te može poslužiti kao izvor genetske varijabilnosti za stvaranje pšenica za posebnu namjenu.

Heksaploidna pšenica obzirom na kompleksnost genoma zahtjeva i kompleksnija istraživanja, no obzirom na dobivene i analizirane podatke, vidljivo je da pojedine pšenice mogu poslužiti kao izvor varijabilnosti za stvaranje pšenica za posebnu namjenu. Upotreba molekularnih markera za detekciju GBSS multih alela, te planska hibridizacija ili kombinacijsko oplemenjivanje mogu dovesti do uspješnog izbora genetski različitih i divergentnih roditelja za križanja u budućim oplemenjivačkim programima, što može rezultirati povećanjem izvoza proizvoda, te razvojem tržišta upotrebom ispitivanih sorti i u posebne svrhe.



## 6. Zaključak

Istraživanje je provedeno u svrhu ispitivanja varijabilnosti kvalitativnih svojstava tj. sadržaja amiloze i amilopektina kod hrvatskih i stranih sorti ozime pšenice, te ispitivanja potencijala istih za posebne namjene.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Analiza količine amiloze i amilopektina utvrdila je statistički visoko opravdane razlike među ispitivanim sortama
2. Izdvojile su se sorte s visokim sadržajem amilopektina i niskim sadržajem amiloze (Ana, Sw Maxi, Mia i San Pastore), te sorta s visokim sadržajem amiloze (Hana)
3. Obzirom na dobivene i analizirane podatke, u budućim oplemenjivačkim programima moguće je provesti selekciju sorata za posebne namjene

## 7. Popis literature

1. Abbas KA, Khalil SK, Hussin ASM (2010): Modified Starches and Their Usages in Selected Food Products: A Review Study. *Journal of Agricultural Science* 2(2)
2. Ačkar Đ (2010): Izoliranje, modificiranje i karakteriziranje škroba pšenice. Doktorski rad. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku
3. Bede M, Bede Z, Guberac V, Petrović S (2010): Žitarka i Srpanjka - genetska osnova za stvaranje novih sorti ozime pšenice. 45. Hrvatski i 5. Međunarodni simpozij agronoma Opatija, Hrvatska
4. BeMiller JN, Whistler RL (1996): Carbohydrates. *Food Chemistry*, New York, 191 – 204
5. Blazek J, Copeland L (2008): Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content. *Carbohydrate Polymers* 71: 380–387
6. Blazek J, Salman H, Rubio AL, Gilbert E, Hanley T, Copeland L (2009): Structural characterization of wheat starch granules differing in amylose content and functional characteristics. *Carbohydrate Polymers* 75: 705–711
7. Corcuera V, Salmoral EM, Salerno JC, Krisman CR: (2007) Starch molecular fractionation of bread wheat varieties. *Agriscientia* 24(1): 11-18
8. Cui SW (2005): Food carbohydrates : chemistry, physical properties, and applications. CRC Press, Boca Raton, SAD
9. Dai ZM, Yin YP, Zhang M, Li WY, Yan SH, Cai RG, Wang ZL (2008): Distribution of Starch Granule Size in Grains of Wheat Grown Under Irrigated and Rainfed Conditions *Acta Agron Sin*, 34(5): 795–802

10. Denčić S, Pržulj N, Mladenov N, Kobiljski B, Hristov N, Rončević P, Đurić V (2007): Rezultati i dometi novosadskih sorti strnih žita. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sv. 43, 5-19
11. Eliasson A-C (2004): Starch in food: Structure, function and applications. Woodhead Publishing Limited, Cambridge England 224-250
12. Eerlingen RC, Delcour JA (1995): Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science* 22(2): 129–138
13. Fang J, Fowler P (2003): The use of starch and its derivatives as biopolymer sources of packaging materials. The BioComposites Centre, University of Wales, Bangor
14. Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Álvarez JA (2010): Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4): 931–942
15. Gérard C, Barron C, Colonna P, Planchot V (2001): Amylose determination in genetically modified starches. *Carbohydrate Polymers* 44: 19–27
16. Gunaratne A, Corke H (2007): Influence of prior acid treatment on acetylation of wheat, potato and maize starches. *Food Chemistry* 105: 917–925
17. Graybosch RA (1998): Waxy wheats: Origin, properties, and prospects. *Trends in Food Science & Technology* 9: 135-142
18. Gray JA, Bemiller JN (2003): Bread Staling B: Molecular Basis and Control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. Institute of Food Technologists 2: 1-2
19. Jošt M, Samobor V, Vukobratović M (2006): Oplemenjivanje pšenice za posebnu namjenu. *Glasnik zaštite bilja*, 29(1): 42-48

20. Jošt M, Samobor V (2008): Oplemenjivanje pšenice za ekološku poljoprivredu. Izvorni znanstveni članak, Agronomski glasnik 6/2008, 543-561
21. Kumar S, Purna G (2010): Understanding and improving functionality of waxy wheat flours. Department of grain science and industry , Kansas state university, Manhattan
22. Labuschagne MT, Geleta N, Osthoff G (2007):The influence of environment on starch content and amylose to amylopectin ratio in wheat. Starch/Stärke 59: 234-238
23. Lee M-R, Barry G, Swanson BG, Baik B-K (2001): Influence of amylose content on properties of wheat starch and bread-making quality of starch and gluten blends. Cereal Chemistry 78: 701–706
24. Li WY, Yan SH, Yin YP, Li Y, Liang TB, Gu F, Dai ZM, Wang ZL ( 2008): Comparison of Starch Granule Size Distribution Between Hard and Soft Wheat Cultivars in Eastern China. Agricultural Sciences in China 7(8): 907-914
25. Majzoobi M, Rowe AJ, Connock M, Hill SE, Harding SE (2003): Partial fractionation of wheat starch amylose and amylopectin using zonal ultracentrifugation. Carbohydrate Polymers 52 : 269–274
26. Messenger A, Despre D (2008): For non-food product such as cosmetics, glues and paint, for baked food product, animal feeds, dairy products. Patent: US7348036 B2, Ulice S.A., Corporation of France
27. Mikulíková D, Masár Š, Horváthová V, Kraic J (2009): Stability of Quality Traits in Winter Wheat Cultivars. Czech J. Food Sci. 27(6): 403–417
28. Miles MJ, Morris VJ, Orford PD, Ring SG (1985): The roles of amylose and amylopectin in the gelatinization and retrogradation of starch. Carbohydrate Research 135(2): 271-281

29. Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, Hidaka S, Nagamine T (1995): Production of waxy (amylose-free) wheats. *Molecular and General Genetics* 248(3): 253-259
30. Park SH, Wilson JD, Seabourn BW (2009): 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(1): 98-105
31. Peng M, Gao M, Abdel-Aal ESM, Hucl P, Chibbar RN (1999): Separation and characterization of A- and B-type starch granules in wheat endosperm. *Cereal Chemistry* 76, 375–379
32. Peterson DG, Fulcher RG (2001): Variation in Minnesota HRS wheats: starch granule size distribution. *Food Research International* 34: 357-363
33. Petrović S (2011): Genetska različitost germplazme ozime krušne pšenice (*Triticum aestivum* L. ssp. vulgare). Doktorski rad. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku
34. Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR (2006): Resistant Starch—A Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, Institute of Food Technologists Vol. 5
35. Salman H, Blazek J, Lopez-Rubio A, Gilbert EP, Hanley T, Copeland L (2009): Structure-function relationships in A and B granules from wheat starches of similar amylose content. *Carbohydrate Polymers* 75: 420–427
36. Sasaki T, Yasui T, Matsuki J (2000): Effect of Amylose Content on Gelatinization, Retrogradation, and Pasting Properties of Starches from Waxy and Nonwaxy Wheat and Their F1 Seeds. *Cereal Chemistry* 77(1):58–63
37. Singha N, Singha S, Isonob N, Nodac T, Singha AM (2009): Diversity in amylopectin structure, thermal and pasting properties of starches from wheat varieties/lines. *International Journal of Biological Macromolecules* 45: 298–304

38. Svihus B, Uhlen AK, Harstad OM (2005): Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology* 122: 303–320
39. Šubarić D, Babić J, Ačkar Đ (2012): Modificiranje škroba radi proširenja primjene. *Radovi Zavoda za znanstveni i umjetnički rad u Požegi*, 247-258
40. Tester RF, Morrison WR (1990): Swelling and Gelatinization of Cereal Starches, I.: Effects of Amylopectin, Amylose, and Lipids. *Cereal Chem.* 67(6): 551-557
41. Tharanathan RN, Mahadevamma S (2003): Grain legumes—a boon to human nutrition. *Trends in Food Science & Technology* 14(12): 507–518
42. Van Hung P, Maeda T, Morita N (2006): Waxy and high-amylose wheat starches and flours—characteristics, functionality and application. *Trends in Food Science & Technology* 17(8): 448–456
43. Van Hung P, Maeda T, Miskelly D, Tsumori R, Morita N (2008): Physicochemical characteristics and fine structure of high-amylose wheat starches isolated from Australian wheat cultivars. *Cereal Chem.* 71(4): 656–663
44. Williams PC, Kuzin FD, Hlynka I. (1970): A Rapid Colorimetric Procedure for Estimating the Amylose Content of Starches and Flours. *Cereal Chem* 47: 411 – 421
45. Wronkowska M, Soral-Śmietana M (2012): Fermentation of Native Wheat, Potato, and Pea Starches, and their Preparations by *Bifidobacterium*- Changes in Resistant Starch Content. *Czech J. Food Sci.* 30(1): 9–14
46. Yoo SH, Jane JL (2002): Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers* 49: 297-305

47. Zhu T, Jackson DS, Wehling RL, Geera B (2008): Comparison of Amylose Determination Methods and the Development of a Dual Wavelength Iodine Binding Technique. Cereal Chemistry 85(1):51-58

Internet stranice:

1. <http://www.jost-seeds-research.eu/about-wheat-grown-in-china-and-in-croatia/>
2. [http://www.obz.hr/vanjski/CD\\_AGBASE2/HTM/psenica.htm](http://www.obz.hr/vanjski/CD_AGBASE2/HTM/psenica.htm)
3. <http://agroplus.rs/katalog-sa-izlozbe-iv-deo/>
4. <http://www.tehnologijahrane.com/knjiga/psenicno-brasno>
5. [http://www.nfstc.org/pdi/Subject06/pdi\\_s06\\_m02\\_10\\_b.htm](http://www.nfstc.org/pdi/Subject06/pdi_s06_m02_10_b.htm)

## **8. Sažetak**

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati varijabilnost kvalitativnih svojstava kod 24 hrvatske i šest stranih sorata ozime pšenice metodom Megazyme k-amyl 07/11 (Megazyme International Ireland, 2011.), te otkrivanje potencijala istih za posebne namjene. Analiza sastava škroba temeljila se na izdvajanju amiloze i amilopektina te njihove količine i omjera. Analiza količina amiloze i amilopektina utvrdila je statistički visoko opravdane razlike među ispitivanim sortama. Ispitivane sorte većinom su krušne pšenice različite kvalitete, te imaju uobičajen sadržaj amiloze i amilopektina, no izdvojile su se sorte s visokim sadržajem amilopektina i niskim sadržajem amiloze, te sorta s visokim sadržajem amiloze, koje imaju potencijal u budućim oplemenjivačkim programima i selekciji za posebne namjene.



## **9. Summary**

The aim of this study was to investigate the variability of quality characteristics in 24 Croatian and six foreign winter wheat cultivars using Megazyme K-amyl 7.11 method (Megazyme International Ireland, 2011) and detecting potential of these cultivars for special purpose. Analysis of the starch was based on the separation of amylose and amylopectin and their quantities and ratios. Analysis of the amount of amylose and amylopectin has found a high statistically significant differences between the cultivars. The tested varieties are mostly bread wheat of different quality which have the usual content of amylose and amylopectin, but there were identified cultivars with high amylopectin and low amylose content and also cultivar with high amylose content which have the potential in future breeding programs and selection for special purposes.

## 10. Popis tablica

1. Tablica 1. Podrijetlo i godina priznavanja sorata ozime pšenice
2. Tablica 2. Analiza varijance omjera amiloze i amilopektina u zrnu pšenice ispitivanih sorata
3. Tablica 3. Količina, omjer i standardna devijacija omjera amiloze i amilopektina u zrnu pšenice ispitivanih sorata
4. Tablica 4. Rezultati LSD testa za omjer amiloze i amilopektina kod ispitivanih sorata

## 11. Popis slika

1. Slika 1. Sinteza škroba u biljkama i algama (Eliasson, 2004.)
2. Slika 2. Odvajanje škroba odmah po dodatku etanola (foto original; N. Weg)
3. Slika 3. Talog škroba i cijedenje etanola (foto original; N. Weg)
4. Slika 4. Inkubacija sa GOPOD-om (foto original; N. Weg)
5. Slika 5. Uzorak s GOPOD-om u kivetama pripremljen za mjerenje apsorbancije (foto original; N. Weg)

## 12. Popis grafikona

1. Grafikon 1. Dendrogram na temelju srednjih vrijednosti omjera amiloze i amilopektina

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera  
Poljoprivredni fakultet u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij, smjer Oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo

Diplomski rad

Varijabilnost kvalitativnih osobina germplazme ozime pšenice i selekcija za posebne namjene

Nikolina Weg

## Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati varijabilnost kvalitativnih svojstava kod 24 hrvatske i šest stranih sorata ozime pšenice metodom Megazyme k-amyl 07/11 (Megazyme International Ireland, 2011.), te otkrivanje potencijala istih za posebne namjene. Analiza sastava škroba temeljila se na izdvajanju amiloze i amilopektina te njihove količine i omjera. Analiza količina amiloze i amilopektina utvrdila je statistički visoko opravdane razlike među ispitivanim sortama. Ispitivane sorte većinom su krušne pšenice različite kvalitete, te imaju uobičajen sadržaj amiloze i amilopektina, no izdvojile su se sorte s visokim sadržajem amilopektina i niskim sadržajem amiloze, te sorta s visokim sadržajem amiloze, koje imaju potencijal u budućim oplemenjivačkim programima i selekciji za posebne namjene.

**Rad je izrađen pri:** Poljoprivredni fakultet u Osijeku

**Mentor:** prof. dr. sc. Sonja Marić

**Broj stranica:** 38

**Broj grafikona i slika:** 6

**Broj tablica:** 4

**Broj literaturnih navoda:** 47

**Broj priloga:**

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** pšenica, kvalitativna svojstva, amiloza, amilopektin, posebne namjene

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. doc. dr. sc. Đurđica Ačkar, predsjednik

2. prof. dr. sc. Sonja Marić, mentor

3. doc. dr. sc. Sonja Petrović, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića  
1d

# **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agriculture in Osijek**  
**University Graduate Studies, Plant breeding and seed science**

**Graduate thesis**

## **Variability of quality traits in winter wheats**

**Nikolina Weg**

### **Abstract:**

The aim of this study was to investigate the variability of quality characteristics in 24 Croatian and six foreign winter wheat cultivars using Megazyme K-amyl 7.11 method (Megazyme International Ireland, 2011) and detecting potential of these cultivars for special needs. Analysis of the starch was based on the separation of amylose and amylopectin and their quantities and ratios. Analysis of the amount of amylose and amylopectin has found a high statistically significant differences between the cultivars. The tested varieties are mostly bread wheat of different quality which have the usual content of amylose and amylopectin, but there were identified cultivars with high amylopectin and low amylose content and also cultivar with high amylose content which have the potential in future breeding programs and selection for special needs.

**Thesis performed at:** Faculty of Agriculture in Osijek

**Mentor:** prof. dr. sc. Sonja Marić

**Number of pages:** 38

**Number of figures:** 6

**Number of tables:** 4

**Number of references:** 47

**Number of appendices:**

**Original in:** Croatian

**Key words:** wheat, quality traits, amylose, amylopectin, special needs

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. doc. dr. sc. Đurđica Ačkar, chairman
2. prof. dr. sc. Sonja Marić, mentor
3. doc. dr. sc. Sonja Petrović, member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d