

Analiza efekata i optimizacija koncentracije organskih kiselina na hemijske i fizičke osobine pšeničnog testa primenom metode odzivne površine i funkcije poželjnosti

Olivera D. Šimurina¹, Bojana V. Filipčev¹, Pavle T. Jovanov¹, Bojana B. Ikonić²,
Dragana M. Simović-Šoronja²

¹Univerzitet u Novom Sadu, Institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, Srbija

²Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Srbija

Izvod

Radi poboljšanja fizičkih i hemijskih svojstava testa proizvedenog od pšeničnog brašna niskog tehnološkog kvaliteta izvršena je optimizacija koncentracije askorbinske i limunske kiseline primenom statističke metode odzivne površine i funkcije poželjnosti. Efekat organskih kiselina je vidljiv pre svega preko pada pH vrednosti testa i smanjenja sadržaja slobodnih SH grupa, što ima za posledicu promenu fizičkog kvaliteta testa, tj. povećanje energije, otpora i rastegljivosti testa. Sinergističko delovanje potiče od oksidacionog efekta askorbinske kiseline i od smanjenja pH vrednosti testa usled vodonikovih jona limunske kiseline. Ustanovljeno je da se dodatkom askorbinske kiseline u koncentraciji od 97 mg/kg i limunske od 100 mg/kg postiže povećanje energije za 4,7 puta i rastegljivosti testa za 1,5 puta u odnosu na početnu vrednost.

Ključne reči: askorbinska kiselina, limunska kiselina, energija testa, rastegljivost testa, regresioni modeli, optimizacija.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Organske kiseline imaju značajnu funkciju u pšeničnom testu, među kojima je najvažnija L-askorbinska kiselina (E300) koja ima ulogu oksidacionog sredstva. Ostale organske kiseline: mlečna kiselina (E270), limunska kiselina (E330) i sirćetna (E260) koriste se za podešavanje aciditeta testa i njegovo konzervisanje. Uloga organskih kiselina u pšeničnom testu uslovljena je strukturom i osobinama proteinsko-proteaznog i ugljenohidratno-amilaznog kompleksa [1,2]. S obzirom na to da pšenično testo predstavlja koloidno-disperzni supstrat sa viskoelastičnim svojstvima i ima osobine dvofaznog modela, ubraja se u nenjutnovske sisteme [3]. Utvrđeno je da prisustvo i reaktivnost sulfhidrilnih jedinjenja u proteinima imaju veliki uticaj na fizičke i reološke osobine testa [4–6]. U tom smislu najveći značaj imaju aminokiseline cistein (CysSH) i cistin (CySSCy) koje čine 2,8% od količine albumina i globulina, 1,3% od količine glutamina i 2,2% od količine gliadina [7]. Ova karakterizacija doprinosi da pšenična testa imaju značajan reaktivni potencijal tj. reaktivna su na oksidaciju i redukciju. U prisustvu oksidacionih sredstava dva molekula cisteina (CysSH) formiraju molekul cistina (CySSCy), što dovodi do poprečnog povezivanja proteinskih lanaca ili delova istog lanca na mestu cisteinskih ostataka, čime se stvaraju inter- i intradisulfidne veze [8]. U

Prepiska: O. Šimurina, Institut za prehrambene tehnologije, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad, Srbija.

E-pošta: olivera.simurina@fins.uns.ac.rs

Rad primljen: 2. mart, 2012

Rad prihvaćen: 11. april, 2012

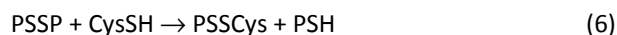
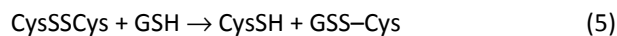
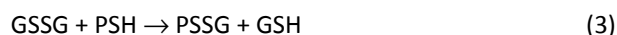
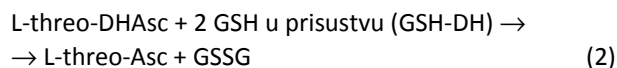
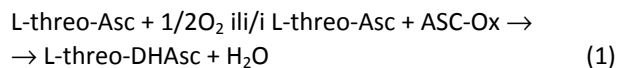
NAUČNI RAD

UDK 547.475.2:547.477:664.641.12

Hem. Ind. 67 (1) 103–113 (2013)

doi: 10.2298/HEMIND120302039S

stvaranju navedenih veza u testu značajnu ulogu imaju oksidaciona sredstva koja deluju sporo kao što su bromati (kalijum i kalcijum), srednje brzo (askorbinska kiselina) i sredstva koja deluju brzo, kao što su kalijum-jodat, azodikarbonamid, aceton-peroksid i dr. [9]. U Srbiji se koristi L-askorbinska kiselina (E300)(skraćeno Asc), kao jedino dozvoljeni oksidans u testu [10]. Detaljna ispitivanja su pokazala da u testu, u stvari, ne deluje Asc, nego L-treo-dehidro-askorbinska kiselina (DHAsc) koja nastaje od Asc tokom zamesa putem oksidacije vazdušnim kiseonikom ili pod dejstvom oksidaza askorbinske kiseline [11]. Osim toga, utvrđeno je da su od četiri diastereomera Asc, odn. DHAsc, najaktivniji L-treo-oblici [12], L- i D-eritro oblici imaju male aktivnosti, dok D-treo oblici uopšte nisu aktivni. Mehanizam delovanja askorbinske kiseline u testa prikazan je sistemom jednačina od 1 do 6 [13].



Prilikom mešenja testa dodata Asc se vrlo brzo oksidiše u DHAsc (jednačina (1)), pomoću oksidaza askorbinske kiseline koja je prisutna u brašnu (Asc-Ox). U reakciji 2 u nastavku, glutation (GSH) koji je prisutan u brašnu se oksidiše u GSSG. Ova reakcija se uz pomoć enzima glutation dehidrogenaze (GSH-DH), odvija brzo. Pri tome ponovo nastaje L-treo-askorbinska kiselina (Asc), što ukazuje na činjenicu da je za poboljšanje brašna dovoljna relativno mala količina askorbinske kiseline (Asc).

Frater i Hird [14] izneli su hipotezu da oksidativni oblik glutationa (GSSG), može stupiti u reakciju razmene SS/SH veza sa proteinima glutena (PSH ili PSSP). GSSG se vrlo brzo utiskuje u proteine glutena i prisutne slobodne –SH grupe blokira za dalje reakcije. Reakcije glutationa (GSH) sa proteinima (PSSP) i cistinom (CysSSCys) (jednačine (4) i (5)) teku spontano do momenta kada se sva količina GSH veže disulfidnom vezom za proteinima kao PSSG ili disulfidnom vezom za cistin kao GSS–Cys. Dalje povećanje koncentracije Asc u tom slučaju više nema nikakvog efekta [13].

Međutim, neadekvatna koncentracija (najčešće previsoka) askorbinske kiseline može značajno da povećava otpor testa, kao i da značajno smanji njegovu rastegljivost što bi uzrokovalo poremećaj u odnosu otpora i rastegljivosti i dovelo do smanjenja energije testa [15,16]. Primenjena koncentracija askorbinske kiseline mora biti u skladu sa karakteristikama supstrata na koji se primenjuje tj. pšeničnom brašnu kao osnovnom sastojku testa [17,18].

Smatra se da organske kiseline imaju jaku interakciju sa proteinima testa preko vodonikovog jona [19–21]. Vodonikov jon je visoko reaktivan i stupa u reakciju sa negativno naelektrisanim jonima proteina i pri veoma niskim koncentracijama [22]. S obzirom na to da proteini sadrže dosta negativno naelektrisanih grupa unutar svoje strukture, H⁺ nastali disocijacijom kiselina vežu se za negativne ostatke amino kiselina i doprinose stabilizaciji energije u proteinskom lancu [23]. Osim toga, smatra se da vodonikov jon izaziva konformativne promene u proteinima koje uzrokuju protein-protein ili protein-lipid interakcije što dovodi do stabilizacije proteina [24]. Međutim, promena pH vrednosti može dovesti do izmene stepena jonizacije proteina, a pri ekstremnim koncentracijama vodonikovih jona, struktura proteina se može u potpunosti razoriti tj. denaturisati [25]. S obzirom na to da proteini u pšeničnom testu imaju značajnu ulogu u formiranju strukture i određivanju biohemijskih i fizičkih osobina, opravdano je ispitivanje delovanja organskih kiselina u jednom tako složenom viskoelastičnom sistemu kao što je pšenično testo. U literaturi postoje oprečna mišljenja u vezi efekta organskih kiselina na osobine testa. Bayfield i Young [26] izneli su mišljenje da testo sa smanjenjem pH sa 6,0 na 4,6 gubi kohezivnost i postaje lepljivo, a s druge

strane stavovi Harinder i Bains [27] poklapaju se sa stavovima Ravi i Haridas [28] koji su saopštili da smanjenje pH povećava čvrstoću i otpor testa na rastezanje zbog ubrzanog procesa bubrenja i agregacije belančevinastih materija testa.

Limunska kiselina se najčešće koristi kao sredstvo za zakišeljavanje testa od ražanog brašna. Malo je istraživanja koja su usmerena na efekat limunske kiseline u pšeničnom testu, a posebno nedostaju istraživanja vezana za njen sinergistički efekat u kombinaciji sa askorbinskom kiselinom u testu od brašna niskog tehnološkog kvaliteta.

Po hemijskoj strukturi askorbinska i limunska kiselina su veoma slične (razlikuju se samo po broju kiseonikovih atoma, limunska kiselina sadrži jedan atom kiseonika više). Međutim, njihove molekularne strukture se značajno razlikuju [29], pa su i njihove funkcije u industriji prerade brašna različite: askorbinska kiselina se najčešće koristi kao antioksidans, a limunska kao konzervans [30]. Zbog ekonomične proizvodnje askorbinska i limunska kiselina su našle veliku primenu u procesu proizvodnje hrane [30–32].

Činjenice da limunska kiselina u prisustvu soli ima pozitivan efekat na osobine testa [33] i da u kombinaciji sa askorbinskom kiselinom doprinosi proširenju asortimana proizvoda od durum brašna [34] podstakla je dalja istraživanja u pravcu analize njenog delovanja, u smeši sa askorbinskom kiselinom, na pšenično testo od brašna sa niskim sadržajem proteina i izrazito niskom energijom. Glavni razlog za ovo istraživanje je što se poslednjih decenija, zbog uticaja agroekoloških, agrotehničkih i klimatskih faktora kao i njihovih interakcija dobijaju pšenična testa sa izrazito niskom energijom [35] tj. ispod kriterijuma zahteva pekarske industrije [36,37]. Potrebno je „ojačati“ pšenično testo, odnosno povećati njegovu energiju radi lakše obrade i dobijanja kvalitetnog proizvoda. U tom kontekstu, cilj rada je da se analizira efekat askorbinske i limunske kiseline i njihove interakcije na promenu energije i rastegljivosti pšeničnog testa primenom metode odzivne površine. Nakon definisanja modela koji opisuje i predviđa glavne efekte i interakciju posmatranih organskih kiselina sprovede se optimizacija koncentracije askorbinske i limunske kiseline s ciljem postizanja maksimalnog efekta povećanja energije i rastegljivosti testa korišćenjem funkcije poželjnosti.

EKSPERIMENTALNI DEO

Materijali

U sastav ispitivanog testa uključeno je pšenično brašno T-500 sledećih karakteristika: sadržaj proteina 10,7% s.m., sadržaj pepela 0,50% s.m., sadržaj vlage 11,4%. Korišćeno brašno karakteriše izrazito nizak sadržaj proteina i odgovarajući sadržaj pepela i vlage u

skladu sa važećim propisima [38]. U farinografskoj mešilici po proceduri za izradu testa [39] formirano je testo konzistencije od 500 Fj (moć upijanja vode 55,8%). Sastav osnovnog testa je 300 g brašna, 6 g soli i 167,4 ml vode. Testa sa askorbinskom kiselinom, limunskom kiselinom i njihovom mešavinom pripremljeno je pod istim uslovima i po eksperimentalnom dizajnu koji je prikazan u tabeli 1. Askorbinska i limunska kiseline su komercijalni proizvodi, proizvođača BASF, Nemačka, a primenjene koncentracije za obe kiseline su 50 i 100 mg/kg. Po isteku vremena razvoja testa po farinogramu (3 minuta) uzeti su uzorci za dalja ispitivanja (1 g za određivanje sadržaja slobodnih SH grupa, a ostatak za određivanje pH vrednosti).

Metode

Određivanje hemijskih karakteristika brašna i testa

Sadržaj proteina u pšeničnom brašnu korišćenom za izradu testa određen je titrimetrijski po Kjeldahlu (Nx5,7) [40].

Sadržaj količine vode i količine pepela u brašnu određen je gravimetrijski u skladu sa propisanim metodama [40].

Za određivanje pH vrednosti testa korišćen je Basic pH metar PB 20, Sartorius, UK, direktnim postavljanjem elektroda u testo koje je odležavalo 1 sat.

Određivanje sadržaja slobodnih SH grupa u pšeničnom testu sa Ellman-ovim reagensom rađeno je po metodu opisanom u radu koji su izneli Maforimbo i sar. [41]. Uzorci testa (oko 1 g) stajali su na sobnoj temperaturi (23 °C) u periodu od 1 sata zbog relaksacije. Ovo vreme je uzeto i kao reakcioni period, nakon čega su uzorci podvrgnuti procesu liofilizacije. Liofilizacija je vršena u uređaju Echrist Alpha I/5, pri temperaturi de-sublimatora –55 °C i radnoj temperaturi materijala –35 °C. Uzorci su sušeni do krajnjeg sadržaja vode od 3–5%. Osušeni uzorci testa su fino samlevani i količina od 40 mg je podvrgnuta daljoj analizi [41].

Određivanje fizičkih osobina testa

Energija, otpor i rastegljivost su određeni na Brabender® ekstenzografu po ICC Standardu 114/1 [42]. Princip određivanja je da se primenom sile konstantne veličine pri istoj brzini i smeru dejstva testo rasteže preko granice rastegljivosti nakon čega se kida. Otpor koji testo pruža pri dejstvu sile registruje se na ekstenzogramu. Pošto se otpor, za vreme rastezanja menja, za vrednost otpora testa se uzima visina krive na 5 cm od početka rastezanja i izražava se u Brabenderovim jedinicama (Bj). Zbirni ekstenzografski pokazatelj je površina ispod ekstenzografske krive koja predstavlja rad, odnosno energiju koja se utroši na rastezanje testanog komada i izražava se u cm². Rastegljivost testa se čita sa dijagrama i izražava se u mm [43].

Statistička obrada podataka

Eksperiment je urađen prema potpunom faktorijskom planu (FFP). Dizajn se sastojao od dva faktora (askorbinska i limunska kiselina) u tri nivoa (-1,0,+1) (tabela 1). Nivoi faktora su odabrani prema rezultatima iz predhodnih istraživanja [44]. Statistička obrada eksperimentalnih podataka rađena je u programu Microsoft Office Excel 2007 i Statistica 10.0 (Stat Soft., Inc, Tulsa, Oklahoma). Merenja su sprovedena u tri ponavljanja, a podaci su prikazani kao prosečne vrednosti i standardne devijacije. Primenjen je Spearmanov koeficijent korelacije kako bi se ispitala povezanost između tretmana i hemijskih (pH vrednost i sadržaj SH grupa) i fizičkih osobina testa (energija, otpor i rastegljivost), a značajnost je testirana na nivou $p < 0,05$.

Podaci koji se odnose na određivanje uticaja askorbinske i limunske kiseline i njihove mešavine na pH vrednost testa i sadržaj slobodnih SH grupa su obrađeni primenom dvofaktorske analize varijanse pri nivou značajnosti $p < 0,05$. Značajnost razlika je utvrđen korišćenjem Tukey HSD testa.

Metodom odzivne površine (engl. *response surface methodology* – RSM) formirani su modeli u obliku polinomskih jednačina drugog reda (7) za svaku odzivnu funkciju (Y).

Tabela 1. Stvarne i kodirane vrednosti ispitivanih faktora-eksperimentalni dizajn
Table 1. Real and coded levels of the independent factors-experimental design

| Tretman, Red. br. | Stvarne vrednosti | | Kodirane vrednosti | |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|
| | Askorbinska kiselina, mg/kg | Limunska kiselina, mg/kg | Askorbinska kiselina, X1 | Limunska kiselina, X2 |
| 1 | 0 | 0 | -1 | -1 |
| 2 | 50 | 0 | 0 | -1 |
| 3 | 100 | 0 | +1 | -1 |
| 4 | 0 | 50 | -1 | 0 |
| 5 | 0 | 100 | -1 | +1 |
| 6 | 50 | 50 | 0 | 0 |
| 7 | 50 | 100 | 0 | +1 |
| 8 | 100 | 50 | +1 | 0 |
| 9 | 100 | 100 | +1 | +1 |

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 \quad (7)$$

Odzivne funkcije su: energija, Y_1 ; otpor, Y_2 i rastegljivost, Y_3 .

U jednačini (7) b_0 je odsečak; b_1 i b_2 su linearni regresioni koeficijenti; b_{11} i b_{22} su kvadratni regresioni koeficijenti, a b_{12} je interaktivni koeficijent regresije; X_1 je količina askorbinske kiseline (AA), a X_2 je količina limunske kiseline (LA), obe u primenjenom opsegu koncentracija (0–100 mg/kg brašna).

Adekvatnost modela je testirana disperzionom analizom modela, a parametri koji opisuju adekvatnost matematičkog modela su F-vrednost (dobijeni Fišerovim testom), koeficijent determinacije R^2 , prilagođeni koeficijent determinacije $Adj R^2$. P-vrednosti dobijene za sve odzive ukazuju da je model značajan pri nivou značajnosti 90% ($p < 0,1$). Dati su geometrijski prikazi za sve odzivne funkcije.

Optimizacija koncentracije organskih kiselina je izvršena korišćenjem programskog paketa Design-Expert 8.1 (Stat-Ease Corporation, Minneapolis, MN, USA) metodom koji se zasniva na funkciji poželjnosti (engl. *function desirability*). Za potrebe optimizacije primenjen je dvofaktorijalni plan u tri nivoa sa ukupno 10 kombinacija (uključujući dva ponavljanja u centralnoj tački) kao što je prikazano u radu [45]. Za optimizaciju koncentracije askorbinske i limunske kiseline u uslovima izrade testa od brašna niskog tehnološkog kvaliteta odabrani odzivi su: energija i rastegljivost testa. Cilj optimizacije je definisanje koncentracije kiselina za koje će izabrani odzivi imati maksimalnu vrednost, odnosno

njihove željene funkcije imati što veću vrednost, približno 1 za isti nivo značajnosti.

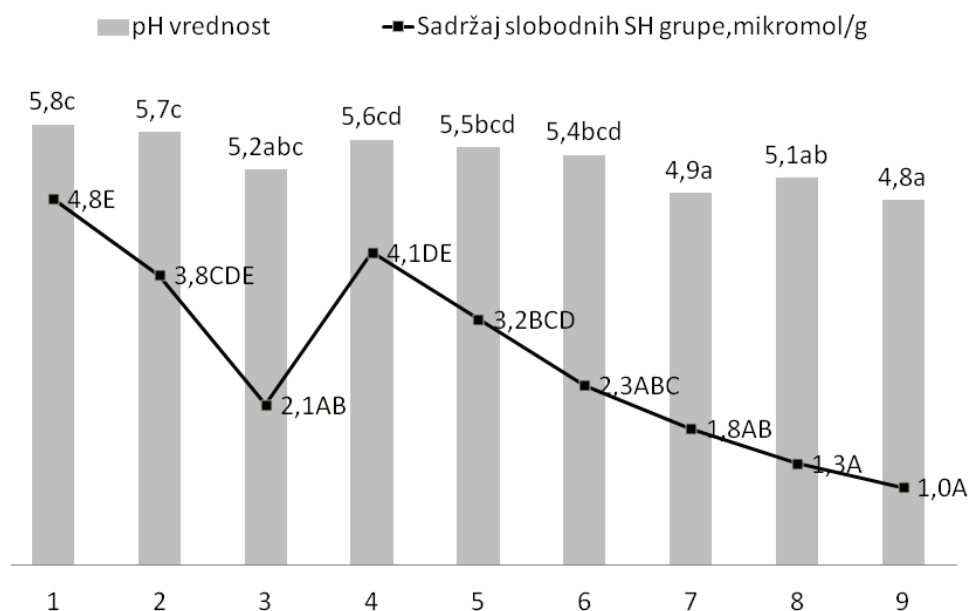
REZULTATI I DISKUSIJA

Efekat askorbinske i limunske kiseline na pH vrednost testa i sadržaj slobodnih SH grupa

Dodatkom askorbinske i limunske kiseline pojedinačno i u kombinaciji dolazi do smanjenja pH vrednosti sa 5,8 (tretman 1) na 4,8 (tretman 9). Statistički značajno ($p < 0,05$) smanjenje pH vrednosti nastaje tek kod primene smeša askorbinske i limunske kiseline tj. kod tretmana pod brojevima 7–9. Registrovano je i smanjenje sadržaja slobodnih SH grupa sa 4,8 $\mu\text{mol/g}$ (tretman 1) na 1,0 $\mu\text{mol/g}$ uzorka registrovanog pri tretmanu 9. Već pri dodatku 100 mg/kg askorbinske ili limunske kiseline dolazi do značajnog ($p < 0,05$) smanjenja sadržaja slobodnih SH grupa i ta tendencija se nastavlja pri dodatku smeša navedenih organskih kiselina (slika 1).

Efekat askorbinske kiseline (Asc), odnosno L-treo-dehidro-askorbinska kiselina (DHAsc) kao oksidacionog sredstva u testu je potvrđen. Oksidacijom SH- grupa u proteinskim lancima testa stvaraju se disulfidne (–S–S–) veze, što ima za posledicu smanjenje ukupnog broja slobodnih SH grupa [8].

Dodata limunska kiselina u koncentraciji od 100 mg/kg takođe značajno ($p < 0,05$) doprinosi smanjenju sadržaja slobodnih tiolnih (SH) grupa. Ovaj efekat je posledica smanjenja pH vrednosti testa jer smanjenje pH vrednosti testa uzrokuje smanjenje sadržaja slobodnih



Tretman; Različita slova označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između tretmana

Slika 1. Efekat askorbinske i limunske kiseline (tretman 1-9) na promene pH vrednosti testa i sadržaja slobodnih SH grupa u testu. Figure 1. Effect of ascorbic acid and citric acid (Treatment 1-9) on dough pH level and content of free –SH groups.

SH grupa u testu [46,47]. Zapaža se da koncentracija od 100 mg/kg limunske kiseline statistički značajno ($p < 0,05$) ne smanjuje pH vrednost testa, ali ipak značajno smanjuje sadržaj slobodnih SH grupa. Dobijeni rezultati su u skladu sa tvrdnjama koje je izneo Tsen, 1966 da male promene pH vrednosti uzrokuju efektivno velike promene osobine testa smanjujući sadržaj SH grupa. Ove promene u sadržaju SH grupa uzrokovale promene u ponašanju testa [1,48,49], što potvrđuje visoka korelaciona povezanost između sadržaja slobodnih SH-grupa i posmatranih fizičkih osobina testa (tabela 2). Reaktivni H^+ vezuju se za negativne delove aminokiselina, tako da proteinski lanci u celini postaju pozitivno naelektrisani tj. pokazuju katjonski karakter [48] i podložniji su oksidaciji [23]. U pojedinim slučajevima (zavisno od karaktera supstrata i koncentracije limunske kiseline), limunska kiselina ubrzava proces oksidacije, što je u svojim istraživanjima potvrdio Liu [50].

Međuzavisnost tretmana i fizičkih karakteristika testa

Analizom međuzavisnosti celokupnog tretmana i posmatranih parametara (pH vrednost, sadržaj slobodnih SH grupa, energija, otpor i rastegljivost testa) prikazanoj u tabeli 2, vidi se da postoji statistički značajna i visoka korelacija između tretmana i svih ispitivanih parametara. Pri tome, korelacija između tretmana i rastegljivosti testa je bila najveća ($r_s = 0,920$), dok je korelacija između tretmana i otpora najniža ($r_s = 0,667$),

ali statistički značajna. Između tretmana i hemijskih karakteristika testa (pH vrednosti i sadržaj slobodnih SH grupa) veza je obrnuto proporcionalna, dok je korelacija između pH vrednosti i sadržaja slobodnih SH grupa u pozitivnoj korelaciji i potvrđuje činjenicu da se sa padom pH vrednosti smanjuje sadržaj slobodnih SH grupa [47]. Sa smanjenjem pH vrednosti testa povećava se energija, otpor i rastegljivost testa, što potvrđuje negativna vrednost koeficijenta korelacije (tabela 2).

Efekat askorbinske i limunske kiseline na fizička svojstva testa i optimizacija koncentracije kiseline

Eksperimentalne vrednosti za energiju, otpor i rastegljivost testa pri dodatku različitih koncentracija askorbinske i limunske kiseline, kao i njihove smeše prikazani su u tabeli 3.

Minimalna vrednost za energiju ($4,0 \text{ cm}^2$) otpor (30 Bj) i rastegljivost (92,0 mm) testa je registrovana pri tretmanu 1, tj. u testu bez dodataka kiseline (kontrolno testo). Ovako niske vrednosti za navedene parametre kvaliteta testa posledica su izrazito niskog kvaliteta brašna kao osnovne sirovine. Tretmanom brašna, tj. dodatkom navedenih organskih kiselina u zames za testo postiže se povećanje energije za 4,5 puta, otpora za 2,5 puta i rastegljivosti za 1,5 puta. S obzirom na to da proučavani faktori u eksperimentu utiču na proces poboljšanja kvaliteta testa preko porasta vrednosti za energiju, otpor i rastegljivost, a u radi procene glavnih

Tabela 2. Korelacioni matriks faktora i odziva sa vrednostima Spearmanovog koeficijenta korelacije (*statistički značajna vrednost na nivou $p < 0,05$)

Table 2. Correlation matrix of factors and responses with Spearman's correlation coefficient (*statistically significance at $p < 0.05$)

| Spearmanov koeficijent korelacije r_s | Tretman | pH vrednost | Sadržaj slobodnih SH grupa, $\mu\text{mol/g}$ | Energija, cm^2 | Otpor, Ej | Rastegljivost, mm |
|---|---------|-------------|---|-------------------------|-----------|-------------------|
| Tretman | 1 | -0,883* | -0,867* | 0,800* | 0,667* | 0,920* |
| pH vrednost | | 1 | 0,967* | -0,917* | -0,883* | -0,795* |
| Sadržaj slobodnih SH grupa, $\mu\text{mol/g}$ | | | 1 | -0,950* | -0,736* | -0,933* |
| Energija, cm^2 | | | | 1 | 0,933* | 0,686* |
| Otpor, Ej | | | | | 1 | Nije značajno |
| Rastegljivost, mm | | | | | | 1 |

Tabela 3. Rezultati eksperimentalnog dizajna za energiju, otpor i rastegljivost testa

Table 3. Results of experimental design for energy, resistance and extensibility

| Tretman, Red. br. | Nezavisni parametri | | Zavisne promenljive (odzivi) | | |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|-----------|-------------------|
| | Askorbinska kiselina, mg/kg | Limunska kiselina, mg/kg | Energija, cm^2 | Otpor, Bj | Rastegljivost, mm |
| 1 | 0 | 0 | 4,0±0,6 | 30,0±1,0 | 92,0±6,1 |
| 2 | 50 | 0 | 8,0±0,0 | 56,3±1,5 | 105,0±8,7 |
| 3 | 100 | 0 | 11,0±1,0 | 72,3±2,5 | 98,7±1,2 |
| 4 | 0 | 50 | 7,0±0,5 | 43,3±1,2 | 118,3±2,9 |
| 5 | 0 | 100 | 7,0±0,5 | 49,0±3,6 | 122,3±2,5 |
| 6 | 50 | 50 | 9,0±0,5 | 61,0±1,0 | 136,3±1,6 |
| 7 | 50 | 100 | 15,0±1,0 | 62,3±2,5 | 139,0±1,7 |
| 8 | 100 | 50 | 16,0±1,7 | 67,7±2,5 | 128,3±7,6 |
| 9 | 100 | 100 | 18,0±1,0 | 74,3±4,0 | 139,0±1,7 |

efekata i njihovih interakcija razvijeni su modeli za svaki od posmatranih zavisnih promenljivih. Regresionom analizom eksperimentalnih podataka dobijene su odgovarajuće jednačine odziva za energiju testa (jednačina (8)):

$$Y_1 = 4,118 + 4,000 \times 10^{-4} X_1 + 0,044 X_2 - 6,444 \times 10^{-5} X_1^2 + 0,076 X_1 X_2 - 7,111 \times 10^{-5} X_2^2 \quad (8)$$

za otpor testa (jednačina (9)):

$$Y_2 = 32,046 + 0,543 X_1 + 0,173 X_2 + 0,150 \times 10^{-2} X_1^2 - 0,170 \times 10^{-2} X_1 X_2 - 2,222 \times 10^{-5} X_2^2 \quad (9)$$

za rastegljivost testa (jednačina (10)):

$$Y_3 = 92,056 + 0,474 X_1 + 0,766 X_2 - 0,410 \times 10^{-2} X_1^2 + 0,100 \times 10^{-2} X_1 X_2 + 0,470 \times 10^{-2} X_2^2 \quad (10)$$

Statistička analiza pokazuje da je predloženi model za svaki od ispitivanih odziva bio adekvatan s obzirom na visoke vrednosti koeficijenta determinacije, R^2 (tabela 4). Vrednosti R^2 za energiju, otpor i rastegljivost su: 0,875, 0,936 i 0,991, redom. S obzirom na to da se vrednost koeficijenta determinacije, R^2 , smanjuje ili povećava sa smanjivanjem odnosno povećanjem broja regresionih varijabli, uobičajeno je da se u statističkom modelovanju selektuje prilagođeni koeficijent determinacije R^2 (engl. *adjusted R^2*) koji uzima u obzir broj regresionih varijabli [51]. Vrednosti za prilagođeni koeficijent determinacije $Adj R^2$ za sve odzive bile su u okviru prihvatljivih granica $Adj R^2 \geq 0,80$ [52], što pokazuje da su eksperimentalni podaci dobro uklopljeni u jednačine drugog reda. Na osnovu p-vrednosti konstatuje se da su svi modeli bili značajni ($p < 0,1$). Vrednost koeficijentata i njihove p- vrednosti prikazani su u

tabeli 4.

Regresiona analiza je pokazala da askorbinska kiselina u posmatranom opsegu koncentracije ima značajan pozitivan efekat na sva tri odziva u pravcu povećanja njihovih vrednosti, a pri tome najveći uticaj ima na otpor testa. Sa kvadratnim povećanjem koncentracije askorbinske kiseline značajno opada rastegljivost testa, dok je efekat na energiju i otpor testa statistički neznačajan ($p > 0,1$).

Dodatak limunske kiseline značajno ne utiče na promene vrednosti energije i otpora testa, ali zato ima značajan uticaj na rastegljivosti testa. Promena rastegljivosti testa zavisi od primenjene koncentracije limunske kiseline, tako da rastegljivost testa značajno ($p < 0,1$) raste sa početnom koncentracijom. Sa kvadratnim povećanjem koncentracije limunske kiseline dolazi do smanjenja rastegljivosti testa, ali u manjoj meri u odnosu na stepen povećanja pri nižoj koncentraciji. Pored toga, signifikantni su i koeficijenti interakcije askorbinske i limunske kiseline i to u pozitivnom smeru za energiju (+0,076) i za rastegljivost testa (+0,100×10⁻²).

Kod promene energije testa pozitivna interakcija ova dva faktora lako je uočljiva (slika 2), s obzirom na to da se najveći porast energije postiže pri maksimalnoj koncentraciji askorbinske i limunske kiseline (sa 4 na 18 cm²). Sa daljim povećanjem koncentracija kiselina dolazi do pomeranje maksimuma izvan posmatranog opsega.

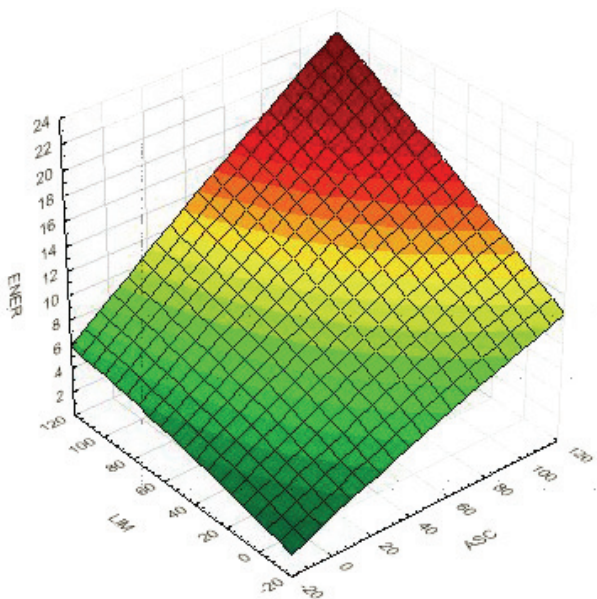
Otpor testa zavisi, pre svega od koncentracije askorbinske kiseline. U jednačini za otpor, zapaža se da početne koncentracije (50 i 100 mg/kg) askorbinske kiseline doprinose značajnom povećanju otpora testa

Tabela 4. Regresioni koeficijenti (vrednost i značajnost) i ocena modela za energiju, otpor i rastegljivost testa (*statistički značajna vrednost na nivou $p < 0,1$)

Table 4. Regression coefficients (value and significance) and model evaluation for dough energy, resistance and extensibility (*statistical significance at $p < 0.1$)

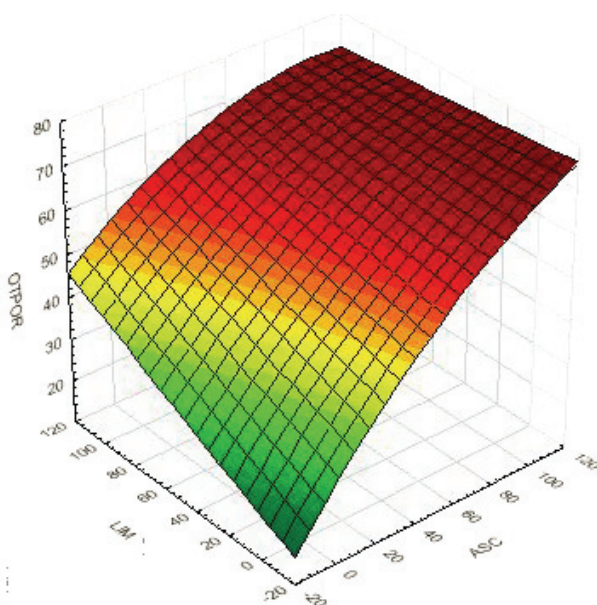
| Regresioni koeficijenti | Energija, cm ² | p-vrednost | Otpor, Bj | p-vrednost | Rastegljivost, mm | p-vrednost |
|---------------------------------|---------------------------|------------|-------------------------|------------|---------------------------|------------|
| Odsečak | | | | | | |
| b_0 | 4,118* | 0,072 | 32,046* | 0,002 | 92,056* | 0,000 |
| Linearni | | | | | | |
| b_1 (AK) | $4,000 \times 10^{-4}$ * | 0,024 | 0,543* | 0,017 | 0,474* | 0,002 |
| b_2 (LK) | 0,044 | 0,464 | 0,173 | 0,224 | 0,766* | 0,000 |
| Kvadratni | | | | | | |
| b_{11} (AK ²) | $-6,444 \times 10^{-5}$ | 0,900 | $-0,150 \times 10^{-2}$ | 0,248 | $-0,410 \times 10^{-2}$ * | 0,003 |
| b_{22} (LK ²) | $-7,111 \times 10^{-5}$ | 0,890 | $2,222 \times 10^{-5}$ | 0,984 | $-0,470 \times 10^{-2}$ * | 0,002 |
| Interaktivni | | | | | | |
| b_{12} (AKxLK) | 0,076* | 0,032 | $-0,170 \times 10^{-2}$ | 0,102 | $0,100 \times 10^{-2}$ * | 0,060 |
| Adekvatnost i značajnost modela | | | | | | |
| R^2 | 0,953 | – | 0,976 | – | 0,996 | – |
| Adj R^2 | 0,875 | – | 0,936 | – | 0,991 | – |
| p | 0,033 | – | 0,012 | – | 0,001 | – |
| F_{izr} | 12,239 | – | 24,618 | – | 175,336 | – |
| F_{tab} | 3,619 | – | 3,619 | – | 3,619 | – |

($b_1 = 0,543$), dok se sa kvadratom povećanja koncentracije askorbinske kiseline dolazi do statistički neznčajne promene otpora (slika 3).



Slika 2. Uticaj koncentracije askorbinske i limunske kiseline na energiju testa.

Figure 2. Influence of ascorbic and citric acid on dough energy.



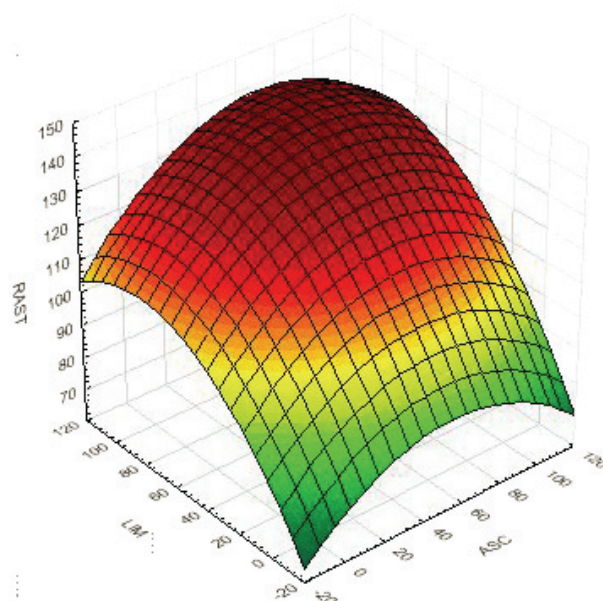
Slika 3. Uticaj koncentracije askorbinske i limunske kiseline na otpor testa.

Figure 3. Influence of ascorbic and citric acid on dough resistance.

Limunska kiselina, mada statistički neznčajno ($p = 0,224$; $p = 0,984$), ipak doprinosi porastu energije i otpora testa (slike 2 i 3). Objašnjenje da limunska kiselina može povećati otpor testa je u samoj činjenici da

njeno prisustvo u testu snižava pH vrednosti, a pH vrednost niža od 5,5 uzrokuje agregaciju proteina [53].

Rastegljivost testa zavisi od koncentracije obe kiseline i njihove interakcije (tabela 4). Stoga je sveukupni efekat krivolinijski po svojoj prirodi (slika 4). Na nižoj koncentraciji kiselina dolazi do povećanja rastegljivosti testa pri čemu limunska kiselina ima veći uticaj od askorbinske. Sa kvadratnim povećanjem njihovih koncentracija dolazi do smanjenja rastegljivosti testa. Međutim, efekat interakcije je pozitivan na rastegljivost testa što znači da postoji sinergistički efekat askorbinske i limunske kiseline u pogledu poboljšanja osobine testa na rastezanje.



Slika 4. Uticaj koncentracije askorbinske i limunske kiseline na rastegljivost testa.

Figure 4. Influence of ascorbic and citric acid on dough extensibility.

Optimizacija koncentracije askorbinske i limunske kiseline

U predhodnom analiziranju uticaja koncentracije askorbinske i limunske kiseline uočeno je da od primenjene doze ispitivanih kiselina zavise važne fizičke osobine testa kao što su: energija, otpor i rastegljivost. S ciljem dobijanja testa sa najboljim performansama od datog kvaliteta brašna sproveden je postupak optimizacije koncentracija askorbinske i limunske kiseline, a uslovi optimizacije prikazani su u tabeli 5. Tabela 5 prikazuje opseg vrednosti ulaznih parametara i posmatranih odziva, kao i cilj optimizacije i vrednost značajnosti dodeljene svakom parametru. Funkcija poželjnosti je odabrana tako da maksimizira energiju i rastegljivost testa, a ukupna željena funkcija da ima vrednost što bližu 1. Na odluku da se odzivi: energija i rastegljivost testa uključe u proces optimizacije uticala je vrednost

Tabela 5. Uslovi i rezultati optimizacije koncentracije askorbinske i limunske kiseline u cilju maksimiziranja vrednosti energije i rastegljivosti testa

Table 5. Optimum conditions of ascorbic and citric acids to maximize dough energy and extensibility

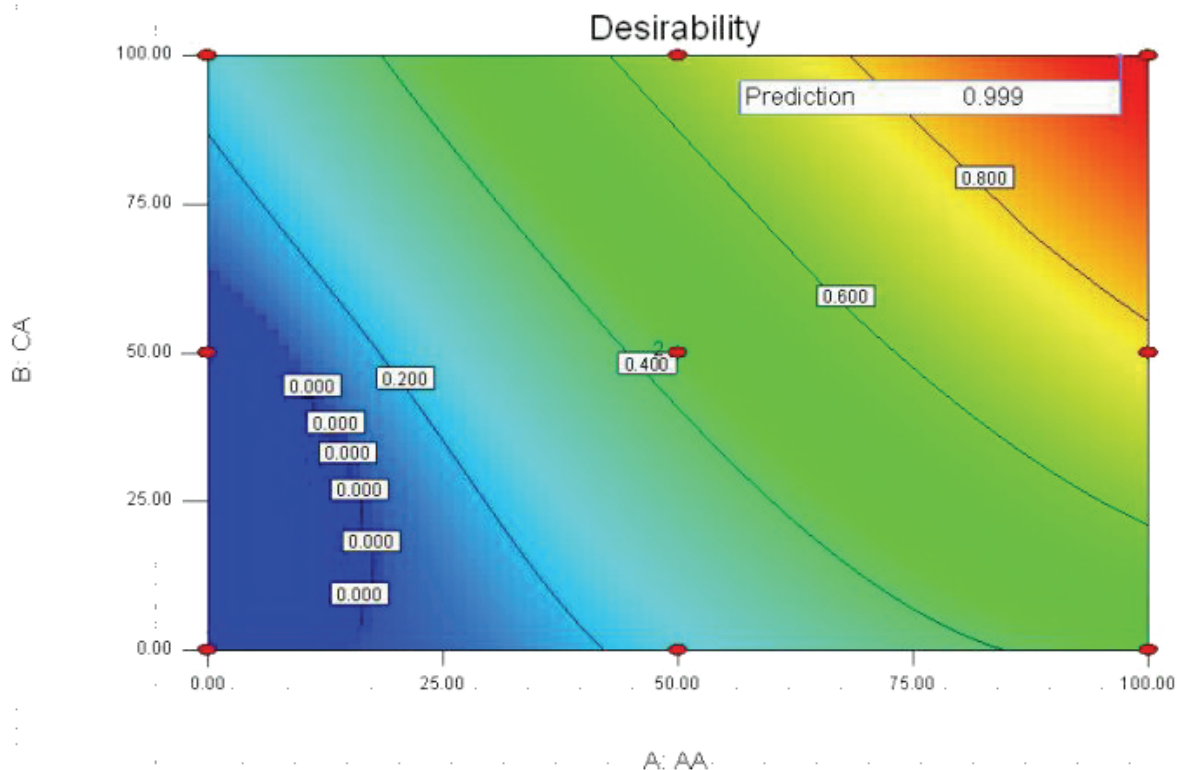
| Faktori i odzivi | Cilj | Viši nivo | Niži nivo | Značajnost | Rešenje |
|-----------------------------|---------------|-----------|-----------|------------|---------|
| Askorbinska kiselina, mg/kg | Unutar opsega | 0 | 100 | 3 | 97 |
| Limunska kiselina, mg/kg | Unutar opsega | 0 | 100 | 3 | 100 |
| Energija, cm ² | Maksimum | 4,0 | 18,0 | 5 | 18,5 |
| Rastegljivost, mm | Maksimum | 92,0 | 139,0 | 5 | 138,7 |

Spearmanovog koeficijenta korelacije (tabela 2), koji pokazuje da je veza kompletnog tretmana sa energijom i rastegljivošću testa veća od veze sa otporom testa. Osim toga efekat interakcije kiselina na ova dva odziva je statistički signifikantan, dok efekat interakcije statistički nije značajan na vrednost otpora testa. Optimalne vrednosti ispitivanih parametara kvaliteta testa zavise od dodeljenih nivoa značajnosti za posmatrane odzive, a rangirani su od 1 do 5 [54]. Oba odziva i energija i rastegljivost su značajni za kvalitet testa, za njegovo ponašanje pri obradi, kao i za kvalitet gotovog proizvoda [1,2], s toga je dodeljeni rang značajnosti za ova odziva isti i iznosi 5 (tabela 5).

U tabeli 5 su dati rezultati optimizacije, a na slici 5 prikazan je konturni dijagram ukupne željene funkcije, odnosno njena promena sa promenom vrednosti kon-

centracije askorbinske i limunske kiseline. Optimalna vrednost za energiju od 18,5 cm² i rastegljivost od 138,7 mm (tabela 5) postignuta je pri maksimalnoj vrednosti oba parametra, tačnije pri koncentraciji askorbinske kiseline od 97 mg/kg i koncentraciji limunske kiseline od 100 mg/kg. Na konturnom dijagramu jasno se uočava sinergistički efekat askorbinske i limunske kiseline koji je neophodan za postizanje maksimalno moguće vrednosti za energiju i rastegljivost testa od brašna niskog tehnološkog kvaliteta (nizak sadržaj proteina i početna niska energija po ekstenzogramu).

Urađen je novi eksperiment određivanja energije i rastegljivosti testa sa optimalnim koncentracijama askorbinske (97 mg/kg) i limunske (100 mg/kg) kiseline i pri tome su dobijeni rezultati za energiju 18,8 cm² i rastegljivost 141,2 mm bili blizu predviđenih rezultata za



Slika 5. Zavisnost ukupne zeljene funkcije od koncentracije askorbinske i limunske kiseline kod procesa poboljšanja testa od brašna niskog tehnološkog kvaliteta.

Figure 5. Dependence of overall desirability function from dose of ascorbic acid and citric acid in the process of improving dough from low quality wheat flour.

energiju ($18,5\text{cm}^2$) i rastegljivost (138,7 mm), što potvrđuju niske vrednosti koeficijenta varijacije 3,14% za energiju i 8,21% za rastegljivost. Navedena činjenica, kao i vrednost ukupne željene funkcije od 0,999 pokazuju da su modeli adekvatno predvideli ponašanje testa, odnosno pokazali mogućnost poboljšanja energije i rastegljivosti testa dodatkom smeše askorbinske i limunske kiseline.

ZAKLJUČAK

Dodatak smeše askorbinske i limunske kiseline menja fizičke osobine pšeničnog testa od brašna niskog tehnološkog kvaliteta u pravcu porasta energije i rastegljivosti testa. Primenom statističke metode za optimizaciju ustanovljeno je da su koncentracije od 97 mg/kg za askorbinsku i 100 mg/kg za limunsku kiselinu optimalne za postizanje maksimalne vrednosti energije od $18,8\text{ cm}^2$ koja je za 4,7 puta veća od početne. Primenom optimalnih koncentracija askorbinske i limunske kiseline postiže se rastegljivost testa od 141,2 mm, što je za 1,5 puta veća od početne.

Uticaj askorbinske kiseline na testu sa niskom početnom energijom reflektuje se preko smanjenje sadržaja slobodnih SH grupa, povećanja energije, otpora i rastegljivosti testa. Dodatak limunske kiseline uzrokuje smanjenje pH vrednosti testa, sadržaj slobodnih SH grupa i menja rastegljivost testa.

Pozitivno sinergističko delovanje askorbinske i limunske kiseline je značajno zbog porasta vrednosti energije i rastegljivosti testa. Efekat porasta energije testa od brašna niskog tehnološkog kvaliteta sa smešom kiselina ($b_{12} = 0,076$) veći je u odnosu na efekat koji se dobija primenom samo askorbinske kiseline ($b_1 = 4,000 \times 10^{-4}$). Značajan je uticaj interakcijskog dejstva posmatranih kiselina i na rastegljivost testa.

Adekvatnost predikcionog modela za energiju, otpor i rastegljivost pruža mogućnost primene dobijenih rezultata u poluindustrijskim i industrijskim postrojenjima za preradu brašna.

Zahvalnica

Istraživanja prikazana u radu finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u okviru projekta III-46005.

LITERATURA

- [1] E.J. Pyler (Eds), Baking Science & Technology, Volume I, Siebel Publishing Company, 1973, pp. 834–896.
- [2] L.J. Auerman, Tehnologija pekarske proizvodnje, drugo izdanje, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1988, str. 22–28.
- [3] A.H. Bloksma, I. Hlynka (Eds.), Basic considerations of dough properties. Wheat: chemistry and technology, Charper 11, A.A.C.C. St. Paul, Minnesota, 1964, pp. 456–526.
- [4] H. Matsumoto, I. Hlynka, Some aspects of the sulphhydryl disulfide system in flour and dough, Cereal Chem. **36** (1959) 513–519.
- [5] W. Bushuk, Accessible sulfhydryl groups in dough, Cereal Chem. **38** (1961) 438–445.
- [6] A.H. Bloksma, W. Bushuk, Rheology and chemistry of dough, in: Wheat Chemistry and Technology, 3rd ed., Pomeranz, Y. (Ed.), Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN, 1988, pp. 131–217.
- [7] L.H. Krull, J.S. Wall, Relationship of amino acid composition and wheat protein properties, Baker's Dig. **43** (1969) 30–39.
- [8] R. Cecil, R.G. Wake, The reaction of inter- and intrachain disulfide bonds in proteins with sulphite, Biochem. J. **82** (1962) 401–406.
- [9] W. Schubert, Ummantelte Stoffe als funktioneller Rezepturbestandteil für Backwaren, Getreide, Mehl Brot **54** (2000) 223–230.
- [10] Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine, „Sl. list SC“, br. 56/2003, 4/2004- dr. Pravilnici, 5/2004- ispr. i 16/2005.
- [11] G. Faccio, L. Flander, J. Buchert, M. Saloheimo, E. Nordlund, Sulfhydryl oxidase enhances the effects of ascorbic acid in wheat dough, J. Cereal Sci. **55** (2012) 37–43.
- [12] P. Maltha, Über den Einfluß von l-Ascorbinsäure und Verbindungen mit verwandter Struktur auf die Backfähigkeit des Mehles, Getreide und Mehl **3** (1953) 65–69.
- [13] W. Grosch, Mechanismus der Ascorbinsäurewirkung, Getreide, Mehl Brot **52** (1998) 267–269.
- [14] R. Frater, F.J.R. Hird, The reaction of glutathione with serum albumin, gluten and flour proteins, Biochem. J. **88** (1963) 100–105.
- [15] C.C. Tsen, The improving mechanism of ascorbic acid, Cereal Chem. **42** (1965) 86–96.
- [16] O. Šimurina, J. Mastilović, B. Filipčev, S. Milošević, A. Novaković: Effect of ascorbic acid on gas retention, dough development and bread quality obtained from flour of different technological quality, Proceedings of the I International Congress „Food Technology, Quality and Safety“, Institute for Food Technology Novi Sad, 2007, pp. 185–191.
- [17] O. Šimurina, J. Mastilović, S. Milošević, B. Filipčev: Tehnološki aspekti delovanja pojedinih aditiva i enzima na kvalitete hleba u zavisnosti od kvaliteta brašna, Žito-hleb **33** (2006) 61–68.
- [18] [D. Horvat, G. Drezner, D. Magdić, G. Šimić, K. Dvojković, J. Lukinac, Effect of an oxidizing improver on dough rheological properties and bread crumb structure in winter wheat cultivars (*Triticum Aestivum* L.) with different gluten strength, Rom. Agric. Res. **26** (2009) 35–40.
- [19] R. Bennet, J.A.D. Ewart, The reaction of acid with dough proteins, J. Sci. Food Agric. **13** (1962) 15–23.
- [20] K. Tanaka, D. Furukawa, H. Matsumoto, The effect of acid and salt on farinogram and extensigram of dough, Cereal Chem. **44** (1967) 675–680.
- [21] A.M. Galal, E. Varriano-Marston, J.S. Johnson, Rheological dough properties as affected by organic acids and salt, Cereal Chem. **55** (1978) 683–691.

- [22] S. Drage, D. Wilkinson, The importance of Hydrogen Ion Concentration, Acid Base Balance, *Pharm.* **13** (2001) 1–3, http://www.nda.ox.ac.uk/wfsa/html/u13/u1312_01.htm (pristupljeno 10.04.2012).
- [23] S. Damodaran, J.E. Kinsella (Eds), *Food Protein Deterioration*, Chapter 13: Effects of Ions on Protein Conformation and Functionality, Society American Chemical, 1982, pp. 327–357.
- [24] A.P. Gulyaev, Protein Structure Prediction, <http://biotech.matcmadison.edu/resources/proteins> (pristupljeno 10.04.2012).
- [25] S. Drage, D. Wilkinson, The Hydrogen Ion and pH, Acid Base Balance, *Pharmacology* **13** (2001) 1–3, http://www.nda.ox.ac.uk/wfsa/html/u13/u1312_01.htm (pristupljeno 10.04.2012).
- [26] E.G. Bayfield, W.E Young, Flour brew studies. V. Effect of brew fermentation time. *Baker's Dig.* **38** (1967) 69–72.
- [27] K. Harinder, G.S. Bains, Studies on baking of high alpha-amylase flours: Effect of pH, salt and L-cysteine HCl in the dough, *Die Nahrung* **32** (1988) 481–490.
- [28] R. Ravi, R.P. Haridas, Factors influencing the response of improvers in commercial Indian wheat's flours, *LWT* **32** (1995) 36–41.
- [29] T. Wagner, Difference between citric acid & ascorbic acid, http://www.ehow.com/about_6517026_difference-citric-acid-ascorbic-acid.html (pristupljeno 10.4.12.)
- [30] J. Reinbold Ascorbic Acid vs Citric Acid, http://www.ehow.com/facts_5968918_ascorbic-acid-vs-citric-acid.html (pristupljeno 10.4.12.)
- [31] C.R. Soccoll, L.P.S. Vandenberghe, C. Rodrigues, A. Pandey, New perspectives for citric acid production and application, *Food Technol. Biotechnol.* **44** (2006) 141–149.
- [32] D. Davidović, S. Dodić, J. Mastilović, J. Dodić, S. Popov, M. Lazić, The application of natural organic compounds in bakery industry, *Hem. Ind.* **64** (2010) 411–421.
- [33] K. Wehrle, H. Grau, E.K. Arendt, Effects of lactic acid, acetic acid and table salt on fundamental rheological properties of wheat dough, *Cereal Chem.* **74** (1997) 739–744.
- [34] P. Kefalas, S. Kotzamanidis, D. Sabanis, A. Yupsani, L.A. Kefala, A. Kokkalis, T. Yupsanis, Bread making of durum wheat with chickpea sourdough or compressed baker's yeast, *J. Food Quality.* **32** (2009) 644–668.
- [35] A. Torbica, D. Živančev, J. Mastilović, D. Knežević, M. Borožić-Solarov, Impact of changes in climate conditions on the technological quality of wheat, *Proceedings of 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture*, Opatija, Croatia, 2011, pp. 617–621.
- [36] Á.B. Pongráczné, F. Paszternák, Z. Mezei, Z. Györi, P. Sipos, Examination of Extensigraph parameters of winter wheat (*Triticum aestivum*) flour, *PTEP.* **13** (2009) 317–319.
- [37] Lj. Đaković, Pšenično brašno, 4. izdanje, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1997, str. 138–140.
- [38] Pravilnik o kvalitetu žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa, "Sl. list SRJ" broj 52, 1995.
- [39] ICC Standard No. 115/1: Method for Using the Brabender Farinograph
- [40] Pravilnik o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa, "Sl. List SRJ" broj 74, 1988.
- [41] E. Maforimbo, G.R. Skurray, M. Nguyen, Evaluation of L-ascorbic acid oxidation on SH concentration in soy-wheat composite dough during resting period, *LWT* **40** (2007) 338–343.
- [42] ICC Standard No. 114/1: Method for Using the Brabender Extensograph
- [43] M. Žeželj, Tehnologija žita i brašna, knjiga II, Nip Glas javnosti, Beograd, 2005, str. 25–28.
- [44] O. Šimurina, Đ. Psodorov, B. Filipčev, S. Milošević, Prilog rešavanju problema pecivnih svojstava brašna od pšenice roda 2004. godine, *Žito-hleb* **6** (2004) 265–274.
- [45] B. Ikonić, Z. Zavargo, A. Jokić, Z. Šereš, G. Vatai, M. Peruničić, Microfiltration of wheat starch suspensions using multichannel ceramic membrane, *Hem. Ind.* **65** (2011) 131–138.
- [46] R. Bennett, J.A.D. Ewart, The reaction of acids with dough proteins, *J. Sci. Food Agric.* **13** (1962) 15–23.
- [47] C.C. Tsen, A note on effect of pH on sulfhydryl groups and rheological properties of dough and its implication with the sulfhydryl-disulfide interchange, *Cereal Chem.* **43** (1966) 456–460.
- [48] A.M. Galal, E. Varriano-Marston, J.A. Johnson, Rheological dough properties as affected by organic acids and salt, *Cereal Chem.* **55** (1978) 683–691.
- [49] R.C. Hosenev, R.A. Brown, Mixograph studies. V. Effect of pH. *Cereal Chem.* **60** (1983) 124–126.
- [50] H. Liu, Catalysts of lipid peroxidation in meats. 2. Linoleate oxidation catalyzed by tissue homogenates. *J. Food Sci.* **35** (1970) 593–595.
- [51] J.C. Parajo, J.L. Alonso, M.A. Lage, D. Vazquez, Empirical modeling of eucalyptus wood processing, *Bioprocess Eng.* **8** (1992) 129–136.
- [52] T. Lundstedt, E. Seifert L. Abramo, B. Thelin, Å. Nyström, J. Pettersen, R. Bergman, Experimental design and optimization, *Chemometr Intell Lab.* **42** (1998) 3–40.
- [53] H. Efrati, S. Hawgood, M.C. Williams, K. Hong, B.J. Benson, Divalent cation and hydrogen ion effects on the structure and surface activity of pulmonary surfactant, *Biochemistry* **26** (1987) 7986–7993.
- [54] Lj. Rožić, S. Petrović, Z. Vuković, T. Novaković, D. Stanislavljev, Optimalno faktorno planiranje procesa kiselinske aktivacije bentonita u mikrotalasnom polju, *Hem. Ind.* **65** (2011) 489–495.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE INFLUENCE AND OPTIMIZATION OF CONCENTRATION OF ORGANIC ACIDS ON CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES OF WHEAT DOUGH USING A RESPONSE SURFACE METHODOLOGY AND DESIRABILITY FUNCTION

Olivera D. Šimurina¹, Bojana V. Filipčev¹, Pavle T. Jovanov¹, Bojana B. Ikonić², Dragana M. Simović-Šoronja²

¹University of Novi Sad, Institute of Food Technology, Novi Sad, Serbia

²University of Novi Sad, Faculty of Technology, Novi Sad, Serbia

(Scientific paper)

In order to improve physical and chemical properties of dough produced from wheat flour of suboptimal quality (protein content 10.7% dry basis, dough energy 4.0 cm²), optimal doses of ascorbic and citric acid were evaluated using a response surface methodology and desirability function. The paper brings the analysis of the main effects as well as their interactions. The effect of organic acids was evident in relation to pH lowering and decrease in free thiol groups, which consequently changed the physical properties of dough (increased dough energy, extensibility and resistance). The well known oxidative effect of ascorbic acid which is manifested as increase in dough energy and resistance, was enhanced by the addition of citric acid, *i.e.*, their synergistic action. Contribution of citric acid was the donation of hydrogen ions which changed the pH, lowered the content of free –SH groups and increased protein aggregation. Ascorbic acid individually significantly increased energy (linear regression coefficient $b_1 = 4.0 \times 10^{-4}$) but higher effect was exerted by the addition of ascorbic and citric acid mixture as seen through higher interaction regression coefficient ($b_{12} = 0.076$). Dough resistance was significantly affected only by ascorbic acid due to its oxidizing action whereas dough extensibility was affected by both acids (main effects) at all applied doses and their mixtures. The effect on dough extensibility depends on the dose of acids but resistance decreased with quadratic increase of acid doses. Second-order polynomials were used in modeling of responses (dough energy, resistance and extensibility) which showed a good fit with experimental data as shown by high values of the coefficients of determination R^2 for energy, resistance and extensibility (0.953, 0.976 and 0.996, respectively). Based on F value, it could be concluded that the model gave good prediction of experimental data while p -values for all responses showed that the models were significant at significance of 90%. The obtained models were used to optimize the doses of ascorbic and citric acid in order to maximize dough energy and extensibility. Significant increase of dough energy by 4.7 times and extensibility by 1.5 times was achieved by the set of optimum conditions of 97 mg/kg citric and 100 mg/kg ascorbic acid. The obtained results are applicable in semi-industrial and industrial facilities for flour processing.

Keywords: Ascorbic acid • Citric acid • Dough energy • Dough extensibility • Regression models • Optimization