

ODREĐIVANJE SADRŽAJA HELJDE U HLEBU ANALIZOM METIL ESTARA DOMINANTNIH MASNIH KISELINA

Marijana Ačanski, Kristian Pastor, Dorđe Psodorov, Snežana Kravić, Radojka Razmovski, Đura Vujić

Izvod: Pet uzoraka hleba je pripremljeno mešanjem pšeničnog i heljdinog brašna. Udeo heljdinog brašna je povećavan od 0, 20, 40, 50 do 60%. Ekstrakcijom sa heksanom iz kore i sredine hleba su ekstrahovane masne kiseline, koje su derivatizovane sa TMSH (trimetilsulfonijum hidroksid u metanolu) i podvrgnute analizi na GC-MS uređaju. Integrisana je površina metil estara najzastupljenijih masnih kiselina. Pri obradi rezultata primenjena je i multivarijantna analiza. Dobijeni rezultati pokazuju jasnu vezu između sadržaja metil estara dominantnih masnih kiselina i procenta heljde u hlebu.

Ključne reči: heljda, hleb, metil estri dominantnih masnih kiselina, GC-MS, multivarijantna analiza

Uvod

Heljda se uzgaja vekovima unazad, a trenutno predstavlja jedan od najvažnijih alternativnih useva i dragocen sirov materijal za proizvodnju funkcionalne hrane.

Zrno heljde sadrži 1,5-4% ukupnih lipida, a sadržaj masti u brašnu heljde je veći od 3%. Sadržaj lipida zrna heljde varira u zavisnosti od sorte heljde, lokaliteta na koje se ona gaji, a razlike se mogu javiti i usled različitog vremena setve (Wijngaard i Arendt, 2006.). Dominantne masne kiseline zrna heljde su nezasićene masne kiseline (18:1 i 18:2) i zasićene masne kiselina (16:0 i 18:0) (Bonafaccia i sar., 2003.), tabela 1.

Tipični sastav od 80% nezasićenih masnih kiselina i više od 40% polinezasićene esencijalne masne kiseline – linolne kiseline, čini heljdu nutritivno superiornom u pogledu sastava masnih kiselina u odnosu na zrna žitarica (Steadman i sar., 2001.). Sadržaj dominantnih masnih kiselina u različitim vrstama heljde (obična, tatarska i nova vrsta heljde) i pšenice prikazan je u tabeli 1.

Marijana Ačanski (autor za kontakte), Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (macanski@tf.uns.ac.rs)

Kristian Pastor, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (pastor@tf.uns.ac.rs)

Dorđe Psodorov, Univerzitet u Novom Sadu, Institut za prehrambene tehnologije, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (djordje.psodorov@fins.uns.ac.rs)

Snežana Kravić, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (sne@uns.ac.rs)

Radojka Razmovski, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (razmovski@tf.uns.ac.rs)

Đura Vujić, Univerzitet u Novom Sadu, Institut za prehrambene tehnologije, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija (djuravujic@gmail.com)

Tabela 1. Sastav dominantnih masnih kiselina zrna heljde i pšenice (g/100 g ukupnih masnih kiselina)

Table 1. Dominant fatty acid content of buckwheat and wheat grains (g/100 g of total fatty acids)

Masna kiselina <i>Fatty acid</i>	Bonafaccia i sar., 2003.	Bonafaccia i sar., 2003.	Kim i sar., 2004.	Márton i sar., 2010.
	Obična heljda <i>Common buckwheat</i>	Tatarska heljda <i>Tartaric buckwheat</i>	Nova vrsta heljde <i>New buckwheat species</i>	Pšenica <i>Wheat</i>
Palmitinska (C16:0) <i>Hexadecanoic</i>	15,6	19,7	17,7	31,2
Stearinska (C18:0) <i>Octadecanoic</i>	2,0	3,0	1,8	1,9
Oleinska (C18:1) <i>9-Octadecenoic</i>	37,0	35,2	36,8	10,7
Linolna (C18:2) <i>9, 12-Octadecadienoic</i>	39,0	36,6	38,1	25,6

U ranijim istraživanjima smo pokazali da je moguće na osnovu analize metil estara masnih kiselina liposolubilnih (heksanskih) ekstrakata brašna, razlikovati brašno heljde od brašna pšenice (Ačanski i sar., 2015.).

Cilj ovog rada je da se, na brz i relativno jednostavan način, utvrdi mogućnost diferencijacije hleba od pšenice sa dodatkom heljde, formiranjem dendrograma korelacija sastava liposolubilnog ekstrakta kore i sredina pet uzoraka hleba. Udeo heljde je povećavan od 0, 20, 40, 50 do 60%. U cilju analize liposolubilnih frakcija korišćena je gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom.

Materijal i metode rada

Napravljano je 3 puta po pet uzoraka pšeničnog hleba, pri čemu je udeo heljde povećavan od 0, 20, 40, 50 i 60%. Oznake analiziranih kora hleba su: K-1 (kora čistog pšeničnog hleba); K-2 (kora hleba sa dodatkom 20% heljdinog brašna); K-3 (kora hleba sa dodatkom 40% heljdinog brašna); K-4 (kora hleba sa dodatkom 50% heljdinog brašna); K-5 (kora hleba sa dodatkom 60% heljdinog brašna). Oznake analiziranih sredina hleba su: S-1 (sredina čistog pšeničnog hleba); S-2 (sredina hleba sa dodatkom 20% heljdinog brašna); S-3 (sredina hleba sa dodatkom 40% heljdinog brašna); S-4 (sredina hleba sa dodatkom 50% heljdinog brašna); S-5 (sredina hleba sa dodatkom 60% heljdinog brašna).

U kivetu za centrifugiranje od 12 mL odmereno je 1 g hleba sa tačnošću 0,01 g. U kivetu je dosuto 5 mL n-heksana i mešano na mešalici (Vortex) 2 minuta, a zatim je sadržaj centrifugiran na 2000 o/min u trajanju od 5 minuta. Uzeto je 3 mL bistrog supernatanta, preneto u čašu od 10 mL i ostavljeno da upari na sobnoj temperaturi. Od uljastog ostatka je uzeto 10 µL i rekonstituisano u 400 µL metanola i dodato je 100 µL reagensa za transesterifikaciju: Trimetilsulfonijum-hidroksid (TMSH) u 0,2M u

metanolu (Macherey-Nagel). Ovom reakcijom transesterifikacije više masne kiseline iz acilglicerola esterifikuju se u metil-estre.

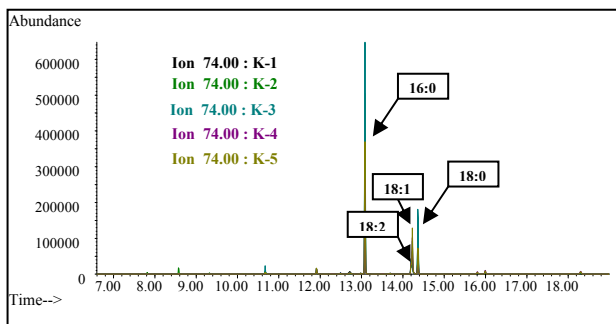
Sva ispitivanja su urađena na gasno-masenom (GC-MS) hromatografskom sistemu, (Agilent Technologies 7890), zajedno sa MSD 5975 opremom (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), koje rade u sistemu EI režima na 70 eV. Korišćena je DB-5 MS kolona (dimenzije kolone: dužina 30 m, unutrašnji prečnik 0,25 mm i debljine filma 25 µm). Temperaturni program je bio: 50-130°C na 30°C/min i 130-300°C na 10°C/min. Temperatura injektora je bila je 250°C. Protok gasa nosača (helijum) je 0,8 mL/min. Split odnos 1:50 je korišćen za ubrizgavanje 1 µL rastvorenog uzorka. Rađene su tri probe za svaki uzorak.

Za analizu masenim spektrometrom korišćena je baza podataka WILEY 275.

Za statističku obradu srednjih vrednosti podataka korišćen je program PAST (Hammer i sar., 2001.).

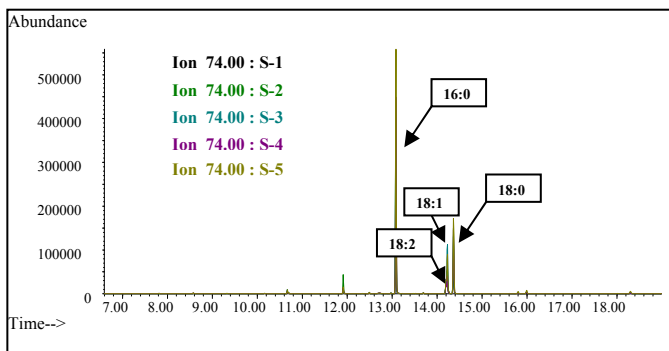
Rezultati istraživanja i diskusija

Na slikama 1 i 2 prikazani su preklapljeni SIM (selected ion monitoring) hromatogrami pet uzoraka heksanskih ekstrakata kore, odnosno sredine hleba. Kao što se sa obe slike vidi redosled eluiranja dominantnih metil estara masnih kiselina je: C16:0, C18:2, C18:1 i C:18:0.



Slika 1. Preklapljeni SIM hromatogrami kora hleba sa različitim udelom heljdnog brašna (K-kora)

Figure 1. Overlaid SIM chromatograms of crusts with different buckwheat flour contents (K-crust)



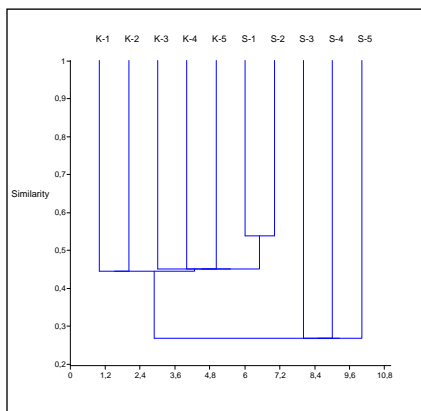
Slika 2. Preklapljeni SIM hromatogrami sredina hleba sa razliĉitim udelom heljdinog brašna (S-sredina)

Figure 2. Overlaid SIM chromatograms of crumbs of bread with different buckwheat flour contents (S-crumb)

Hromatogrami metil estara dominantnih masnih kiselina, slike 1 i 2, su izdvojeni sa TIC (Total ion chromatogram) hromatograma selektovanjem jona 74 Da.

Kao što se sa dobijenih hromatograma vidi, sličnost između uzoraka kora hleba, kao i sredina hleba je veoma velika.

Multivarijantna analiza je pogodna za brzo identifikovanje suštinskih razlika između analiziranih uzoraka. Na slici 3 prikazan je dendrogram Paired group-korelacije. Ispitane su mnogi vidovi korelacija koji pokazuju da se uzorci kore i sredine hleba od pšenice, kao i uzorci sa razliĉitim dodatkom heljde (20, 40, 50 i 60%), sasvim sigurno i potpuno razlikuju međusobno, u svim slučajevima.



Slika 3. Dendrogram kora i sredina hleba sa razliĉitim udelom heljdinog brašna

Figure 3. Dendrogram of crusts and crumbs of bread with different buckwheat flour contents

Zaključak

U ovom radu je pokazano da se analizom metil estara dominantnih masnih kiselina, mogu sasvim pouzdano međusobno razlikovati uzorci kore i sredine čistog pšeničnog hleba, od uzoraka sa dodatkom 20, 40, 50 i 60% heljde. Rezultati dobijeni u ovim istraživanjima su u saglasnosti sa rezultatima da se za potvrdu autentičnosti hleba od heljde mogu upotrebiti i drugi mali molekuli, pogodni za analizu za GC-MS, npr. prosti šećeri (Psodorov i sar., 2014.).

Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta „Praktična metoda za kontrolu kvaliteta hleba dobijenog supstitucijom pšeničnog brašna heljdinim brašnom“, koji finansira Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj Vojvodine (Projekat br. 114-451-1361/2014-1).

Literatura

Ačanski M., Vujić Đ., Psodorov Đ., (2015). Practical method for the confirmation of authentic flours of different types of cereals and pseudocereals. *Food Chemistry*. 172: 314-317.

Bonafaccia G., Marocchini M., Kreft I. (2003). Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*. 80: 9-15.

Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. (2001). *PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis*, 1: 4–11. Oslo, Norway: Palaeontologia Electronica.

Kim S. L., Kim S. K., Park C. H. (2004). Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Research International*. 37: 319-327.

Mazza G. (1988). Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. *Cereal Chemistry*. 65: 122-126.

Márton M., Mándoki Zs., Csapó J. (2010). Evaluation of biological value of sprouts: I. Fat content, fatty acid composition. *Acta Universitatis Sapientiae Alimentaria*. 3: 53–65.

Psodorov Đ.B., Vujić Đ.N., Ačanski M. M., Pastor K.A., Razmovski R.N., Kravić S.Ž. (2014). The content of buckwheat flour in wheat bread, *Acta Periodica Technologica*. 45: 79-87.

DETERMINATION OF BUCKWHEAT CONTENT IN BREAD BY ANALYZING METHYL ESTERS OF DOMINANT FATTY ACIDS

*Marijana Ačanski, Kristian Pastor, Đorđe Psodorov, Snežana Kravić,
Radojka Razmovski, Đura Vujić*

Abstract

Five samples of bread were prepared by mixing wheat and buckwheat flour. The content of buckwheat flour is raised from 0, 20, 40, 50 to 60%. Fatty acids were extracted from bread crusts and crumbs using n-hexane, and derivatised with TMSH (trimethylsulfonium hydroxide in methanol). Fatty acid methyl esters were then subjected to GC-MS analysis. The surface areas of the most abundant fatty acid methyl esters were integrated, and further subjected to the multivariate data analysis. The results show a clear relationship between the content of dominant fatty acid methyl esters and content of buckwheat flour in bread.

Key words: buckwheat, bread, methyl esters of the dominant fatty acids, GC-MS, multivariate analysis

Marijana Ačanski (corresponding author), University of Novi Sad, Faculty of Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (macanski@tf.uns.ac.rs)

Kristian Pastor University of Novi Sad, Faculty of Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (pastor@tf.uns.ac.rs)

Đorđe Psodorov, University of Novi Sad, Institute of Food Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (djordje.psodorov@fins.uns.ac.rs)

Snežana Kravić University of Novi Sad, Faculty of Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (sne@uns.ac.rs)

Radojka Razmovski University of Novi Sad, Faculty of Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (razmovski@tf.uns.ac.rs)

Đura Vujić, , University of Novi Sad, Institute of Food Technology, Car Lazar Boulevard 1, 21000 Novi Sad, Serbia (djuravujic@gmail.com)