

Проф. др Љ. МИЛАТОВИЋ
БТО, Технолошки факултет — Загреб

Седиментациони тест одређивања квалитета глутена по Zeleny-у у неким нашим типовима брашна

(ДОМАЋИХ И СТРАНИХ СОРАТА ПШЕНИЦЕ)

У циљу утврђивања квалитетних фактора глутена (лијеп-ка), данас се у многим институтима свијета проучава и седиментациона метода по Zeleny-у. Она се састоји у томе, да се воденој суспензији брашна у посебно градуираним цилиндрима додаје алкохолна отопица мљечне киселине одређене концентрације. У компонентама брашна одређене гранулације и садржаја настају промјене, и то углавном бубрење и топљење протеина. На темељу тих промјена које се мјере, одређује се и квалитет дотичног брашна. По старијој методи обично се мјери волумен сталоженог брашна у мл и то након стајања суспензије брашна у контакту са мљечном киселином за одређено вријеме (5 минута). Висина седимента брашна назива се „седиментациони тест“.

Но, није се на томе стало, тј. да се мјери само висина седимента, односно другим ријечима, моћ бубрења глутена, него су се испитивале и количине и врсте топљивих протеина у алкохолној отопини мљечне киселине. Исто тако су се успоређивале вриједности седиментационог теста са вриједностима археолошких испитивања особина брашна тј. способностима тијеста да производи и задржава плинове, јер те двије особине и чине пекарске квалитете брашна (пецивост).

Седиментациона метода данас још није усавршена и није довољно тачна, премда је новија метода механизана уз помоћ Миагових апарата, па служи само за грубље диференцирање

пшенице са slabим, добрим и одличним пецивним способностима, односно глутеном. Метода се ипак, може користити у селекцији различитих сората пшенице, па је због тога детаљно и описујемо*.

Употреба мљечне киселине заснива се на својству, што она у концентрацијама 0,4 до 0,5% стимулира бубрење глутена. Међутим, јаче концентрације не само ње, него и других органских киселина, негативно дјелује на физикална својства глутена и тако оштећују пецивост брашна.

Данас се проучава однос седименталног броја бубрења (S) и количине протеина у житу (P) или брашна (P') тј. $\frac{S}{P}$ и $\frac{S}{P'}$ као

и односи седименталног теста и волумена круха. Тим испитивањима утврђено је да постоји позитивна корелација вриједности између висине седиментационог теста и рандмана волумена круха.

Но, за потпун успјех Zeleny-методе седиментације потребно је осигурати:

- а) да брашно има честице од 50 до 150 микрона дијаметра;
- б) да не буде у њему више од 0,7% пепела;
- ц) потребне кемакалије и други прибор, те
- д) да има воде у брашну 14,0%, односно мора се налаз прерачунати на 14% воде према формули:

$$S_i = \frac{S_{br} \cdot (100 - 14)}{100 - S_{p.v}}$$

Објашњења:

- S_i — исправљена седиментациона вриједност
 S_{br} — очитани седиментациони број
 $S_{p.v}$ — стварни постотак воде у брашну

Техника припреме реагенса

У нашим условима (с обзиром да у институтима немамо Миагов млин за мљењење жита одређене гранулације) потребно је просијати жито на ситима одређених величина очица и узети фракције од 50 до 150 микрона. То су углавном бијела и полубијела брашна са највише до 0,7% пепела. Мијешање се може обављати руком.

* У оквиру Међународног удружења за кимију цереалија са сједиштем у Вечу, чији је члан и аутор, (I. С. С.) међу многим групама за студије, оформљена је и група за студије и примјену Zeleny — теста у анализи квалитете пшеница.

Најбитније је припремити отопину мљечне киселине, односно обје отопине, као реагенсе, и то:

- а) отопину I и
- б) отопину II.

Отопина I представља отопину бром-фенол-плавила, а припрема се тако, да се у 1 литар дестиловане воде отопи 4 мг бром-фенол-плавила. Отопина се мора добро промућкати у литреној боци.

Отопина II представља отопину мљечне киселине, коју треба претходно припремати (прокувати) тако да буде 2,78 нормалитета. Затим се од ње направи реагенс, тј. отопина 0,5 n мљечне киселине и 20% изопропилног алкохола.

Да би се припремила мљечна киселина 2,78 n потребно је узети 250 ml 85% мљечне киселине у Erlenmeyerovu посуду, затим долити 750 ml дестилиране воде. Отопину треба кувати са неколико стаклених куглица уз куглично повратно хладило без губитака. Познато је, да концентрована мљечна киселина садржи асоциране молекуле, које при разређивању теже ка равнотежној дисоцијацији. Кувањем се та равнотежна дисоцијација убрзава. Кува се 6 сати и након тога се мора утврдити да ли има 2,78 нормалитет. Тек тада се од тако припремљене мљечне киселине отпишетира 180 ml и прелије у Erlenmeyerovu посуду, те дода 200 ml 99—100% изопропилалкохола. Затим се пажљиво промијеша и допуни до 1000 ml дестилираном водом. Отопину треба одмах херметички затворити и оставити 48 сати на миру. Тиме смо припремили прву отопину за рад.

Техника рада

Од већ испитаног брашна (у брашну треба претходно испитати: садржај пепела, постотак воде, гранулацију, те постотак влажног љепка и евентуално структурални и протеолитични број — квалитетни број бубрења по Berlineru), узме се 3,2 g и саспе у градуирани цилиндер од 100 cm, унутрашње висине 180 до 185 mm са брушеним чепом. Брашно треба сасути пажљиво на дно цилиндра; затим се у цилиндар (на брашно) сипа 50 ml отопине I (бром-фенол-плавила), али пажљиво уз унутрашњи зид цилиндра, и цилиндер затвори брушеним чепом. Тако се припреми 2—5 цилиндра врло брзо (а ако се нема рутине, онда се почиње радити са два цилиндра). Затим се садржај цилиндра мијеша, али не и мућка, већ се цилиндри пажљиво нагињу у рукама и то тако, да су час врх са чепом, а час дно окренути навише, односно наниже. То мијешање траје 5 минута, а након тога се цилиндри оставе да стоје 5 минута.

Послије тога се цилиндри отворе и у садржину се долијева 25 ml отопине II/0,5 n мљечне киселине са 20% изопропил алко-

холом) и то опет низ зид цилиндра. Поново се зачепи и, ако их је више, повежу гумицом, а онда се узму при дну лијевом руком и поставе на сто, а десном се руком прихвате за врхове и пажљиво окрећу врхови око базе, правећи при томе нагиб тако да текућина долази нешто ниже испод чепа. То полуротирање траје 30 секунди. Послије тога се цилиндри оставе 5 минута и одмах након тога читава се висина талога брашна. *Директно читавање талога даје седиментациону вриједност у милиметрима, по старијој методи Zeleny-а.*

Висина талога се креће од 10—60 и у том распону су направљене квалитетне групе глутена, како то показује ова табела:

Седиментациона вриједност у мл	Оцјена квалитета пецивости брашна
Изнад 35	добра — врло добра
Од 34 до 16	довољна
Испод 15	слаба

Нека властита испитивања у Италији и СФРЈ

Ми смо испитивали седиментациони тест брашна талијанских пшеница у Центру за проучавање цереалија у Риму, у току 1962. године. Узроци чистих сората су самљевени на Bühlerovom лабораторијском млину, просијали кроз газу № 20 и добили смо фино брашно гранулације сса 100—160 микрона и са 0,72 пепела. За поједине сорте рода 1961. године из различитих крајева Италије, добијане су слиједеће вриједности (Милатовић 1962).

Број узорка	Сорта пшенице	% протеина у жити	Седиментациона вриједност (мл)	Специфична седиментациона вриједност S/P (г), седем. вр. по-дијељена са % протеина
10	San Pastore	12,00	15—16 (15,5)	1,29
12	Mara	13,48	18—22 (20)	1,49
5	Autonomia	12,79	18—23 (20,5)	1,60
6	Campodoro	12,17	16—18 (16,5)	1,35
7	Impeto	12,95	16—18 (17)	1,31

Исто тако смо наставили и нека испитивања неких наших типова брашна и то типови: „400“ — глатко, полуоштро и оштро, те тип „600“. Покуси су објављени на Биотехнолошком одјелу Технолошког факултета у Загребу, у јесен 1962. године (Шистек Јосип — дипломски рад) на колегију: Хемија и технологија цереалиа.

Покуси са брашном из наших млинова

Изабрали смо два млина и то: Загребачки паромлин и млин из Кутине.

Из Загребачког паромлина узели смо:

- а) Брашно тип „400“ — глатко,
- б) Брашно тип „600“ —

Оба брашна су потицала од мељаве мјешавине пшеница: 90% Hard Winter III класе, која је увезена, уз додатак 10% сорте San Pastore, произведене у околини Бакова из жетве 1962. године.

Из млина из Кутине узели смо:

- а) брашно тип „400“ глатко;
- б) брашно тип „400“ оштро и
- ц) брашно тип „400“ полуоштро.

Сва три типа брашна из Кутине потицала су од мељаве мјешавине пшеница: 50% из домаће производње жетве 1962. г. (San Pastore и друге сорте меркантилне мјешавине), 50% Hard Winter III класе из увоза.

Наведеном техником испитана брашна су показала ове седиментационе и друге вриједности (види табеле). Напомињемо да смо испитивали поред типа брашна и количину воде и друге вриједности, као % влажног лијека (испирано руком) и % протеина (по Kjeldahl методи), ради добијања потпуније слике о ваљаности методе.

Табела 1

РЕЗУЛТАТИ СЕДИМЕНТАЦИОНОГ ТЕСТА

Број узорака	Тип и по-ријекло брашна	% пепела	% воде	% влажног глутена	% протеина (Kjeldal)	Седиментациона вриједност у милилитр.	Исправљена седимент. вриједност	$\frac{S}{P}$ (ко-ефицијент)
5	400 глатко Загреб	0,389	14,35	35,65	12,40	22,0	22,1	1,78
5	600 глатко Загреб	0,625	14,18	34,73	12,10	20,5	20,6	1,70
5	400 глатко Кутина	0,416	14,04	32,89	11,70	18,0	18,1	1,55
5	400 полуоштро Кутина	0,423	14,13	31,95	11,50	16,0	16,1	1,40
5	400 оштро Кутина	0,428	14,01	31,22	11,20	14,0	14,0	1,25

ГРАНУЛАЦИЈА БРАШНА

Ред. бр.	Поријекло брашна	Тип брашна	Употребе- но сито	Број узорка	Гранулаци- ја у микр. од — до	Напомена: (остаци на ситу —)
1.	Кутина	„400“ глатко	10. XXX	5	до 155	0,40
2.	Кутина	„400“ полуоштро	10. XXX	5	155—220	16,4
3.	Кутина	„400“ оштро	6. XXX	5	195—310	14,7
4.	Згб. паромлин	„400“ глатко	10. XXX	5	до 155	0,10
5.	Згб. паромлин	„600“		5	(није испитивано)	

Из табеле 1 може се закључити, да је брашно по квалитету једва довољно, макар се радило о мјешавини Hard Winter и San Pastore (90 : 10), што говори о доста слабом квалитету увезене пшенице. У мјешавини са домаћим сортама (50 : 50) једва да задовољава постављену скалу група. Оштро брашно из Кутине дало је малу седиментациону вриједност и то због тога, што гранулација (види табелу 2) није одговарала прописима. То би се донекле рекло и за полуоштро брашно, тим прије што ваља успоредити вриједности $\%$ влажног лијепка, Јер, тип „400“ глатко из Кутине има само нешто више влажног лијепка, тј. 32,89% и седиментациону вриједност 18, док полуоштро има 31,95, али зато седиментациону вриједност 16, а оштро чак 14, што резултира из тога што је свакако гранулација брашна била изнад 150 микрона. Са радом смо наставили и у 1963. години и то са нашим и увозним пшеницама, успоређујући Зелену-тест за кимијским и физикалним анализама брашна. Резултати се сређују и биће објављени, кад средимо и податке за квалитет пшенице из жетве 1963. године.

ОДРЕЂИВАЊЕ ТОПИВИХ ПРОТЕИНА ПО ZELENY-U

(Страна искуства)

Осим методе седиментационог теста, у најновије вријеме се одређује и $\%$ топивих протеина у мљечној киселини по методи Zeleny-a. Поступак је сљедећи:

Узме се 10 gr брашна и размути у 50 ml отопине мљечне киселине (3,85%) у једној Erlenmeyer-овој посуди од 250 ml. Садржај се затим мућка у специјалном апарату по Stohmann-у, уз окретање 50—60 окретаја у минути. Затим се филтрира (SS—604) и из филтрата узима 20 ml отопине која се кјелдахлизира.

Користећи ту методу као и наведену за одређивање седиментационог теста (уз стандардизовану мељаву 65—75% екстракције и ручно мућкање), недавно је Maes (1962) у лабораторији Министарства привредних послова Белгије испитивао неких 100 узорака пшенице чистих и мијешаних типова пшеница из УСА, Канаде и пет европских земаља. Не само методом Zeleny-a, већ је ради упоређења испитивао и укупну количину протеина у жи-

ту и брашну, количину сухог лијепака, количину тзв. корисних бјеланчевина, тј. % бјеланчевина у испраном лијепаку, затим % упијања воде мјерене фаринографом по Brabenderu и вриједност енергије (W) према алвеограму по Chorinu. У табели 3 приказане су минималне и максималне вриједности квалитетних фактора код појединих испитивања.

Опћенито узевши, већина европских сората и типова пшеница даје мале вриједности, док сјеверно-америчке сорте и типови и неке француске сорте дају високе вриједности. Међутим, смјесе показују врло разноврсне вриједности појединих квалитетних фактора, већ према поступку мјешавина између глутенски бољих и слабијих пшеница.

Однос између резултата различитих метода изражен је путем корелационог коефицијента и то према слиједећој формули:

$$r = \frac{(x - \bar{x}) \cdot (y - \bar{y})}{(x - \bar{x})^2 + (y - \bar{y})^2}$$

$$M_r = \frac{1 - r^2}{n}$$

У овој формули вриједности су:

$$\bar{x} = \frac{y_1 + x_2 + y_3 + y_4 + \dots + x_n}{n}$$

$$y = \frac{y_1 + y_2 + y_3 + y_4 + \dots + y_n}{n}$$

M_r = средња грешка од r

n = број резултата свих серија од x до y .

Табела 3

МИНИМАЛНЕ И МАКСИМАЛНЕ ВРИЈЕДНОСТИ КВАЛИТЕТНИХ ФАКТОРА НЕКИХ ПШЕНИЦА (ПО MAES-U)

Ред. бр.	128 проба	Минималне граничне вриједности	Максимал. граничне вриједности
1.	Седиментациони тест	6	54
2.	% протеина толивих у мљечној киселини	5,7	13,6
3.	% укупних протеина у пшеници	8	17,0
4.	% укупних протеина у брашну	6,5	13,8
5.	% сувог лијепака	6	18,0
6.	% корисних протеина	5	15,0
7.	% упијања воде брашна по фаринограму	47	68,0
8.	Алвеограмска «W» вриједност по Chorin-u	48	368

Вриједност „ r “ је дата тачно у границама према \pm *Mr.* Корелација је врло добра када је $r = + 0,800$. То значи, да обје аналитичке методе дају практично исти разредни одјел. За корелациони коефицијент $+ 0,500$ до $+ 0,800$ однос је осредњи, док за вриједност r испод $+ 0,500$ може се узети да не постоји корелација између тих двију аналитичких метода.

Може се за примјер узети и корелациони коефицијент, гдје је:

$$r = \frac{\text{седиментациона вриједност}}{W. Chopin}$$

W. Chopin

Да се добије тачна вриједност седиментационог теста и корелациони коефицијент према рхеолошким методама анализа, односно њиховим вриједностима, започели смо детаљна испитивања, слично овима професора *Maesa* и то са нашим сортама и типовима пшенице. Резултати ће трајати још неколико мјесеци. Желимо да тачно утврдимо поузданост методе седиментације по *Zeleny*-у за наше високородне пшенице.

Јер, према најновијим страним радовима *Maes* је (1962) испитивао однос теста седиментације са олвеограмском вриједности „*W*“ (по *Chopinu*) и утврдио, као и раније *Quintana Mari* (1958), да што је седиментациона вриједност већа, то је и „*W*“ вриједност већа и обрнуто. Но треба знати, да на вриједност „*W*“ утиче и количина протеина брашна, а особито глутена.

Koppe је проучавао однос вриједности седиментационог теста према другим вриједностима као нпр. према укупној количини протеина у зрну и брашну, количини корисних бјеланчевина, количини суhog и влажног лијеjка, волумена хљеба, те различитим рхеолошким особинама тијеста. Но, то испитивање није детаљно довршено. Истина, *Bigalli* (1958) је нашао врло високи корелациони коефицијент између вриједности седиментације с једне стране и волумена хљеба.

Сам *Zeleny* је нашао прилично ниску корелациону вриједност између укупних протеина и седиментационог теста. Међутим, *Fajersonn* (1961) како то наводи *Maes*, нашао је „добро“ усклађивање садржаја бјеланчевине и седиментационе вриједности, па те вриједности стоје у позитивном пропорционалном односу. Али то вриједи за пшенице које имају изнад 10% укупних протеина.

Истраживања пак, са Брабендеровим инструментима нијесу комплетна. То је предмет даљих испитивања, како би се дошло до реалне оцјене о вриједности седиментационе *Zeleny*-методе технолошког одређивања квалитета глутена.

Премда седиментациони тест не даје потпуно тачну слику о квалитету протеина (глутена), он може послужити оријентационо при одређивању квалитета глутена и то само за брашно од-

ређене гранулације и садржаја пепела, а то је довољно за селекцију у ратарству и за праксу у млиновима и пекарама. Јер, нови Правилник о контроли квалитета жита и житних прерађевина нема ни један показатељ квалитета лијепка, те не може стимулирати производњу квалитетних пшеница. То тим више што количина влажног лијепка не мора дати и његов квалитет а квалитет је не само генетска особина, већ зависи и од технике ускладиштења, чувања и прераде жита.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- 1) Милатовић: Одређивање квалитета брашна методом седиментације (Зелену тест) „Кемија у индустрији“ № 11/1962, Загреб.
- 2) Милатовић: Савремене кемијске методе одређивања квалитета пшенице и брашна (скрипте) у рукопису, Загреб ВТО, Технолошки факултет: Предавање у ДИТ-у (13. III 1963), Загреб.
- 3) Maes i dr.: Mühle, годиште за 1962, Detmold.