



Characterizácia a diferenciácia maďarských a slovenských organických a konvenčných múk

MARTIN POLOVKA^{1*} – FERENC KAJDI² –
BLANKA TOBOLKOVÁ^{1,3} – MILAN SUHAJ¹

¹ Výskumný ústav potravinársky
Priemyselná 4, PO BOX 25, SK-824 75 Bratislava
Slovenská republika

² Nyugat-magyarországi Egyetem
Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar
Vár 2, HU-9200 Mosonmagyaróvár
Maďarská republika

³ Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464, CZ-612 00 Brno
Česká republika

ABSTRAKT

Na skupine dvadsiatich komerčne dostupných vzoriek hladkých, hrubých, polohrubých a celozrnných slovenských a maďarských pšeničných, ražných a špaldových múk, pripravených z obilnín pestovaných ekologickými resp. konvenčnými poľnohospodárskymi postupmi boli optimalizované extrakčné podmienky pre izoláciu funkčných komponentov. Atómová absorpčná spektrometria bola využitá na stanovenie kovov v múkach. Okrem toho boli vo vzorkách múk stanovené obsah sušiny a obsah popola v sušine. Pomocou EPR a UV-VIS spektroskopie sa sledovali antioxidačné (radikál-zhášajúce) vlastnosti, celkový obsah polyfenolov a koncentrácie flavonoidov v extraktoch múk v troch rozpúšťadlách – voda, 50% acetón/voda a 50% etanol/voda (v/v). Ako vyplýva z výsledkov EPR a UV-VIS meraní, druh extrakčného činidla výrazne ovplyvňuje zloženie extraktov, vrátane koncentrácie polyfenolov a flavonoidov. Z hľadiska výťažnosti týchto, tzv. funkčných zložiek, je najúčinnnejším extrahovadlom 50% acetón/voda, nasledovaný 50% etanol/voda, ktorých extrakčná účinnosť je porovnateľná, a voda s najmenšou extrakčnou účinnosťou. Z praktických dôvodov a z dôvodu ďalšieho potenciálneho využitia izolátov ako prídavných látok v potravinárskom priemysle, bol pre izoláciu zaujímavých komponentov z múk zvolený ako najvhodnejší extrakčný systém 50%-ná zmes etanol/voda. Na spracovanie veľkého súboru vzoriek a ich experimentálnych charakteristík boli využité viacrozmerné štatistické metódy – metóda hlavných komponentov a kanonická diskriminačná analýza na klasifikáciu a diskrimináciu vzoriek podľa zvolených kritérií. Úspešnosť resp. správnosť klasifikácie

je významne závislá na druhu extrahovadla. V prípade extraktov múk v 50% etanole, rekognoskačná schopnosť testovaná kanonickou diskriminačnou analýzou preukázala > 95% korektnú diskrimináciu vzoriek podľa krajiny pôvodu, diskriminácia podľa spôsobu pestovania dosiahla 90%, zatiaľ čo podľa spôsobu technologického spracovania (spôsob mletia) dosiahla 93% a podľa druhej skladby 100% správnosť klasifikácie.

Úspešnosť diskriminácie pre extrakty v 50% etanole a 50% acetóne bola porovnateľná u všetkých diskriminačných kritérií, kým u vodných extraktov bolo klasifikačné skóre v niektorých prípadoch nižšie o 5–10%. Ako najvýznamnejšie parametre pre diskrimináciu vzoriek podľa zvolených kritérií boli identifikované obsah kovov a minerálov, a tiež obsah flavonoidov resp. antioxidačná aktivita extraktov stanovená oboma spektroskopickými metódami, EPR a UV-VIS.

Kľúčové slová: Múka, extrakčné podmienky, antioxidačná aktivita, EPR, UV-VIS, multivariačná štatistika, klasifikácia.

*Autor pre korešpondenciu. Tel.: +421 2 5023 7149. Fax: +421 2 5557 1417.

E-mail: polovka@vup.sk (M. Polovka).

Poštová adresa: Oddelenie chémie a analýzy potravín,

¹ Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, P.O. Box 25, SK-824 75 Bratislava, Slovenská republika

Úvod

Obilniny a potraviny z obilnín tvoria podstatnú časť konzumovaných potravín v Európe, pričom dominujú výrobky obsahujúce pšenicu. Navyše, množstvo epidemiologických štúdií naznačuje, že konzumácia celozrnných výrobkov pomáha znižovať výskyt chronických ochorení, ako je diabetes, kardiovaskulárne ochorenia a rôzne druhy rakoviny. Väčšina z týchto pozitívnych účinkov cereálií je spojená s obsahom bioaktívnych látok, najmä vlákniny, vitamínov (najmä vitamíny skupiny B, tokoferolov a karotenoidov), minerálnych látok, a tiež fenolových látok resp. ďalších zložiek s potenciálnym antioxidačným účinkom (Fardet A. et al. 2008; Mellen P. et al. 2008; Tiwari U. et al. 2009).

Okrem tradičnej úlohy obilnín ako zdroja nutričov, v poslednom období aj v súvislosti so skutočnosťami uvedenými vyššie rastie použitie obilnín a / alebo využitie ich zložiek ako tzv. funkčných zložiek (komponentov) na výrobu funkčných potravín.

Podľa všeobecne zaužívej definície, funkčné potraviny sú potraviny, do ktorej bola pridaná nová zložka (zložky) čím získala pôvodná potravina nové alebo „vylepšené“ vlastnosti, často spojené s podporou zdravia alebo prevencie vzniku niektorých chorôb (Ashwell M. 2001). Podľa definície Európskej Komisie potravina môže byť považovaná za funkčnú, ak bol dostatočne potvrdený jej priaznivý vplyv na jednu alebo viac telesných funkcií, mimo primeraných výživových účinkov, na zdravotný stav a/alebo zníženie rizika vzniku chorôb. Funkčné potraviny musia mať charakter potraviny a ich priaznivý vplyv sa musí prejavíť už pri konzumácii množstva odpovedajúceho bežnej potravine. Nie sú to tabletky alebo iná forma liekov, ani výživové doplnky, ale tvoria súčasť normálnych potravín (Council of Europe 1999; EC Regulation 178/2002, 2002; EC Regulation 1925/2006, 2006).

Pri príprave funkčných potravín s obsahom cereálií resp. ich zložiek je potrebné vziať do úvahy niekoľko faktorov. Hoci sa zastúpenie hlavných zložiek v zrne v rámci príslušnej odrody mení len štatisticky, značný vplyv na chemickú skladbu zrna majú pôdne, klimatické a agrotechnické podmienky, a v neposlednom rade aj technologické postupy jeho následného spracovania (Das A. et al. 2011). Všetky uvedené faktory môžu výrazne ovplyvniť vlastnosti zrna a obsah potenciálne zaujímavých zložiek z hľadiska ich využitia pri výrobe funkčných potravín. Veľký význam majú v tejto súvislosti aj postupy izolácie jednotlivých zložiek z obilnín. Preto je potrebné detailne sa zaoberať problematikou izolácie funkčných zložiek z múky, ich stabilitou a je potrebné realizovať komplexnú charakterizáciu vlastností takto získaných látok (napr. u polyfenolov z antioxidačného hľadiska) a ich vhodnosti pre ďalšie použitie v potravinárskom priemysle je potrebné študovať v hlbšom rozsahu. Najmä vzťah medzi podmienkami extrakcie a obsahom funkčných zložiek (polyfenolov, flavonoidov, organických kyselín...) v pripravených extraktoch je pomerne málo preštudovaný.

V tejto práci sa venuje pozornosť vplyvu extrakčných podmienok na obsah vybraných funkčných zložiek – polyfenolov a v rámci tejto skupiny látok, flavonoidov v extraktoch komerčne dostupných múk slovenského a maďarského pôvodu, ktoré boli získané ekologickými a konvenčnými poľnohospodárskymi postupmi, pričom sa jedná o múky pšeničné, ražné a špaldové, z hľadiska technologického spracovania o múky celozrnné, hrubé, hladké, a celozrnné hladké. Súčasne sa preštudoval vzťah medzi druhom použitého extrakčného činidla (acetón/voda, 50% v/v, etanol/voda, 50% v/v a voda) a antioxidačnými vlastnosťami pripravených extraktov pomocou UV-VIS a EPR spektroskopie. Rovnako sa preštudoval obsah vybraných kovov a stopových prvkov pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie a obsah sušiny resp. popola v jednotlivých vzorkách múk pomocou konvenčných metód a postupov.

S ohľadom na veľké množstvo a variabilitu získaných experimentálnych údajov, všetky výsledky boli spracované viacrozmernými štatistickými metódami – metódou hlavných komponent – PCA a kanonickou diskriminačnou analýzou – CDA, čo umožňuje komplexné hodnotenie všetkých experimentálnych parametrov študovaných múk v jednom kroku. Tento prístup tiež umožňuje hodnotiť vzájomné korelácie experimentálnych parametrov a ich vplyv na vlastnosti celého súboru.

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky

Na experimenty sa využili komerčne dostupné vzorky slovenských a maďarských pšeničných (8), ražných (5) a špaldových (7) múk v obchodnom balení (každá cca 1 kg), pričom súbor obsahoval vzorky múk ktoré boli získané konvenčnými a/alebo ekologickými poľnohospodárskymi postupmi, a v rámci druhu sa líšili aj spôsobom technologického spracovania. Vo vzorkách bol stanovený obsah sušiny a popola. Zoznam vzoriek a ich základné charakteristiky sú uvedené v *Tabuľke 1*.

Tabuľka 1. Základné charakteristiky vzoriek slovenských a maďarských múk
Table 1. Basic characteristics of the samples of Slovak and Hungarian flours used in experiments

ID	Druh múky	Krajina pôvodu	Spôsob pestovania*	Sušina (%)**	Obsah popola v sušine (%)**
F1	Pšeničná celozrnná hladká	SK	B	89.23±0.04	1.90±0.04
F2	Pšeničná celozrnná	HU	B	89.22±0.04	1.60±0.01
F3	Pšeničná celozrnná – mletá kamenným mlynom	HU	B	89.45±0.07	1.48±1.00
F4	Pšeničná biela (svetlá)	HU	B	89.03±0.03	0.78±0.01
F5	Pšeničná celozrnná hladká	SK	K	88.72±0.07	1.86±0.02
F6	Pšeničná polohrubá výberová	SK	K	88.51±0.07	0.64±0.42
F7	Pšeničná hrubá	SK	K	89.40±0.04	0.37±0.03
F8	Pšeničná hladká špeciál	SK	K	88.50±0.01	0.50±0.03
F9	Ražná celozrnná hladká	SK	B	89.40±0.05	1.64±0.03
F10	Ražná celozrnná	HU	B	89.54±0.27	1.74±0.01
F11	Ražná celozrnná – mletá kamenným mlynom	HU	B	89.05±0.06	3.81±0.02
F12	Ražná biela (svetlá)	HU	B	88.16±0.76	0.72±0.02
F13	Ražná celozrnná hladká	SK	K	89.22±0.01	3.13±0.02
F14	Špaldová celozrnná hladká	SK	B	89.74±0.13	2.13±0.02
F15	Špaldová celozrnná	HU	B	89.82±0.02	2.19±0.01
F16	Špaldová celozrnná – mletá kamenným mlynom	HU	B	89.77±0.01	2.13±0.01
F17	Špaldová biela (svetlá)	HU	B	89.35±0.01	0.99±0.02
F18	Špaldová celozrnná hladká	SK	K	90.29±0.03	2.50±0.01
F19	Špaldová hladká	SK	B	89.41±0.02	1.07±0.01
F20	Špaldová celozrnná hrubá	SK	B	89.75±0.02	1.45±0.01

* B – ekologické (organické) poľnohospodárstvo, K – Konvenčné poľnohospodárstvo

** Priemer ± štandardná odchýlka (n = 2)

Extrakty

Z každej vzorky múky boli v dvoch nezávislých opakovaniach pripravené extrakty do troch rozpúšťadiel – acetón/voda, 50% v/v, etanol/voda, 50% v/v, voda. Presne 2.5 g vzorky múky sa extrahovalo v 50 ml príslušného rozpúšťadla na laboratórnej trepačke (Innova 2000, USA) 1 hodinu pri 150 rpm. Následne bol supernatant oddelený od tuhého podielu centrifugáciou na laboratórnej ultracentrifúge (SciQuip, UK) pri 9200 rpm počas 10 min. Pripravené extrakty boli počas meraní uskladnené v tme pri laboratórnej teplote.

Použitá chemikálie

Deionizovaná voda (H₂O), stabilný voľný radikál 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl (•DPPH, Merck, Nemecko), 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS, Sigma-Aldrich, Nemecko), peroxidisíran draselný (K₂S₂O₈, Mikrochem, Bratislava), 2-ami-

noetyl-difenylborát (Sigma-Aldrich, Nemecko), rutín (Sigma-Aldrich, Nemecko) acetón technický (AFT Bratislava, Slovensko), etanol technický (AFT Bratislava, Slovensko).

EPR merania

Sledovala sa schopnosť pripravených extraktov terminovať stabilný voľný radikál •DPPH a kation-radikál ABTS^{•+}. Merania sa uskutočnili na portable X-band EPR spektrometri e-scan (Bruker, Nemecko) s príslušenstvom. Všetky merania sa uskutočnili v plochej kremennej kyvete, vhodnej na EPR merania polárnych roztokov. Kyveta bola umiestnená do dutiny EPR spektrometra a po nastavení parametrov merania (stred poľa (central field), 346 mT; Šírka poľa (sweep width), 10 mT, modulácia (modulation amplitude), 0.05 mT, zosilnenie (Receiver gain), $3.9 \cdot 10^3$; výkon mikrovlnného zdroja, 10 mW).

Každé meranie začalo presne v čase 3 min po prídavku príslušného radikálu (ABTS^{•+} alebo •DPPH) do systému a počas 15 minút sa sledoval časový vývoj EPR spektier. Každé EPR spektrum predstavuje akumuláciu 30 individuálnych scanov. Všetky merania boli realizované v dvoch opakovaníach.

Nastavenie a odozva spektrometra bola denne pred začatím experimentov kontrolovaná tiež pomocou referenčných meraní signálov tuhých štandardov 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl (DPPH) a strong-pitch, oba od firmy Bruker.

Koncentrácia roztoku •DPPH použitého na meranie sa pohybovala na úrovni $c \sim 0.1 \pm 0.01$ mmol.dm⁻³ a bola denne kontrolovaná pomocou UV-VIS, meraním absorpcie roztoku •DPPH v etanole pri $\lambda = 515$ nm ($\epsilon_{515} = 1.16 \cdot 10^4$ cm⁻¹dm³mol⁻¹). Roztok kation-radikálu ABTS^{•+} bol pripravovaný podľa opisu uvedeného v našich predchádzajúcich prácach a jeho koncentrácia ($c \sim 0.1 \pm 0.01$ mmol.dm⁻³) bola denne kontrolovaná pomocou UV-VIS, meraním absorpcie roztoku ABTS^{•+} vo vode pri $\lambda = 730$ nm ($\epsilon_{730} = 1.47 \cdot 10^4$ cm⁻¹dm³mol⁻¹) (Polovka, M. et al. 2010; Šťavíková, L. et al. 2011). Pokles koncentrácie príslušného radikálu v prítomnosti extraktov múk bol kvantifikovaný pomocou prepočtu intenzity spektra nameraného v čase 10.5 min od pridania radikálu do systému na hodnotu Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (Polovka M. et al. 2010; Šťavíková L. et al. 2011).

UV-VIS experimenty

Na meranie bol použitý UV-VIS-NIR spektrofotometer Shimadzu UV 3600 (Shimadzu, USA) s príslušenstvom.

V pripravených extraktoch sa stanovil obsah polyfenolov štandardnou metódou využívajúcou Folin-Ciocalteuove činidlo meraním absorpcie roztokov pri $\lambda = 765$ nm, pričom kvantifikácia sa uskutočnila pomocou kalibračnej krivky skonštruovanej zo štandardných roztokov kyseliny galovej. Obsah polyfenolov bol prepočítaný na hodnoty ekvivalentu kyseliny galovej (Gallic Acid Equivalent, GAE) (Polovka M. et al. 2010; Šťavíková L. et al. 2011). Obsah flavonoidov sa sledoval postupom analogickým s tým, opísaným v práci Jiang et al., meraním absorpcie roztoku obsahujúceho 1% roztok 2-aminoetyl-difenylborátu pri $\lambda = 404$ nm. Obsah flavonoidov bol kvantifikovaný pomocou kalibračnej krivky skonštruovanej zo štandardných roztokov štandardu rutínu. Obsah flavonoidov bol vyjadrený ako rutin ekvivalent (Jiang P. et al. 2006).

Pomocou UV-VIS-NIR sa sledovala aj radikál-zhášajúca schopnosť pripravených extraktov terminovať stabilný voľný radikál •DPPH a kation-radikál ABTS^{•+}, pričom sa vyhodnocoval % pokles koncentrácie príslušného radikálu v čase 10.5 min od jeho pridania do systému oproti referencii (50% etanol, 50% acetón resp. voda) pri $\lambda = 515$ nm, respektíve $\lambda = 730$ nm. Okrem toho sa priamo stanovovala antioxidačná aktivita múk pomocou metódy Quencher v čase 30 min od pridania ABTS^{•+} do vzoriek (Serpen A. et al. 2008). Všetky experimenty boli realizované v dvoch nezávislých opakovaníach.

AAS experimenty

Obsah niektorých kovov (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na a Zn) vo vzorkách múk sa stanovoval pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie na spektrometri Perkin Elmer 4100 (Perkin Elmer, USA), vybaveným deutériovou korekciou pozadia pomocou plameňovo-ionizačného detektora, ionizácia sa uskutočnila pomocou plameňa vzduch / acetylén (Koreňovská M. et al. 2007).

Štatistické spracovanie dát

Všetky experimentálne údaje boli spracované použitím metód multivariačnej štatistiky, s dôrazom na analýzu hlavných komponentov, Principal Component Analysis (PCA) a kanonickú diskriminačnú analýzu, Canonical Discrimination Analysis (CDA), s cieľom posúdiť vzájomnú koreláciu jednotlivých parametrov a ich význam pre diskrimináciu múk na základe pôvodu, spôsobu pestovania, druhovej skladby a spôsobu technologického spracovania (mletia). Štatistická analýza bola realizovaná pomocou softvéru Unistat[®] v.6.0.03 (Unistat Ltd., 4 Shirland Mews, London W9 3DY, Veľká Británia). Korelačné koeficienty boli vypočítané pomocou Microsoft[®] Excel 2007.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základné charakteristiky vzoriek múk

Obsah sušiny a popola v sušine je uvedený v *Tab. 1*. Z uvedených údajov je zrejmé, že obsah sušiny sa pohybuje bez ohľadu na druh alebo pôvod múky na úrovni $89.5 \pm 0.8\%$. Rovnako obsah popola v sušine nie je možné korelovať ani z druhom múky resp. jej pôvodom, ani so spôsobom technologického spracovania.

Obsah kovov výrazne kolíše nielen v závislosti od pôvodu vzoriek ale aj od spôsobu pestovania a druhu múky a v neposlednom rade, od spôsobu mletia, pričom ani v rámci jednotlivých skupín nie sú zrejmé jednoznačné trendy ale hodnoty sú viac-menej štatisticky rozložené. Priame porovnanie identického druhu múky s odlišným spôsobom mletia (klasický oceľový mlyn vs. mletie na kameni, *Tab. 2*) – vzorky pšeničných múk

F2/F3, vzorky ražných múk F10/F11 a vzorky špaldových múk F15/F16 ukazuje, že hoci v niektorých prípadoch je zreteľný vyšší obsah niektorých kovov, napr. Ca alebo K u vzoriek mletých klasickým oceľovým mlynom, po zohľadnení chyby stanovenia sú pozorované rozdiely prakticky zanedbateľné a to u všetkých troch druhov múk. Z hodnôt korelačných koeficientov (Tab. 3.) sú zrejme vysoké pozitívne korelácie ($R^2 > 0.8$) medzi obsahom Ca a Mg čo je v súlade s predpokladom, a o niečo nižšie ale stále vysoké korelácie ($R^2 > 0.6$) medzi obsahom týchto kovov a obsahom Cu a K. Obzvlášť nízka je však vzájomná korelácia obsahu Na so všetkými kovmi, osobitne však s K ($R^2 \sim 0.05$). Hodnoty vzájomných korelačných koeficientov však neposkytujú celkový obraz o význame obsahu kovov a ich súvis s vlastnosťami vzoriek múk resp. ich extraktov. Takúto súvislosť je možné získať po spracovaní experimentálnych údajov štatistickými metódami, ako bude ukázané nižšie.

Tabuľka 2. Obsah vybraných kovov vo vzorkách múk stanovený pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie

Table 2. Content of some metals in flour samples as determined by Atomic Absorption Spectrometry

ID vzorky	Obsah kovov (mg/kg)						
	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Na	Zn
F1	521.0±62.2	5.2±0.1	37.5±1.1	3535.5±30.4	1237.5±50.2	21.2±1.4	48.4±4.2
F2	596.0±49.5	5.6±0.3	59.9±3.2	2685.5±0.7	1225.0±67.9	23.7±0.0	35.5±1.4
F3	617.5±36.1	5.7±0.4	65.5±4.8	2739.0±2.8	1278.5±12.0	22.0±1.3	40.2±1.2
F4	420.0±12.7	4.6±0.4	36.3±2.8	1560.5±10.6	727.0±8.5	22.3±0.3	27.3±1.2
F5	437.5±2.1	4.9±0.1	45.9±2.8	3946.0±91.9	1128.5±37.5	24.4±2.9	39.2±1.5
F6	221.5±34.6	2.2±0.2	9.0±0.4	922.5±34.6	220.5±7.8	21.0±2.2	15.3±1.3
F7	235.0±9.9	2.8±0.1	10.1±0.1	962.5±4.9	221.0±8.5	21.6±1.8	19.2±0.1
F8	285.5±38.9	2.7±0.3	17.2±2.2	1194.0±22.6	354.5±27.6	20.9±1.9	16.6±3.6
F9	427.5±7.8	5.3±0.1	32.9±2.6	3598.5±99.7	1045.5±31.8	20.4±0.0	40.8±5.3
F10	497.0±1.4	5.6±0.1	28.0±2.1	4255.0±130.1	1090.5±21.9	20.4±0.2	38.1±1.7
F11	439.5±4.9	4.7±0.2	29.6±3.1	4126.0±254.6	1137.0±72.1	20.2±1.8	43.8±2.8
F12	262.0±33.9	3.0±0.2	27.2±1.5	1962.5±20.5	441.0±19.8	18.2±0.4	17.7±0.8
F13	516.5±67.2	4.9±0.3	27.1±1.7	3427.0±48.1	1070.0±9.9	19.7±1.5	39.3±2.7
F14	567.5±17.7	7.0±0.1	52.4±1.6	3519.5±31.8	1339.0±11.3	21.1±0.6	61.5±0.6
F15	458.5±30.4	6.0±0.5	39.9±3.7	3324.5±123.7	1298.5±43.1	18.7±0.2	54.2±2.1
F16	395.5±47.4	8.1±1.1	37.3±2.9	3240.0±94.8	1311.0±41.0	19.3±1.3	53.6±0.1
F17	297.0±39.6	4.4±0.3	15.4±1.0	1510.5±10.6	778.0±11.3	17.8±1.0	32.7±1.9
F18	525.0±11.3	5.7±0.4	53.9±3.1	3785.5±54.4	1352.0±39.6	18.6±2.1	49.5±4.0
F19	497.0±67.9	4.8±0.3	36.8±6.3	1875.5±38.9	774.0±22.6	18.8±1.0	33.8±1.3
F20	404.0±33.9	6.7±0.1	27.9±0.5	2500.0±25.5	989.0±7.1	18.7±0.3	48.8±2.5

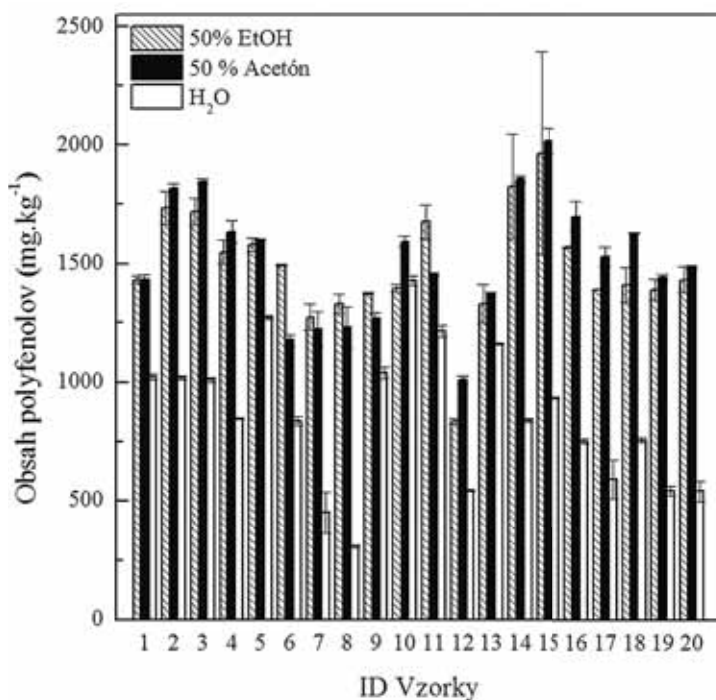
Tabuľka 3. Korelačná matica jednotlivých experimentálnych charakteristík vzoriek slovenských a maďarských organických a konvenčných múk a ich extraktov v 50% etanole, stanovená spektroskopickými metódami AAS, EPR a UV-VIS

Table 3. Correlation matrix of individual experimental characteristics of Slovak and Hungarian organic and conventional flours, and their extracts in 50% ethanol/water (v/v) determined either by spectroscopic methods of AAS, EPR and UV-VIS

Parameter	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Na	Zn	Flavonoids	Quench.	TPC	%ABTS	%DPPH	TEAC _{ABTS}	TEAC _{DPPH}	EPRTEAC _{ABTS}	EPRTEAC _{DPPH}
Ca	1.00															
Cu	0.64	1.00														
Fe	0.85	0.62	1.00													
K	0.65	0.64	0.53	1.00												
Mg	0.83	0.86	0.77	0.85	1.00											
Na	0.23	-0.06	0.30	0.05	0.06	1.00										
Zn	0.67	0.89	0.59	0.76	0.90	-0.11	1.00									
Flavonoids	-0.02	-0.23	-0.27	0.18	-0.12	-0.03	-0.17	1.00								
Quencher	0.37	0.36	0.34	0.51	0.47	-0.02	0.35	-0.03	1.00							
TPC	0.55	0.59	0.52	0.36	0.60	0.28	0.57	-0.28	0.44	1.00						
% ABTS	-0.33	-0.19	-0.17	-0.15	-0.19	0.06	-0.16	-0.35	-0.13	-0.14	1.00					
% DPPH	0.72	0.64	0.52	0.92	0.86	0.01	0.74	0.13	0.50	0.41	-0.22	1.00				
UV TEAC _{ABTS}	0.59	0.59	0.42	0.58	0.61	-0.06	0.55	0.09	0.51	0.53	-0.72	0.64	1.00			
UV TEAC _{DPPH}	0.70	0.66	0.48	0.92	0.85	-0.03	0.75	0.13	0.48	0.40	-0.21	0.99	0.63	1.00		
EPRTEAC _{ABTS}	0.62	0.62	0.47	0.56	0.64	0.01	0.56	0.06	0.48	0.57	-0.73	0.62	0.98	0.61	1.00	
EPR TEAC _{DPPH}	0.63	0.61	0.43	0.93	0.78	-0.01	0.67	0.37	0.50	0.28	-0.33	0.89	0.66	0.90	0.64	1.00

Antioxidačné vlastnosti extraktov

Ďalšie experimenty boli zamerané na posúdenie a výber najvhodnejšieho extrakčného činidla, z hľadiska obsahu zaujímavých zložiek, tj. zložiek ktoré je možné následne využiť pri príprave funkčných potravín – najmä polyfenolov a v rámci nich flavonoidov, keďže práve týmto zložkám sa pripisuje väčšina zdravotne-prospešných účinkov rôznych potravín a nápojov, vrátane vín (Polovka M. et al. 2010; Šťavíková L. et al. 2011; Staško A. et al. 2006). Obsah polyfenolov v extraktoch múk bol stanovený pomocou UV-VIS spektroskopie použitím rutínnej metódy založenej na inhibícii oxidácie Folin-Ciocalteuovho činidla zložkami extraktov. Ako je zrejmé z Obr. 1. výber extrakčného činidla významne ovplyvňuje koncentráciu/výťažnosť polyfenolických látok v extraktoch. Bez ohľadu na druh múky, spôsob mletia resp. technologického spracovania, spôsob pestovania alebo pôvod sa koncentrácia polyfenolov v acetónových extraktoch pohybovala v rozmedzí od 1176 mg.kg⁻¹ (F12) do 2018 mg.kg⁻¹ (F15), v etanolových extraktoch od 833 mg.kg⁻¹ (F12) do 1964 mg.kg⁻¹ (F15), zatiaľ čo vo vodných extraktoch od 309 mg.kg⁻¹ (F8) do 1427 mg.kg⁻¹ (F10).



Obrázok 1. Vplyv rozpúšťadla na obsah polyfenolov v extraktoch múk. Obsah polyfenolov je vyjadrený ako ekvivalent kyseliny galovej (GAE, mg.kg⁻¹). Označenie vzoriek je identické s Tabuľkou 1.

Figure 1. The influence of extraction solvent on the concentration of polyphenols in flour extracts. The concentration of polyphenols is expressed as Gallic Acid Equivalent (GAE, mg.kg⁻¹). Samples numbering correspond to that present in Table 1.

Najvyššie priemerné hodnoty obsahu polyfenolov sa dosahujú u extraktov v 50% acetóne a 50% etanole, tieto dve rozpúšťadlá sú pri zohľadnení chyby merania z hľadiska efektivity porovnateľné. Z tohto hľadiska sa javí voda ako najmenej vhodné extrakčné činidlo. Z výsledkov meraní ďalej vyplýva že relatívne najvyšší bol obsah polyfenolov stanovený v acetónových extraktoch zo špaldových múk, nasledovaných múkami pšeničnými a ražnými. U etanolových extraktov je priemerný obsah polyfenolov z hľadiska druhovej skladby najvyšší u pšeničných múk > špaldových múk > ražných múk. Na druhej strane, relatívne najvyšší obsah polyfenolov u vodných extraktov bol pozorovaný u vzoriek pripravených z ražných múk. Aj tieto skutočnosti naznačujú vzájomnú súvislosť medzi skladbou/zastúpením resp. štruktúrou jednotlivých polyfenolov a ich afinitou voči príslušnému rozpúšťadlu. Tento aspekt však v súčasnosti nie sme schopní posúdiť.

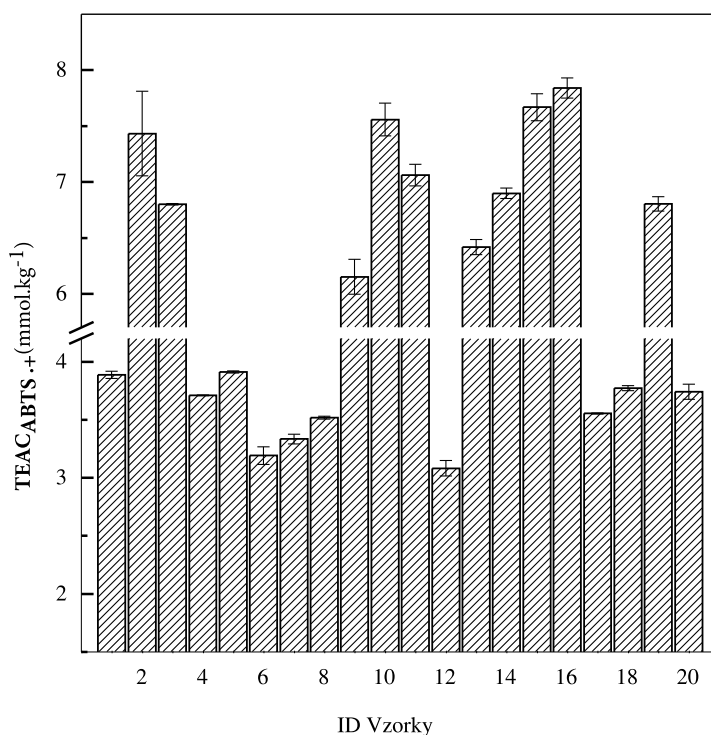
Ako vyplýva z výsledkov meraní, koncentrácia flavonoidov ako podskupiny polyfenolov v extraktoch, je rovnako závislá od druhu použitého extrakčného činidla. Na rozdiel od polyfenolov, najvyššie koncentrácie flavonoidov (vyjadrená ako rutín ekvivalent) boli stanovené v etanolových extraktoch ražných múk ($c \sim 488 \pm 167$ mg/kg) nasledovanými extraktmi pšeničných a špaldových múk s priemerným obsahom flavonoidov na úrovni 176 ± 60 mg/kg. Na druhej strane najnižší obsah flavonoidov bol stanovený v acetónových extraktoch pšeničných múk, osobitne v prípade múk *F6*, *F7* a *F8*.

Z výsledkov merania na základe jednoduchých korelácií nie je zrejماً súvislosť medzi obsahom polyfenolov, resp. flavonoidov a charakteristík študovaných vzoriek múk (pôvod, druh, spôsob pestovania, spôsob spracovania), alebo sú tieto korelácie štatisticky málo významné. Najmarkantnejší je vyšší obsah polyfenolov u vzoriek celozrnných múk v porovnaní s ostatnými vzorkami, tento trend však nebol pozorovaný pri flavonoidoch. Z hodnôt korelačných koeficientov uvedených v *Tab. 3*. je zrejماً aj veľmi nízka vzájomná korelácia obsahu polyfenolov a flavonoidov ($R^2 < 0.3$), čo možno dať do súvisu s odlišnosťami použitých metód a v neposlednom rade možnosťou zaťaženia výsledkov rušivými vplyvmi (napr. v prípade polyfenolov, prítomnosť redukujúcich látok alebo vitamínov) (Ikawa M. et al. 2003).

Antioxidačná a radikál-zhášajúca aktivita extraktov múk vo všetkých troch rozpúšťadlách bola charakterizovaná metódami EPR a UV-VIS spektroskopie s využitím radikálov \cdot DPPH a ABTS⁺. Pozoroval sa pokles koncentrácie príslušného radikálu v dôsledku jeho terminácie zložkami príslušného extraktu múky, čo sa prejaví znížením intenzity EPR spektra oproti referencii (50% etanol, 50% acetón resp. voda). Radikál-zhášajúca kapacita extraktov bola kvantifikovaná prepočtom koncentrácie príslušného radikálu v definovanom čase ($t = 10.5$ min od začiatku terminačnej reakcie, tj. prídavku radikálu do systému) na hodnoty tzv. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (Polovka M. et al. 2010; Šťavíková L. et al. 2011).

Hoci sa v prípade ABTS⁺ a \cdot DPPH testov ukazuje len priemerná resp. nízka korelácia TEAC hodnôt s obsahom polyfenolov (*Tab. 3.*), ukazuje sa že TEAC hodnoty v oboch prípadoch sú výrazne závislé od druhu použitého rozpúšťadla, pričom trendy sú podobné ako v prípade celkového obsahu polyfenolov, opísaného vyššie. Hodnoty TEACABTS⁺ vypočítané pre extrakty múk v 50% etanole sú znázornené na *Obr. 2*. Z prezentovaných údajov vyplýva, že všetky extrakty múk vykazovali radikál-zhášajúce vlastnosti, v intervale 3.1 mmol.kg-1

(F12) až 7.9 mmol.kg⁻¹ (F16). Radikál-zhášajúca aktivita extraktov je, v súlade s našim očakávaním, výrazne závislá na druhovej skladbe múky (v poradí pšeničná > špaldová > ražná), avšak aj medzi extraktmi zo vzoriek z identického druhu múky boli preukázané výrazné rozdiely. Tento jav môže súvisieť so spôsobom technologického spracovania (mletia). Vo všeobecnosti vyššie TEAC hodnoty boli stanovené vo vzorkách celozrnných múk. Pri porovnaní vzoriek druhovo identických múk s odlišným spôsobom mletia je zrejmé, že u pšeničnej a ražnej múky vyššie antioxidačné vlastnosti prejavujú extrakty z múk pomletých na klasickom ocelovom mlyne, zatiaľ čo u extraktov zo špaldových múk sú TEAC hodnoty vyššie u extraktov pripravených z múky pomletej kamenným mlynom, avšak v posledne menovanom prípade sú rozdiely štatisticky málo významné.



Obrázok 2. Schopnosť extraktov múk v 50% etanole terminovať kation-radikál ABTS^{•+}, vyjadrená ako Trolox ekvivalent (TEAC_{ABTS^{•+}}, mmol.kg⁻¹). Hodnoty TEAC_{ABTS^{•+}} boli vypočítané z EPR spektra nameraného 10.5 min po pridaní ABTS^{•+} k extraktu príslušnej múky postupom uvedeným v práci Polovka, M. et al. (2010).

Výsledky sú znázornené ako priemer ± SD (n = 2).

Figure 2. The ABTS^{•+} radical-scavenging ability of flour extracts in 50% ethanol/water (v/v) expressed as Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC_{ABTS^{•+}}, mmol.kg⁻¹). TEAC_{ABTS^{•+}} values were evaluated from EPR spectrum recorded exactly 10.5 min after the addition of ABTS^{•+} solution into the experimental system, as previously described by Polovka, M. et al. (2010). Results are expressed as mean ± SD (n = 2).

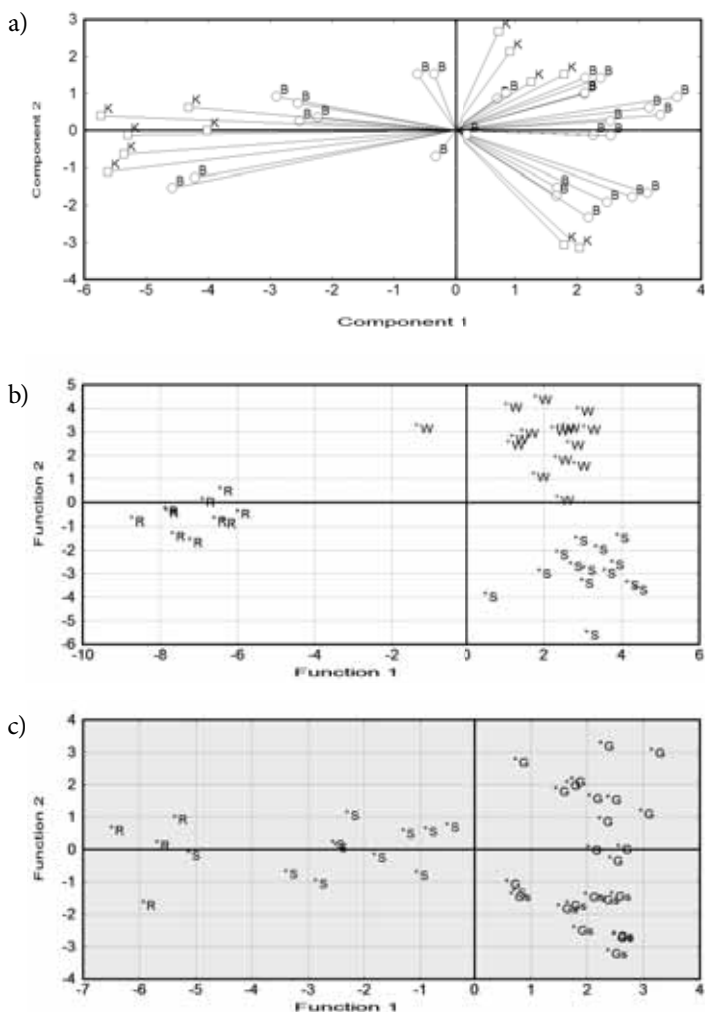
Z výsledkov meraní je možné usudzovať na vzájomný súvis antioxidačných vlastností extraktov a spôsobom pestovania obilnín, avšak súvislosť medzi pôvodom múky a antioxidačnými vlastnosťami nie je jednoznačne preukázaná. Podobný trend bol zistený aj pre hodnoty $TEAC \cdot DPPH$, pričom v súlade s našimi predchádzajúcimi skúsenosťami, sú hodnoty $TEAC_{ABTS^{•+}}$, približne 4x väčšie než hodnoty $TEAC \cdot DPPH$, pravdepodobne v dôsledku rozdielnych hodnôt redoxných potenciálov oboch radikálov, ktoré priamo ovplyvňujú ich reaktivitu (Polovka M. et al. 2010; Šťavíková L. et al. 2011; Staško A. et al. 2006).

Výsledky všetkých UV-VIS experimentov zameraných na posúdenie antioxidačnej aktivity pripravených extraktov sú v dobrej zhode s výsledkami EPR meraní, ak porovnáваме identický experimentálny systém – hodnoty $TEAC_{ABTS^{•+}} \cdot DPPH$ a % pokles $ABTS^{•+} \cdot DPPH$. Korelácia TEAC hodnôt získaných prepočtom absorbancií z UV meraní s hodnotami % poklesu týchto radikálov je podľa očakávania veľmi vysoká, keďže sa jedná o iné vyjadrenie toho istého javu a prepočet na TEAC hodnoty v prípade UV-VIS meraní bol zvolený len kvôli možnosti priameho porovnania výsledkov na spoločnej báze.

Štatistické spracovanie výsledkov

Výsledky všetkých experimentov poskytli rôznorodé informácie o študovaných vzorkách, ktoré je obtiažne pre ich rozsah a počet vzoriek rôznych charakteristík vzájomne porovnať a vyhodnotiť pomocou vzájomných korelácií alebo korelačných matic. S cieľom realizovať komplexné hodnotenie všetkých experimentálnych parametrov študovaných múk v jednom kroku a zhodnotiť vzájomné korelácie experimentálnych parametrov a ich vplyv na vlastnosti celého súboru bol celý súbor experimentálnych dát spracovaný metódami viacrozmernej štatistiky, metódou hlavných komponentov, PCA, a kanonickou diskriminačnou analýzou, CDA. Cieľom bolo klasifikovať a diferencovať vzorky múk podľa štyroch kritérií: pôvod vzorky (slovenský/maďarský – SK/HU), spôsob pestovania (organické/konvenčné poľnohospodárstvo – B/K), druh múky (pšeničná/ražná/špaldová – W/R/S) a spôsob technologického spracovania (mletia – hladká/hrubá/grahamová/grahamová hladká – R/S/G/Gs). Hoci u posledne menovaného kritéria bolo možné použiť aj jemnejšie delenie (múky polohrubé, extra špeciál a pod.), s ohľadom na početnosť vzoriek však nebol tento prístup využitý.

Výsledky PCA a CDA analýzy pre etanolové extrakty múk sú znázornené na Obr. 3 (Fig. 3). Pri klasifikácii a diskriminácii boli využité aj parametre získané pre tuhé vzorky múk (sušina, popol, obsah kovov). Na Obr. 3 (a) je znázornená klasifikácia extraktov múk podľa spôsobu pestovania (organické – B vs. konvenčné – K) pomocou analýzy hlavných komponentov. Z obrázku je zrejmé, že vzorky múk sa podarilo len čiastočne klasifikovať, nakoľko je zreteľná prítomnosť dvoch hlavných skupín, v ktorých vlastné vektory ležia v protihľáhlých segmentoch, ale v oboch hlavných skupinách sa nachádzajú vektory oboch druhov múk. Z variačnej tabuľky vyplýva, že prvé tri hlavné komponenty opisujú kumulatívne 77% celkovej variability systému, pričom prvé 4 komponenty majú vlastné hodnoty (eigenvalue) > 1 . Na klasifikáciu vzoriek podľa zvoleného kritéria majú najvýraznejší vplyv obsah kovov (najmä Ca, Cu, K, Mg, Fe) a obsah polyfenolov, hoci významná je aj úloha antioxidačných charakteristík, najmä schopnosť terminovať $\cdot DPPH$ (hodnoty vlastných vektorov > 0.2).



Obrázok 3. Klasifikácia – odlišenie etanolových extraktov múk podľa spôsobu pestovania (organické – O vs. konvenčné – K) pomocou analýzy hlavných komponentov (ako premenné boli použité všetky experimentálne charakteristiky získané pomocou AAS, EPR a UV-VIS (a). Kanonická diskriminačná analýza etanolových extraktov múk podľa druhej skladby - ražná múka - R vs. špaldová múka - S vs. pšeničná múka - W (b); a podľa spôsobu technologického spracovania - grahamová múka, G vs. grahamová hladká múka, Gs vs. hrubá múka, R vs. hladká múka S (c).

Figure 3. Classification of flour extracts in 50% ethanol/water (v/v) according to the way of agricultural production (organic – O vs. conventional – K)

by means of Principal Component Analysis

All the experimental characteristics determined by AAS, EPR and UV-VIS were used for principal components construction (a). Discrimination of flour extracts in 50% ethanol/water (v/v) according to the composition – rye – R vs. wheat – W vs. spelt wheat – S (b); and according to the way of technological processing grinding – G- graham, Gs – graham smooth, R – raw, S – smooth (c).

Obdobné výsledky sa dosiahli aj pri klasifikácii týchto extraktov podľa pôvodu vzoriek, kým pri klasifikácii podľa druhovej skladby najväčšiu váhu majú popri antioxidačných charakteristikách obsah Cu, Ca a Zn a podľa spôsobu technologického spracovania výsledky EPR a UV-VIS experimentov s ABTS^{•+}. Ukazuje sa, že vplyv rozpúšťadla/druhu extraktov na opis variability systému je prakticky zanedbateľný, ale váha jednotlivých premenných pre konštrukciu hlavných komponentov je výrazne závislá na druhu extrakčného činidla, čo je logickým dôsledkom závislosti jedn. experimentálnych charakteristík od použitého extrakčného činidla, opísanej vyššie.

Na *Obr. 3 (b)* a *3 (c)* sú znázornené výsledky kanonickej diskriminačnej analýzy etanolových extraktov podľa druhovej skladby, resp. podľa spôsobu technologického spracovania. Z obrázkov je zrejmé, že v prípade diskriminácie podľa druhovej skladby sa dosiahla 100% úspešnosť klasifikácie múk – v obrázku existujú 3 diskkrétne skupiny bodov, kým v prípade diferenciacie múk podľa spôsobu technologického spracovania 3 vzorky múk (*F1*, *F8* a *F20*) boli nesprávne zaradené medzi celozrnné a hrubé múky, čím úspešnosť klasifikácie klesla na 93%.

Vplyv extrahovadla použitého na prípravu extraktov na úspešnosť diskriminácie vzoriek múk podľa sledovaných kritérií je zrejмый z *Tab. 4*. Z prezentovaných údajov je zrejмая vysoká úspešnosť klasifikácie vzoriek múk pre všetky extrakčné systémy a zvolené kritériá (> 85%), pričom pri klasifikácii múk podľa druhovej skladby sa vo všetkých troch prípadoch dosiahla 100% správna klasifikácia. Relatívne najnižšia správnosť klasifikácie vo všetkých troch extrakčných systémoch sa dosiahla v prípade diskriminácie vzoriek podľa spôsobu pestovania.

Tabuľka 4. Výsledky kanonickej diskriminačnej analýzy vzoriek múk resp. ich extraktov v rôznych rozpúšťadlách podľa rôznych diskriminačných kritérií

Table 4. The results of canonical discrimination analysis of flour samples under study and their extracts in different solvents according to various discrimination parameters

Parameter	Rozpúšťadlo	Úspešnosť klasifikácie (%)	Počet nesprávne klasifikovaných vzoriek
Krajina pôvodu	50% etanol/voda	95.0	2
	50% acetón/voda	95.0	2
	voda	87.5	5
Spôsob pestovania	50% etanol/voda	90.0	4
	50% acetón/voda	87.5	5
	voda	95.0	2
Druhová skladba	50% etanol/voda	100.0	0
	50% acetón/voda	100.0	0
	voda	100.0	0
Technologické spracovanie	50% etanol/voda	93.0	3
	50% acetón/voda	95.0	2
	voda	87.5	5

Z porovnania výsledkov pre jednotlivé extrakčné systémy je zrejmé, že klasifikačné skóre pre extrakty v 50% acetóne a 50% etanole je porovnateľné, resp. vyššie v prospech 50% etanolu, len v prípade klasifikácie podľa spôsobu technologického spracovania sa u acetónových extraktov dosiahlo lepšie klasifikačné skóre. Vodné extrakty sú charakteristické najlepším klasifikačným skóre podľa spôsobu pestovania (~ 95%), na druhej strane klasifikačné skóre podľa krajiny pôvodu a spôsobu technologického spracovania je v porovnaní z ostatnými systémami najnižšie, cca 88%.

ZÁVER

Potvrdila sa významná súvislosť medzi druhom použitého rozpúšťadla a skladbou extraktov z múk, pričom ako najefektívnejší extrakčný systém sa preukázal 50% etanol vo vode, tak z hľadiska výťažnosti polyfenolov resp. flavonoidov (ako potenciálnych funkčných zložiek) ako aj z hľadiska prijateľnosti tohto rozpúšťadla pre potreby potenciálneho využitia izolátov v potravinárskom priemysle. Na základe antioxidačných charakteristík extraktov študovaných vzoriek a obsahu kovov v múkach je možné spoľahlivo diferencovať vzorky múk podľa spôsobu pestovania, pôvodu, spôsobu technologického spracovania ako aj druhej skladby múk. Existuje teda priamy súvis medzi uvedenými kritériami a vlastnosťami múk. Na základe uvedených skutočností je teda možné cielenou modifikáciou podmienok pestovania a spracovania múk ovplyvniť skladbu a obsah funkčných zložiek v múkach a následne vhodnou voľbou extrakčného činidla je možné zvýšiť výťažky funkčných zložiek.

Characterization and differentiation of Hungarian and Slovak organic and conventional flours

MARTIN POLOVKA^{1*} – FERENC KAJDI² – BLANKA TOBOLKOVÁ^{1,3} – MILAN SUHAJ¹

¹ VUP Food Research Institute
Priemyselná 4, PO BOX 25, SK-824 75 Bratislava, Slovak Republic

² University of West Hungary
Faculty of Agricultural and Food Science
Vár 2, HU-9200 Mosonmagyaróvár, Hungary

³ Brno University of Technology
Faculty of Chemistry
Purkyňova 464, CZ-612 00 Brno, Czech Republic

SUMMARY

Extraction conditions applicable for the isolation of functional components from flours of Hungarian and Slovak origin were optimized on a group of twenty commercial raw,

smooth and graham rye, wheat and spelt wheat flours, respectively, of both, organic and conventional production. Atomic absorption spectrometry was involved to determine the trace metals and minerals content in flours and EPR and UV-VIS to determine the antioxidant activity, total polyphenols and flavonoid content of flours extracts in water, acetone (50% in water, v/v) and ethanol (50% in water, v/v). Besides that, flours samples were evaluated to the dry matter and ash content. As clearly proved by both, EPR and UV-VIS, extraction solvent significantly influences the composition of extracts, including the concentration of polyphenols. From the functional components isolation efficacy point of view, 50% acetone followed by 50% ethanol were found as the best extraction solvents, with comparable characteristics, followed by water. Due to practical reasons and further applicability of the isolates as food additives, 50% ethanol was selected as a solvent of choice. Multivariate statistical analysis – Principal Component Analysis and Canonical Discrimination analysis were effectively involved for data processing and differentiation of samples. Its successfulness – correctness – is dependent on extraction solvent. In case of extracts in 50% ethanol, recognition ability tested by canonical discriminant analysis resulted in more than 95% successful discrimination of samples according to the country of origin, the classification according to the method of cultivation reached 90%, while according to the way of technological processing (grinding) and according to the species reached 93% and 100% correctness, respectively. The discrimination scores for 50% acetone extracts were comparable, while for water extracts were in some cases lower by 5–10%. As the most significant discrimination parameters, metals and minerals profile as well as flavonoid content and antioxidant activity evaluated by both, EPR and UV VIS were recognized.

Keywords: flour, extraction conditions, antioxidant activity, EPR, UV-VIS, multivariate statistics, classification.

Ökológiai és hagyományos termesztésből származó magyar és szlovák lisztek jellemzése és megkülönböztethetősége

MARTIN POLOVKA^{1*} – KAJDI FERENC² – BLANKA TOBOLKOVÁ^{1,3} – MILAN SUHAJ¹

¹ VUP Food Research Institute
Priemyselná 4, PO BOX 25, SK-824 75 Bratislava, Szlovákia

² Nyugat-magyarországi Egyetem
Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar
9200 Mosonmagyaróvár, Magyarország

³ Brno University of Technology
Faculty of Chemistry
Purkyňova 464, CZ-612 00 Brno, Csehország

A tanulmány a funkcionális komponensek izolálási feltételeinek optimalizálásával foglalkozik 20 magyar, illetve szlovák származású, különböző szemcseméretű (finomliszt, dara, graham), eltérő gabonafajú (rozs, búza, tönköly), hagyományos és bioliszt esetében. A

fém- és ásványianyag-tartalmakat atomabszorpciós spektrométerrel határoztuk meg. EPR és UV-VIS módszerrel vizsgáltuk az antioxidáns aktivitást, a polifenol- és flavonoidtartalmat vízben való oldás, 50%-os aceton-, illetve 50%-os etilalkoholos-oldattal történő kivonás után is vizsgáltuk. Megállapítottuk a lisztminták szárazanyag- és hamutartalmát is. Az EPR és UV-VIS módszerekkel kapott eredmények bizonyítják, hogy az oldószer jelentősen befolyásolja a kivont anyagok összetételét, beleértve a polifenolok koncentrációját is. A funkcionális komponensek izolálásának hatékonysága szempontjából az 50%-os aceton-, illetve az 50%-os etilalkohol-oldat volt a legmegfelelőbb, a vízzel történő kivonás kevésbé eredményes. Az izolált anyagok, mint élelmiszer-adalékanyagok további felhasználása és egyéb gyakorlati tényezők figyelembevétele miatt az 50%-os etil-alkohol bizonyult a megfelelő oldószernek. A vizsgálati eredmények értékelésére többváltozós statisztikai módszert használtunk. A kivonás eredményessége, annak megbízhatósága az oldószertől függ. 50%-os etil-alkoholos kivonás esetében a kanonikus diszkriminancia-analízis alapján a minták több mint 95%-a megkülönböztethető a származás és 90%-a a művelési mód (bio, vagy konvencionális) alapján. A technológiai feldolgozás (őrlés), illetve a gabona faja alapján megkülönböztethetőség 93%, illetve 100%-os. Az eredmények hasonlóak az 50%-os acetondat esetében is, míg a vizes kivonásnál a kapott eredmények 5–10%-kal rosszabbak. A kísérletek alapján az egyes lisztek a fém- és ásványianyag-tartalmuk, a flavonoidtartalom, illetve az antioxidáns-aktivitás alapján különböztethetők meg a legjobban.

Kulcsszavak: liszt, extrakciós körülmények, antioxidáns-aktivitás, EPR, UV-VIS, többváltozós statisztikai módszer.

REFERENCIE

- Ashwell, M. (2001): Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. *Public Health Nutrition* **4.**, 859–863.
- Council of Europe (1999): Committee of experts on Nutrition Food Safety and Consumer's Health. Ad hoc Group on Functional Food.
- Das A. – Raychaudhuri U. – Chakraborty R. (2011): Cereal based functional food of Indian subcontinent: a review. *Journal of Food Science and Technology* 1–8. DOI 10.1007/s13197-011-0474-1.
- EC regulation 1925/2006 (2006): Regulation (EC) No 1925/2006 Of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on the addition of vitamins and minerals and of certain other substances to foods.
- EC regulation 178/2002 (2002): Regulation (EC) No 178/2002 Of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.
- Fardet A. – Rock E. – Rémésy Ch.J. (2008): Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *Journal of Cereal Science* **48.**, (2) 258–276.
- Ikawa M. – Schaper T.D. – Dollard C.A. – Sasner J.J. (2003): Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51.**, (7) 1811–1815.
- Jiang P. – Burczynski F. – Campbell C. – Pierce G. – Austria J.A. – Briggs C.J. (2007): Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. *Food Research International* **40.**, (3) 356–364.

- Koreňovská M. – Suhaj M.* (2007): Identification of Slovakian, Polish, and Romanian bryndza cheeses origin by factor analysis of some elemental data. *European Food Research and Technology* **225.**, (5–6) 707–713.
- Mellen P.B – Walsh T.F – Herrington D.M.* (2008): Whole grain intake and cardiovascular disease: A meta-analysis. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* **18.**, (4) 283–290.
- Polovka M. – Roth M. – Šťavíková L. – Karásek P. – Hohnová B.* (2010): Offline combination of Pressurized Fluid Extraction and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy for the Antioxidant Activity of Grape Skins Extracts Assessment. *Journal of Chromatography A* 1217 (51) 7990–8000.
- Serpen A. – Gökmen V. – Pellegrini N. – Fogliano V.* (2008): Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *Journal of Cereal Science* **48.**, (3) 816–820.
- Staško A. – Polovka M. – Brezová V. – Biskupič S. – Malík F.* (2006): Tokaj wines as scavengers of free radicals (An EPR study). *Food Chemistry* **96.**, (2) 185–196.
- Šťavíková L. – Polovka M. – Hohnová B. – Karásek P. – Roth M.* (2011): Antioxidant activity of grape skin aqueous extracts from pressurized hot water extraction combined with electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Talanta* **85.**, (4) 2233–2240.
- Tiwari U. – Cummins E.* (2009): Nutritional importance and effect of processing on tocopherols in cereals. *Trends in Food Science and Technology* **20.**, (11–12) 511–520.

A szerzők levélcíme – Address of the authors:

*1 Martin POLOVKA

VUP Food Research Institute

Department of Chemistry and Food Analysis

SK-824 75 Bratislava

Priemysel'ná 4, P.O. Box 25

Slovak Republic

E-mail: polovka@vup.sk, Tel.: +421 2 5023 7149. Fax: +421 2 5557 1417

² Nyugat-magyarországi Egyetem

Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar

H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2.

E-mail: kajdif@mtk.nyme.hu

³ Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

CZ-612 00 Brno

Purkyňova 464

Česká republika