

KVALITET PŠENIČNIH MEKINJA NAKON IZOLOVANJA FITINSKE KISELINE

Marijana Milić, T. Stojsavljević, M. Žeželj

Izvorni znanstveni rad
Primljeno: 16. 8. 1990.

SAŽETAK

Ekstrahovanjem pšeničnih mekinja koje su sadržale 3,63% fitinske kiseline na suhu materiju s 2,4% HCl u trajanju od jednog časa dobivene su nakon ceđenja, ispiranja i sušenja izlužene pšenične mekinje s 0,20% fitinske kiseline, što se smatra dobrim stepenom otklanjanja fitinskih jedinjenja jednokratnom ekstrakcijom.

Polaznim i izluženim pšeničnim mekinjama određivane su neke hemijske karakteristike, koje su ukazale da se ekstrakcijom mekinja snižava ukupan kvalitet polaznih mekinja kao stočnog hraniva, pošto se uklanjanjem fitinske kiseline odstranjuju i druge nutritivne komponente, a naročito mineralne materije i proteini.

Opravdanost ovog postupka može se tražiti u potrebi dobijanja fitinskih preparata, koji se koriste u vinarskoj industriji za proces bistrenja vina, a ne proizvode se u nas.

Uvod

Fitinska kiselina je myo-inozitol-heksafosfat, $C_6H_6(OPO/OH)_2$, jedinjenje čija je hemijska struktura u saglasnosti s činjenicom da ona gradi soli s dvanaest ekvivalenta nekog metala. Najpoznatija so fitinske kiseline je fitin, mešovita kalcijum-magnezijumova so myo-inozitol-heksafosfata, i u tom se obliku fitinska kiselina najčešće javlja u većini biljaka.

Fitinska kiselina i njene soli su jedan od osnovnih oblika organskog fosfora kod mnogih biljaka (Posternak, 1903; Webster, 1928), gde su prisutne uglavnom u semenu kao rezerva fosfora. Žitarice i uljarice sadrže oko 1–2% fitina, dok neki autori kod pojedinih sorti navode i nivoe od 3–6% (Erdman, 1979; Harland i Prosky, 1979). Udeo fitinskog u ukupnom fosforu se kreće od 60–90%. Smatra se da je uloga fitinske kiseline kod biljaka upravo vezana za ovako visok sadržaj fosfora, jer ona predstavlja izvor reaktivnih fosfatnih grupa (Aktinson i

Morton, 1960; Hall i Hodges, 1966). Biljke poseduju enzimatski sistem, tj. specifične fosfataze (»fitaze«), kojima fitinsku kiselinu prevode u niže estere.

Za razliku od biljnog sveta, životinjski organizam ne raspolaže neophodnim enzimatskim sistemom za razgradnju ovakvih jedinjenja, te je, stoga, veliki deo fosfora sadržanog u nekom hranivu biljnog porekla s visokim sadržajem fitata neiskoristiv za životinju koja ga konzumira (Charpe i drugi, 1950; Hussain i drugi, 1965). Pored toga, fitinska kiselina ima izraženu sposobnost kompleksiranja pozitivno naelektrisanih čestica, u prvom redu makro i mikroelemenata, usled čega u biljkama čini »depo« ovih sastojaka (Vohra i Kratzer, 1965; Williams, 1970). Tako, na primer, ona kompleksira kalcijum (Harrison i Mellanby, 1939; Krebs i Mellanby, 1943) magne-

Dipl. hem. Marijana Milić, prof. dr. Tihomir Stojsavljević – Institut za tehnologiju stočne hrane, Tehnološki fakultet, Novi Sad; prof. dr. Milan Žeželj – Poljoprivredni fakultet, Zemun.

zijum (Roberts i Yudkin, 1960; Forbes, 1964), cink (O'Dell i Savage, 1960; Forbes, 1964; Oberleas i drugi, 1966; O'Dell, 1969; Ranhotra i drugi, 1978), a takode i Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} . Sposobnost kompleksiranja pozitivnih čestica omogućava fitinskoj kiselini da, pri pH karakterističnim za njene biljne izvore, kompleksne spojeve stvara i s proteinima (Cheryan, 1980; Kellner i Becker, 1971; O'Dell i DeBoiland, 1976). Navedene osobine fitinske kiseline objašnjavaju zašto je većina autora smatra antinutritivnom komponentom hraniva u kojima je značajnije prisutna (Charpe i drugi, 1950; Hussain i drugi, 1965).

Pšenično zrno sadrži značajnije količine fitata. Prema podacima iz literature sadržaj ovih jedinjenja u pšenici kreće se od 0,62 do 1,35% na suhu materiju, tj. udeo fitinskog u ukupno prisutnom fosforu iznosi od 62–80% (Lolas i drugi, 1976). Kod zrelih žitarica, pa i u pšenici, fitati se nalaze uglavnom u ljuskama i aleuronskom sloju (Roberts i Yudkin, 1960; O'Dell i drugi, 1972), pa se, stoga, najveći deo fitinske kiseline nalazi u pšeničnim mekinjama. Prema Lolasu i drugima (1976) sadržaj fitinske kiseline u mekinjama se kreće od 4,6–5,5% na suhu materiju, tj. od 85–89% ukupnog fosfora je fitinski fosfor. Uz to, prema Caniću i Stojavljeviću (1964), oko dve trećine fitinske kiseline u pšenici su neutralisane kalcijumom i magnezijumom, što ove elemente čini praktično neiskoristivim u životinjskom organizmu.

Pored navedenog uticaja fitinske kiseline i njenih jedinjenja na iskoristivost pojedinih hranljivih sastojaka, ove materije imaju kao čisti proizvodi primenu u prehrambenoj industriji, kao na primer u vinarskoj, gde se koriste za proces bistrenja vina (Ogino i drugi, 1978).

Upravo zato je ideja o izolovanju fitinskih preparata iz pšeničnih mekinja bila u svakom slučaju opravdana, jer se oni ne proizvode u nas. Njihovim izolovanjem dobijene su izlužene pšenične mekinje, čija je hranljiva vrednost kao stočnog hraniva komparirana s hranljivom vrednošću polaznog materijala.

Materijal i metode rada

Kao polazni materijal u našem radu korišćene su pšenične mekinje iz redovne proizvodnje.

U cilju izolovanja fitinskih jedinjenja iz pšeničnih mekinja korišćena je 2,4% HCl (Latta i Eskin, 1980). Deset grama mekinja je na laboratorijskoj mućkalici ekstrahovano 1 čas sa 100 ml 2,4% HCl. Bistri ekstrakt je dobijen ceđenjem preko grubog filter papira i u njega je dodavana preračunata količina aminijum-ferisulfata ($\text{NH}_4 \text{FeSO}_4$) \cdot 12 H_2O , rastvorena u 2 M HCl / 2 g amonijum-ferisulfata (100 ml 2 M HCl), radi taloženja fitinske kiseline u obliku Fe (III)-fitata. Dobijeni pahuljičasti voluminozni bleđožuti talog Fe (III)-fitata odvajan je od supernatanta centrifugiranjem na 6000 o/min. i ispiran destilovanom vodom nekoliko puta. Talog je dalje tretiran s 1 M NaOH do njegovog

potpunog rastvaranja i prevodenja Fe (III)-jona iz Fe (III)-fitata u ferihidroksid Fe (OH) $_3$. Bistri supernatant je odvajan nakon centrifugiranja na 6000 o/min, i iz njega je taložen Na-fitat dodavanjem etanola ili metanola na hladno. Nakon ceđenja i sušenja na vazduhu dobijen je Na-fitat u prinosu od 52%.

Iz ekstrahovane mekinje su ispirane destilovanom vodom do neutralne reakcije i potom sušene na vazduhu stajanjem.

Polaznim i izluženim pšeničnim mekinjama određene su neke hemijske karakteristike primenom sledećih laboratorijskih metoda:

- osnovni hemijski sastav (vlaga, sirovi protein, sirova celuloza, sirova mast, mineralne materije) po Official Methods of Analysis (A. O. A. C., 1984);

- sadržaj kalcijuma, fosfora, magnezijuma, cinka, mangana, bakra i gvožđa po metodama iz »Sl. lista SFRJ« br. 15/1987;

- hidroliza proteina je vršena prema Dastinu i drugima, 1953. Pojedine aminokiseline su određene na analizatoru Biotronik, model LC 5001, korišćenjem ninhidrina s TiCl_3 kao bojenog reagensa;

- cistin i metionin analizom prethodno oksidisanih uzoraka po Mooru i drugima (»Sl. list SFRJ« br. 15, 1987);

- fitinska kiselina po metodi Hauga i Lantzscha (1983), taloženjem fitinske kiseline Fe (III)-jonima i merenjem količine zaostalih Fe (III)-jona spektrofotometrijski, građenjem kompleksa s 2,2'-bipiridinom.

Rezultati i diskusija

Ekstrahovanjem polaznih pšeničnih mekinja s 2,4% HCl u trajanju od jednog časa nivo fitinske kiseline se snizio s 3,63%, preračunato na suhu materiju, u polaznim pšeničnim mekinjama (što je nešto niži sadržaj za pšenične mekinje u odnosu na literaturne podatke, Lolas i drugi, 1987) na 0,20%, preračunato na suhu materiju u izluženim pšeničnim mekinjama, što bi se moglo smatrati dobrim stepenom otklanjanja fitinskih jedinjenja jednokratnom ekstrakcijom (tabela 2). Na ovakav način preko 80% fitata je uklonjeno iz mekinja.

Osnovni hemijski sastav polaznih i izluženih mekinja prikazan je u tabeli 1.

Vrednost za sirovi protein se snizila s 19,90% u suvoj materiji polaznih mekinja na 16,08% u suvoj materiji izluženih mekinja, što je značajan gubitak od 19,19%. Mineralne materije su sa nivoa od 5,61% pale na 0,51%, preračunato na suhu materiju, što ukazuje da se 90,91% mineralnih materija iz ekstrahovalo na gore opisani način.

Osnovni hemijski sastav polaznih (1) i izluženih (2) pšeničnih mekinja

Chemical composition of starting (1) and spent (2) wheat bran

Tabela 1 – Table 1

pokazatelji Item	1	2
vлага (%) Moisture (%)	9,04	7,06
sirovi protein (% u SM) Crude protein (% in DM)	19,90	16,08
sirova celuloza (% u SM) Crude fibre (% in DM)	9,93	15,87
sirova mast (% u SM) Crude fat (% in DM)	4,51	5,86
mineralne materije (% u SM) Mineral matters (% in DM)	5,61	0,51
BEM (% u SM) N-free extract (% in DM)	60,05	61,68
ukupno Total	100,00	100,00

Ove promene su bile praćene porastom sadržaja sirove celuloze za 59,81%, odnosno porastom sirove masti za 29,93% u odnosu na polazni materijal. Jasno je da se ovakvim tretiranjem pšeničnih mekinja njihov kvalitet snižava, jer su gubici u sirovom proteinu i mineralnim materijama znatni. Ovome u prilog idu i podaci za sadržaje nekih makro i mikroelemenata, prikazani u tabeli 2.

Sadržaj nekih makro i mikroelemenata i fitinske kiseline u polaznim (1) i izluženim (2) pšeničnim mekinjama
Some macro and micro elements and phytic acid level in starting (1) and spent (2) wheat bran

Tabela 2 – Table 2

pokazatelji Item	1	2
kalcijum (mg/100 g SM) Calcium (mg/100 g DM)	106,36	34,76
fosfor (mg/100 g SM) Phosphorus (mg/100 g DM)	1215,56	225,83
magnezijum (mg/100 g SM) Magnesium (mg/100 g DM)	403,14	134,38
čink (mg/kg SM) Zinc (mg/kg DM)	62,44	T
mangan (mg/kg SM) Manganese (mg/kg DM)	99,43	T
bakar (mg/kg SM) Copper (mg/kg DM)	23,09	T
gvožđe (mg/kg SM) Iron (mg/kg DM)	141,00	36,13
fitinska kiselina (% u SM) Phytic acid (% in DM)	3,63	0,20

Sadržaj fitinske kiseline u polaznim mekinjama iznosi 3,63% na suhu materiju, iz čega se preračunom dobija da je sadržaj fitinskog fosfora 1.023,00 mg/100 g suve materije. Pošto je sadržaj ukupnog fosfora u polaznim mekinjama 1.215,56 mg/100 g suve materije (tabela 2), udeo fitinskog u ukupnom fosforu je izrazito visok i iznosi 84,16%. To je u saglasnosti s literaturnim podacima (Lolas i drugi, 1976 ; Cheryan, 1980) i ide u prilog tvrdnji da je nivo iskoristivog fosfora u pšeničnim mekinjama nizak (Charepe i drugi, 1950; Hussain i drugi, 1965), o čemu se mora voditi računa pri balansiranju obroka ovom vrstom hraniva.

Aminokiselinski sastav polaznih (1) i izluženih (2) pšeničnih mekinja
Amino acid composition of starting (1) and spent (2) wheat bran

Tabela 3 – Table 3

aminokiseline (% u SM) Amino acids (% in DM)	1	2
asparaginska kiselina Aspartic acid	1,04	0,81
treonin Threonine	0,67	0,65
serin Serine	0,78	0,67
glutaminska kiselina Glutamic acid	3,88	1,70
prolin Proline	1,13	0,69
glicin Glycine	0,80	0,71
alanin Alanine	0,77	0,70
cistin Cystine	0,35	0,20
valin Valine	0,68	0,66
metionin Methionine	0,26	0,19
izoleucin Isoleucine	0,51	0,13
leucin Leucine	0,92	0,82
tirozin Tyrosine	0,54	0,45
fenilalanin Phenylalanine	0,74	0,64
histidin Histidine	0,82	0,69
lizin Lysine	0,71	0,68
arginin Arginine	1,14	1,05

Nivoi kalcijuma (106,36 mg/100 g suve materije) i magnezijuma (403,14 mg/100 g suve materije) (tabela 2) u saglasnosti su sa odgovarajućim vrednostima za te elemente datim u literaturi (Kellner i Becker, 1971). Njihov ukupan sadržaj (19,24 mmol/100 g SM) prema sadržaju fitinske kiseline (5,50 mmol/100 g SM), koja gradi soli s dvanaest ekvivalenta nekog metala, neutrališe 58,30% fitinske kiseline iz polaznih mekinja. To odgovara literaturnom navodu Canića i Stojsavljevića (1964), po kome se oko dve trećine fitinske kiseline u pšenici neutrališe kalcijumom i magnezijumom, čineći ih praktično neiskoristivim za životinju.

Prilikom ekstrakcije sadržaj svih elemenata bitno se snižava. Nivo kalcijuma pada za 67,32%, magnezijuma za 66,67% a fosfora za 81,42%, u odnosu na polazne mekinje. Pošto je sadržaj fitinske kiseline u izluženim mekinjama 0,20% na suhu materiju, sadržaj fitinskog fosfora iznosi svega 56,36 mg/100 g suve materije. To praktično znači da se ekstrakcijom fitinskih jedinjenja skoro sav fitinski fosfor uklanja iz mekinja, jer mu nivo sa 1.023,00 mg/100 g SM pada na 56,36 mg/100 g SM. Razlika ukupnog (tabela 2) i fitinskog fosfora u izluženim mekinjama iznosi 169,47 mg/100 g SM, što predstavlja deo iskoristivog fosfora iz polaznih mekinja, čiji sadržaj iznosi 192,56 mg/100 g SM. Tako gledano, gubitak iskoristivog fosfora iznosi 11,99% u odnosu na polazne mekinje, što je mnogo niže od navedenih 81,42%, kada je u pitanju ukupan fosfor.

Odnos ukupnog nivoa kalcijuma i magnezijuma naprama nivou fitinske kiseline u izluženim mekinjama bitno je drugačiji nego kod polaznih mekinja. Kod izluženih mekinja ukupan sadržaj kalcijuma i magnezijuma (6,40 mmol/100 g SM) znatno premašuje sadržaj fitinske kiseline (0,30 mmol/100 g SM), koja je verovatno potpuno neutralisana kalcijumom i magnezijumom. To ukazuje na mogućnost da se ekstrakcijom fitinskih jedinjenja deo kalcijuma i magnezijuma vezanih za fitinsku kiselinu oslobađa i ostaje u izluženim mekinjama, jer bi u protivnom sadržaj ovih elemenata u izluženim mekinjama bio niži nego što je dobijeno.

Ekstrakcijom polaznih mekinja sadržaji cinka, mangana i bakra snižavaju se na nivoe tragova (tabela 2), dok se sadržaj gvožđa snižava za 74,38% u odnosu na polazne mekinje.

Aminokiselinski sastavi polaznih i izluženih pšeničnih mekinja (tabela 3) takođe svedoče o snižavanju kvaliteta pšeničnih mekinja ekstrahovanjem fitinskih jedinjenja. Step sniženja je veoma različit i kreće se od svega 2,94% za valin do čak 74,51% za izoleucin. Prilični gubici javljaju se i za asparaginsku kiselinu (22,11%), glutaminsku kiselinu (56,18%), prolin (38,94%), metionin (26,92%) i cistin (46,87%).

Zaključci

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja može se zaključiti:

1. Ekstrahovanjem pšeničnih mekinja koje su sadržale 3,63% fitinske kiseline na suhu materiju s 2,4% HCl u trajanju od jednog časa dobijene su nakon ceđenja, ispiranja i sušenja izlužene pšenične mekinje s 0,20% fitinske kiseline na suhu materiju, što se može smatrati dobrim stepenom otklanjanja fitinskih jedinjenja jednokratnom ekstrakcijom.

2. Kompariranjem hranjive vrednosti polaznih i izluženih pšeničnih mekinja može se konstatovati da se uklanjanjem fitinske kiseline kao antinutritivne komponente snižava ukupan kvalitet polaznih pšeničnih mekinja kao stočnog hraniva, jer se njenim ekstrahovanjem odstranjuju nutritivne komponente, a naročito proteini i mineralne materije. Sadržaj proteina se snižava za 19,19%, a mineralnih materija za 90,91% u odnosu na polazni materijal. Gubici pojedinih makro i mikroelemenata su znatni i iznose: 67,32% za kalcijum, 66,67% za magnezijum, 81,42% za fosfor, 74,30% za gvožđe. Sadržaji cinka, mangana i bakra dovode se na nivo tragova. Aminokiselinski sastav takođe potvrđuje sniženje kvaliteta.

Literatura

1. Anon.: A. O. A. C., Official methods of analysis. 14th Ed. Assoc. of Anal. Chem., Washington, 1984.
2. Anon.: Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane. Službeni list SFRJ br. 15, 1987.
3. Atkinson, M. R., Morton, R. K.: Free energy and the biosynthesis of phosphates. Comparative Biochemistry 2, Academic Press, New York, 1960.
4. Canić, V., Stojsavljević, T. (1964): Sadržaj fitina u pšenicama. Glasnik hemijskog društva 29, 73, 1964.
5. Charpe, L. M., Peacock, W. C., Cooke, R., Harris, R. S. (1950): The effect of phytate and other food factors on iron absorption. J. Nutr. 41, 433.
6. Cheryan, M. (1980): Phytic acid interactions in food systems. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 13, 297.
7. Dustin, P., Schram, E., Moore, S., Bigwood, E. J. (1953): Bull. Soc. Chim. Biol. 33.
8. Erdman, J. W. (1979): Oilseed phytates: nutrition implications. J. Am. Oil Chem. Soc. 54, 736.
9. Forbes, R. M. (1964): Mineral utilization in the rat. III Effects on calcium, phosphorus, lactose and source of protein in zinc deficient and zinc adequate diets. J. Nutr. 83, 225.
10. Hall, R. J., Hodges, T. K. (1966): Phosphorus metabolism of germinating oat seeds. Plant Physiol. 41, 1459.
11. Harland, B. F., Prosky, L. (1979): Development of dietary fiber values for foods. Cereal Foods World 24, 387.
12. Harrison, D. C., Mellanby, E. (1939): Phytic acid and the rickets – producing action of cereals. Biochem. J. 33, 1660.
13. Haug, W., Lantzsch, H. J. (1983): A sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J. Sci. Food Agric. 34, 1423.
14. Hill, R., Tyler, C. (1954): The reaction between phytate and protein. J. Agric. Sci. 44, 324.

15. Hussain, C. A., Walker, R. B., Layrisse, M., Clark, P., Finch, C. A. (1965): Nutritive value of food iron. *Am. J. Clin. Nutr.* 16, 464.
16. Kellner, O., Becker, M.: *Universal – Futterwerttabellen*, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 1971.
17. Krebs, J. A., Mellanby, K. (1943): The effect of national wheatmeal on the absorption of calcium. *Biochem. J.* 37, 466.
18. Latta, M., Eskin, M. A. (1980): A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J. Agric – Food Chem.* 28, 1313.
19. Lolas, G. M., Palamidis, N., Markasis, P. (1976): The phytic acid – total phosphorus relation in barley, oats, soybeans and wheat. *Cereal Chem.* 53, 867.
20. Oberleas, D., Muhrer, M. E., O'Dell, B. L. (1966): Dietary metalcomplexing agents and zinc availability in the rat. *J. Nutr.* 90, 56.
21. O'Dell, B. L., Savage, J. E. (1960): Effect of phytic acid on zinc availability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 103, 304.
22. O'Dell, B. L. (1969): Effect of dietary components upon zinc availability. *Am. J. Clin. Nutr.* 22, 1315.
23. O'Dell, B. L., DeBoland, A. R., Koirtyhann, S. R. (1972): Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 20, 718.
24. O'Dell, B. L., DeBoland, A. R. (1976): Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. *J. Agric. Food Chem.* 24, 804.
25. Ogino, S., Iino, S., Watanabe, M., Kagami, H. (1978): Use of phytates for the removal of iron in wines. *Yamanashi-ken Shokuhim Kogyo Shidosho Kenkyu Hokuko* 10, 79; *Chem. Abstr.* 90, 119711.
26. Posternak, S. (1903): Sur la constitutions de l'acide phosphoorganique de reserve des plantes vartes et sur le premier produit de reduction du gaz carbonique l'acte. *C. R. Acad. Sci.* 137, 439.
27. Posternak, S. (1903): Sur un nouveau principe phosphoorganique d'agrigne vegetale, la phytine. *C. R. Soc. Biol.* 55, 1190.
28. Ranhotra, G. S., Lee, C., Gelroth, J. A. (1978): Bioavailability of zinc in soy-fortified wheat bread. *Nutr. Rep. Int.* 18, 487.
29. Roberts, A. H., Yudkin, J. (1960): Dietary phytate as a possible cause of magnesium deficiency. *Nature (London)* 185, 823.
30. Vohra, P., Kratzer, F. H. (1965): Phytic acid-metal complexes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120, 447.
31. Webster, E. (1928): Phosphorus distribution in grains. *J. Agric. Res.* 37, 123.
32. Williams, S. G. (1970): The source of phytic acid in the wheat grain. *Plant Physiol.* 45, 376.

WHEAT BRAN QUALITY AFTER PHYTIC ACID EXTRACTION

SUMMARY

By extraction of wheat bran containing 3.63% of phytic acid in dry matter with 2.4% of HCl for 1 hour after pressing, washing and drying we have obtained spent wheat bran containing 0.20% of phytic acid which we consider to be a good degree of phytic acid removal by one-time extraction.

For the starting and the spent wheat bran some chemical properties were determined showing that the total quality of starting bran as animal feed was decreased by bran extraction because by phytic acid removal some other nutritive components, particularly mineral matters and protein, were also extracted.

This procedure can be justified by the need to obtain phytic acid preparations used in wine production for wine clarification which are not manufactured in Yugoslavia.