



NMR SPEKTROSKOPİSİ İLE EKMEKLİK BUĞDAYDA KİMYASAL İÇERİK ANALİZİ

Murat OLGUN¹ , Gökhan DİKMEN² , Zekiye Budak BAŞÇİFTÇİ¹ ,
Yaşar KARADUMAN⁴ , N. Gözde AYTER ARPACIOĞLU¹ , Doğan AYDIN¹ ,
Savaş BELEN⁴ , Murat ARDIÇ³ , Onur KOYUNCU³ , Okan SEZER^{3*}

¹ Tarla Bitkileri, Ziraat Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye

² Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARUM), Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye

³ Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye

³ Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Eskişehir, Türkiye

ÖZET

Bu çalışmada ¹H Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi metodu ile farklı buğday çeşitlerinin kimyasal içerikleri ve bunların benzerlik ve farklılıkları Cluster Analizi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada Gerek 79, Carisma, Bayraktar, Artico ve çeşit adayı bir hattın (Advanced Line) tohumları kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, NMR spektroskopisi ile ekmeçlik buğday çeşitlerinin amino asit ve şekerleri' de kapsayan kimyasal içeriklerinin güvenli bir şekilde tespit edilebileceği belirlenmiştir. Çalışmamızda bisküvilik kalite özelliğine daha yakın olan Carisma ve Bayraktar çeşitlerinin aynı grubu oluşturması, daha çok ekmeç kalite özelliğine daha yakın performansla sahip Gerek 79, Artico ve çeşit adayı hattın da (advanced line) başka grubu oluşturması NMR spektroskopisi metodunun güvenli ekmeçlik buğday çalışmalarında kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Buğday, çeşit, kimyasal kompozisyon, şeker, amino asit, NMR spektroskopisi

ANALYSIS OF CHEMICAL COMPOSITION IN BREAD WHEAT BY NMR SPECTROSCOPY

ABSTRACT

In this study, the chemical contents of different wheat varieties and their similarities/differences were determined by ¹H Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy method and Cluster Analysis. Bread wheat genotypes, Gerek 79, Carisma, Bayraktar, Artico and Advanced Line were used. It was determined that the chemical contents of bread wheat varieties including amino acids and sugars can be determined safely by NMR spectroscopy method. Carisma and Bayraktar genotypes, closer to the biscuit quality feature, formed the same group. Besides, having bread quality features, Gerek 79, Artico and Advanced Line created another group. This reveals that NMR spectroscopy method can be safely used in bread wheat studies.

Keywords: Wheat, genotype, chemical composition, sugar, amino acid, NMR spectroscopy

1. GİRİŞ

Buğday (*T. aestivum* L.) insan beslenmesinde kullanılan önemli bir bitki olup, geniş adaptasyon kabiliyeti, yetiştirme teknikleri maliyetlerinin düşüklüğü, kolay depolama ve işleme, uzun süre depolanabilirliği, zengin besin içeriği ve toplumun damak zevkine uygun temel besin kaynağı olması, yüksek protein içeriği ile enerji ihtiyacının önemli bir kısmını karşılaması nedeniyle insan beslenmesinde ve gıda endüstrisinde hayati öneme sahiptir [2, 3]. Diğer bir deyişle, buğday un, bulgur, makarna, nişasta olarak toplumun gıda ihtiyacının karşılanmasında, sapsarı ile de hayvan beslenmesinde ve endüstride kullanılmaktadır. Bu özellikleri sebebi ile uzun yıllar boyunca yürütülen ıslah çalışmaları sonucunda yüksek verimli ve kaliteli çeşitler geliştirilerek kullanıma sunulmuştur. Buğdaya olan ihtiyacın gittikçe artması üretiminin artırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu amaçla buğdayda çeşitlilik ve kalitenin artırılması zorunlu olmaktadır [2, 9, 13, 15].

*Sorumlu Yazar: oksezer@ogu.edu.tr

Geliş: 19.11.2019 Yayın:30.07.2020

Toplumun beslenmesi açısından kullanılan çeşitlerin protein içeriğinin yüksek olması çok önemli olmakla beraber, bisküvi sanayi için düşük proteinli çeşitlerin geliştirilerek kullanımının artması da oldukça önemlidir. Kalite, parasal olarak yüksek anlamına gelmeyip, aslında kullanım amacına uygunluk derecesine göre değişir. Buğday ununun içerdiği kimyasal bileşim kalitesini oldukça etkilemektedir [4]. Buğday ununun bileşiminde bulunan proteinler, karbonhidratlar, lipitler, enzimler, mineral maddeler, amino ve organik asitler çeşitler arasında farklılık gösterdiği gibi, farklı çevre koşulları ve farklı agronomik uygulamalara bağlı olarak da farklılık gösterebilmektedir [1]. Her ne şekilde olursa olsun materyalin kalitesini belirlemek onun kullanılabilirliğini ve değerini ortaya koymada oldukça önemlidir. Buğday ununun fiziksel ve kimyasal bileşimini oluşturan bu maddelerin miktarını ve fonksiyonlarını ortaya koyma birtakım laboratuvar analizleri ile belirlemek mümkündür. Fiziksel ve kimyasal analizlerin yapılabilmesi ancak oldukça maliyet gerektiren laboratuvar cihazlarına sahip donanımlı laboratuvarlarda mümkün olacaktır. Ayrıca bu cihazların kullanımı birçok kimyasal kullanımı da gerekmektedir [1, 5, 8, 12, 19]. Son yıllarda materyallerin hızlı, kolay ve güvenilir sonuçlar veren analizleri tercih edilmeye başlanmış olup, NMR spektroskopisi bu analiz metotlarından birisidir [20, 21]. NMR spektroskopisi incelenen materyalin kimyasal içeriğini, incelenmek istenen kimyasal maddelerin varlığını belirlemede kullanılan bir metottur. İçerik analizi bilinen kimyasal bileşikler kantitatif olarak belirleyebilir [19]. NMR esas olarak materyal içeriğinde bulunan bileşiklerde çekirdeğin dönüşüne bağlı olarak elektrik yüklenmesi olup, uygulanan harici manyetik alanla birlikte daha yüksek bir seviyeye enerji geçişidir. Bu geçiş ile aktarılan enerji radyo frekansı ile eşdeğer dalga boyunda oluşur ve eşit frekansta enerji yayılır. Bu enerji aktarımına karşılık gelen sinyalle birlikte NMR spektrumu oluşur ve bu kaydedilir [21]. NMR spektroskopisi yeni bir metod olup tahıllarda tohumun içerik analizinde başarı ile kullanılmaktadır [20, 21]. Bu çalışmada ¹H NMR spektroskopisi metodu ile farklı buğday çeşitlerinin kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Yine buradan elde edilen NMR spektrum değerleri kullanılarak Cluster Analizi ile araştırılan çeşitlerin benzerlik ve farklılıkları belirlenmeye çalışılmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEMLER

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi deneme alanında 2018-2019 üretim sezonunda ekmeçlik buğday denemesinde kullanılan Gerek 79, Carisma, Bayraktar, Artico ve çeşit adayı bir hattın (Advanced Line) tohumları kullanılmıştır. **Gerek 79:** Ekmeçlik buğday, kılçıklı, orta erkenci, geniş adaptasyona sahiptir. Soğuğa ve kurağa orta derecede dayanıklı, sarı pasa ve kahverengi pasa dayanıklıdır. Yumuşak beyaz taneli olup, bitki boyu 90-100 cm, protein oranı %12-14, bin tane ağırlığı 35-37 g'dır. **Artico:** Ekmeçlik buğday, kılçıksız, orta erkenci, adaptasyonu geniş, soğuğa, kurağa, sarı ve kahverengi pasa dayanıklı, kırmızı yumuşak taneli, bitki boyu 70-80 cm, protein oranı %12-13, bin tane ağırlığı 38-40 g'dır. **Bayraktar:** Ekmeçlik buğday, kılçıklı, erkenci, çevresel koşullara adaptasyonu geniş, soğuğa, kurağa ve yatmaya, sarı pasa ve kahverengi pasa dayanıklıdır. Yarı sert beyaz taneli olup, bitki boyu 80-90 cm, protein oranı %11-13, bin tane ağırlığı 32-35 g'dır. **Carisma:** Bisküvilik buğday, kılçıklı, orta erkenci, çevresel koşullara adaptasyonu geniş, soğuğa, kurağa ve yatmaya, sarı pasa ve kahverengi pasa dayanıklıdır. Yumuşak beyaz taneli olup, bitki boyu 60-70 cm, protein oranı %10-11, bin tane ağırlığı 33-37 g'dır. **Çeşit Adayı Hat (Advanced Line):** Ekmeçlik buğday, kılçıklı, adaptasyon kabiliyeti iyi, orta erkenci, soğuğa, kurağa, sarı ve kahverengi pasa dayanıklı, kırmızı orta sert taneli, bitki boyu 80-90 cm, protein oranı %11-13, bin tane ağırlığı 34-38 g'dır.

Elde edilen buğday tohum örnekleri analiz yapılana kadar 20°C'de kuru koşullarda depolanmıştır. Analiz yapılacak örneklerin nem içeriği %15'e yükseltilmiş ve örnekler Chopin marka (Moulin Cd Type) değirmende öğütülmüştür. Öğütülen tohumlardan alınan 1gr örneklerin preparasyonunda ilgili literatürlerde uygulanan yöntemler esas alınmıştır [8, 12, 19]. Örnekler 1 mM sodium trimethylsilyl-2,2,3,3,-tetradeuteropropionate içeren 650 µl 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0), D₂O-CD₃OD çözeltisinde çözülmesi sağlanmış ve 50°C'de 10 dakika bekletilmiştir. Örnekler 10000 devir/da. 5 dakika santrifüje maruz bırakılmış ve sıvı başka bir kaplara alınmıştır. Sıvı örnekler enzim aktivitesini durdurmak amacıyla 90°C'de 2 dakika bekletilmiştir. Soğuyan örnekler 2 dakika süreyle tekrar 10000

devir/da santrifüje maruz bırakılmış ve ^1H NMR spektroskopisi analizi gerçekleştirilebilmiştir. NMR spektroskopisi analizleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkez Labotatuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Elde edilen NMR spektrum değerleri belirlenerek Cluster analizine tabi tutulmuş [11, 17] olup, analiz için Minitab 16 paket programı kullanılmıştır. NMR spektroskopisi analizi için JEOL ECZ 500R cihazı kullanılmış olup cihaza ait görsel Şekil 1’de verilmiştir.



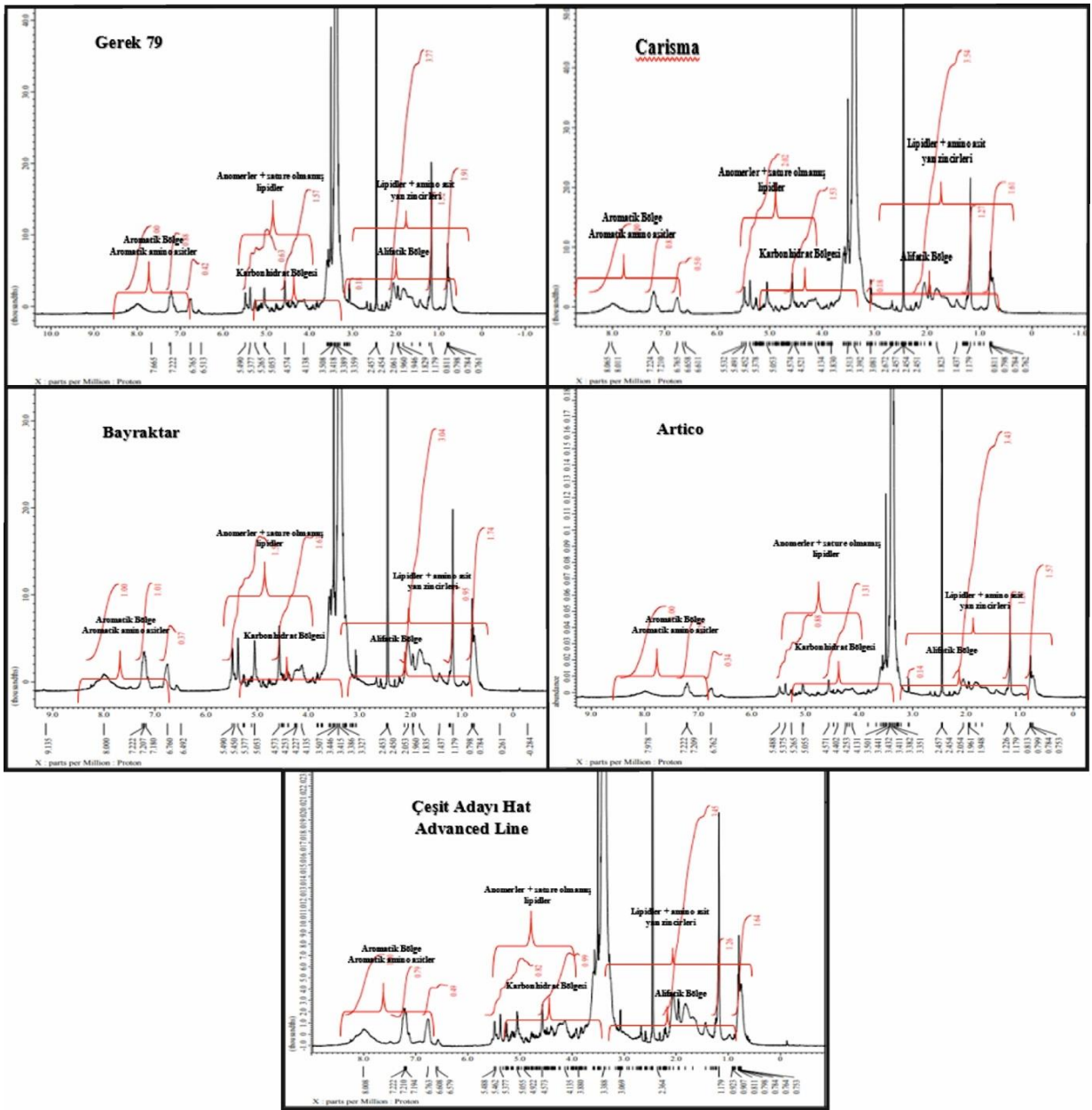
Şekil 1. NMR spektroskopisi analizi için kullanılan Jeol Ecz 500R cihazı

3. TARTIŞMA ve SONUÇ

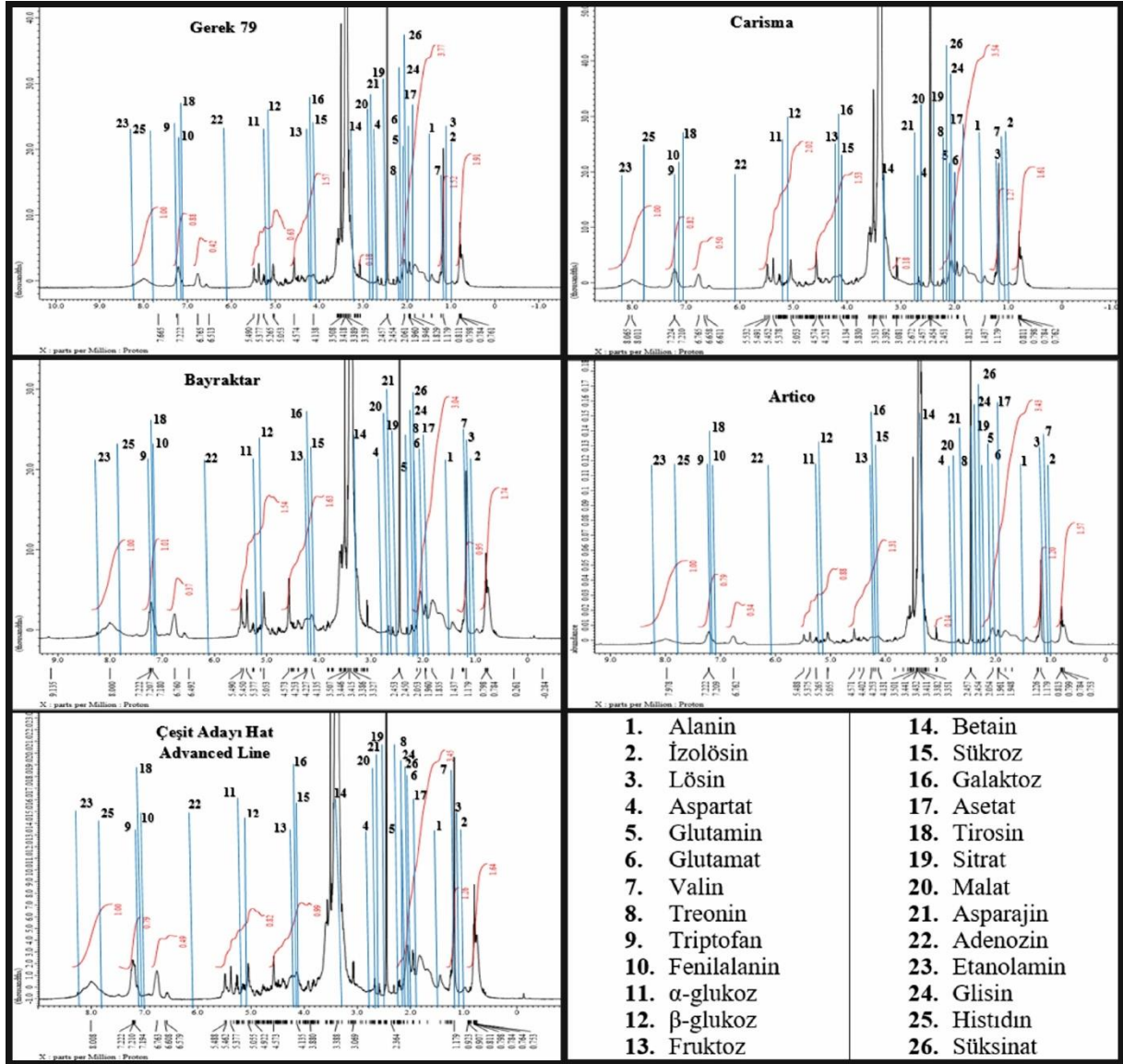
Gerek ekmek ve diğer fırın ürünleri olarak insan beslenmesinde ve gerekse gıda endüstrisinde hammadde olarak kullanılan buğday ununun fiziksel ve kimyasal kompozisyonu kalite değerini etkilemekte, bu kalite değeri buğday tür ve çeşitlerine göre değişebilmektedir. Ayrıca kalite değeri genotip x çevre interaksyonuna bağlı olarak değişmektedir. Diğer taraftan nüfusunun yeterli ve kaliteli beslenmesi açısından besleme kalitesi yüksek çeşitlerin geliştirilmesi gerekir. Bu amaçla ıslah programlarında kalite detaylı ölçümlerinin yapılması gerekir [1, 6, 10, 18, 22, 23]. Birçok bitkide olduğu gibi buğday ununda ve gerekse çimlenen tohumda kimyasal yapı ve meydana gelen değişiklikler NMR spektroskopisi ile incelenmiştir [14, 16].

Bu çalışmada buğday çeşitlerinin ^1H NMR spektrumu ile belirlenen kimyasal içerikleri Şekil 2’de verilmiştir. Şekil 2’den de görüldüğü gibi, çeşitlerin içerdiği bileşenlerin kimyasal yapısında bulunan bileşiklerin aromatik bölgedeki proton rezonans sinyalleri ve bu bölgedeki amino asitlerin proton sinyalleri 6,5-8,0 ppm bölgesinde gözlenmiştir. Ayrıca bileşenlerin içeriğindeki belirli karbonhidratlar ^1H NMR spektrumunda 3,0-5,5 ppm aralığında bulunmuştur. NMR spektroskopisi analizi ile buğdayda yapılan literatür çalışmalarında karbonhidratların belirgin bir şekilde belirlenebildiği, karbonhidratların spektrumda genelde 3,0-5,5 ppm arasında dağılım gösterdiği ve spektrumda aromatik gruplar içeren bölge maddelerin proton sinyallerinin alifatik gruplar içerenlere göre daha yüksek ppm’e sahip oldukları belirlenmiştir [7, 14, 21, 24]. Çeşitlerin içeriğinde bulunan bileşenlerden düz ve/veya dallanmış alifatik karbon zincirlerine sahip olan maddeler glisin, alanin, valin, lösin, izolösin, prolin, metiyonin ve sistin gibi alifatik amino asitlerdir. Diğer taraftan, aromatik benzen halkası ve türevlerini içeren bileşenler ise fenilalanin, tirozin ve triptofan aromatik amino asitleri olarak karşımıza çıkmaktadır [7, 16, 24]. Çalışmamızda çeşitler üzerinde yapılan ^1H NMR analizleri sonucunda, alifatik bölge ve bu bölgede bulunan lipitler, amino asitler ve diğer bileşiklerin proton sinyalleri 0-3 ppm aralığında görülürken, aromatik bölge ve bu bölgede bulunan amino asitler ve diğer bileşikler için proton rezonans sinyalleri 6,5 ppm ve daha öte aralıkta belirlenmiştir. NMR analizi ile, bir materyaldeki mevcut bileşikler ve

karışımlar NMR spektral kütüphanelerle eşleştirerek temel yapının anlaşılabilmesi ve çözeltide moleküler konfirmasyonun belirlenmesiyle, moleküler düzeyde fiziksel yapı belirlenebilmektedir. Diğer bir deyişle bu sistem moleküler yapının bilgisine erişim imkanı sağlamaktadır [7, 14]. Çeşitlerin ^1H NMR spektrumu ile amino asitler ve şekerleri de kapsayan kimyasal içerikleri Şekil 3’de verilmiştir. Şekil 3’de görülen çeşitlerin amino asit ve şeker dağılımı benzerlik göstermekle birlikte miktarsal olarak birbirinden ayrılmaktadır. Şekerler için proton rezonans sinyalleri yaklaşık olarak 3,0-5,0 ppm aralığında dağılım göstermiştir (Şekil 3). Triptofan, fenilalanin, tirosin gibi amino asitlerin proton sinyalleri aromatik bölgede tespit edilirken, alanin, izolösin, lösin, aspartat, glutamin, glutamat, valin, asparajin gibi amino asitlerin sinyalleri ise alifatik bölgede yer almıştır. İncelenen bütün çeşitler bazında gerek şekerlerin ve gerekse alifatik ve aromatik bölgede proton sinyalleri gözlenen amino asitlerin aynı bölgede bulunmasına rağmen, bu maddelerin farklı genotiplerde farklı konsantrasyonlarda ve farklı seviyelerde olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan araştırmalarda amino asit ve şekerleri içeren genotiplerin kimyasal içeriklerinin genotip x çevre interaksyonunun etkisi altında şekillendiği ortaya konmuştur.



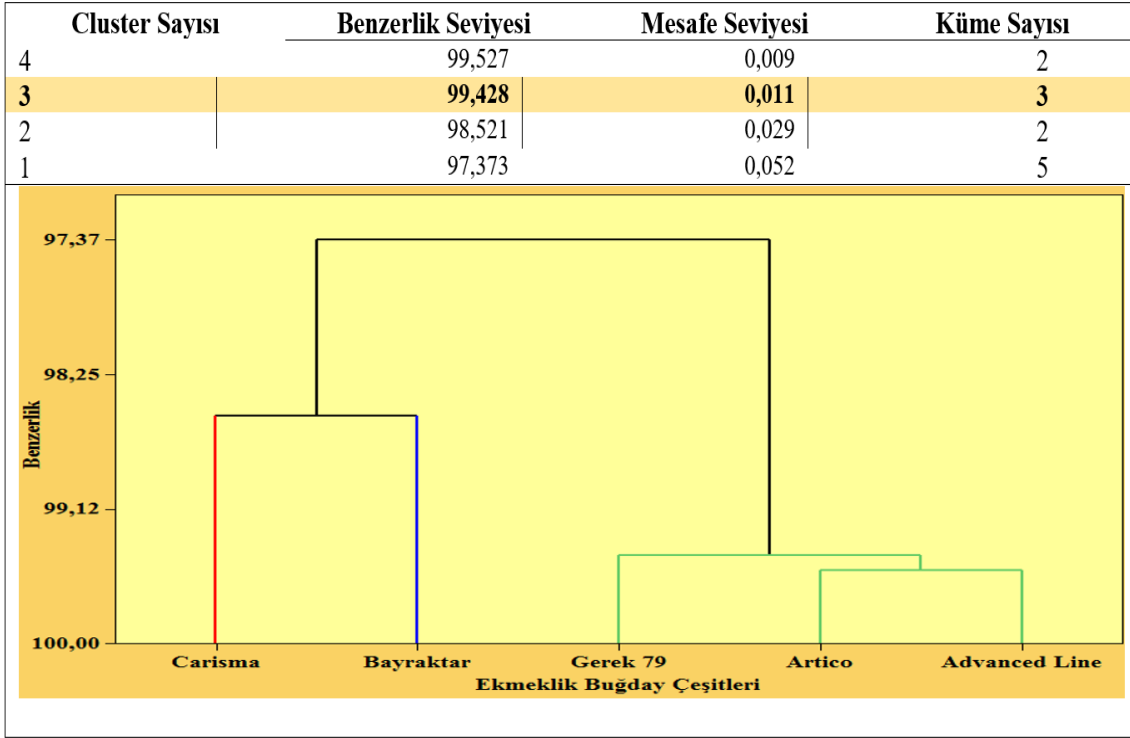
Şekil 2. Buğday çeşitlerinin ^1H NMR spektrumu ile belirlenen kimyasal içerikleri



Şekil 3. Buğday çeşitlerinin ^1H NMR spektrumu ile şeker, amino asit ve diğer bileşenler yönünden kimyasal içerikleri

Yani kimyasal içeriklerin konsantrasyon seviyesi dış faktörlerden oldukça etkilenmektedir [4]. Şekil 2 ve 3’de verilen spektrumlar için yapılan açıklamalar doğrultusunda, ^1H NMR spektroskopisi ile ekmeklik buğday çeşitlerinin amino asit ve şekerleri’ de kapsayan kimyasal içerikleri güvenli bir şekilde tespit edilebileceği görülmektedir. Ayrıca, NMR spektroskopisi ekmeklik buğdayın kimyasal içeriklerinin belirlenmesinde doğru sonuç veren, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir [16, 24].

Ekmeklik buğdayda ülkemizde son yıllarda büyük sorun olan yüksek kaliteli ekmeklik buğday çeşitleri yürütülen yoğun ıslah çalışmalarıyla geliştirilmiş ve çiftçinin hizmetine sunulmuştur [1, 4, 6, 23]. Zaten kabul edilebilir ekmeklik buğday çeşidi; yüksek verimli kaliteli, biyotik ve abiyotik streslere dayanıklı, bu özellikler yönünden yıllar ve lokasyonlar bazında stabil olan çeşit olarak tanımlanabilir. Anabolik ve katabolik olayları kapsayan metabolik olaylarda protein karbonhidrat ve lipit gibi birçok maddeler metabolik olayların reaksiyon düzeyinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu maddelerin bitki metabolizmasında bulunup bulunmaması işlevi ve metabolizmadaki konsantrasyonu (ve seviyesi bitkinin genotipik performansını ve çevreye karşı tepkisini önemli ölçüde etkilemektedir.



Şekil 4. Ekmeklik buğday çeşitlerin ¹H NMR spektroskopisi belirlenen benzerlik/farklılıklarını gösteren cluster analizi

Cluster analizi incelenen materyallerin veya unsurların birbirleri ile benzerlik/farklılıklarını ortaya koymada güvenle kullanılan bir yöntem olup, tarımsal çalışmalarda oldukça fazla kullanılmaktadır [11, 17]. Ekmeklik buğday çeşitlerin NMR spektroskopisi ile belirlenen benzerlik/farklılıkları Cluster analizi ile ortaya konmuş olup Şekil 4’de verilmiştir. Şekilde verildiği gibi, üç cluster düzeyinde incelenmesi uygun olmaktadır. Bunun sonucunda oluşturulan dendogramda Carisma ve Bayraktar alt birimde ayrı grupları oluştursa da ana birimde aynı gruba girmiştir. Yine Gerek 79, Artico ve Çeşit Adayı Hat (Advanced Line) aynı grubu oluşturmuştur. Çalışmamızda bisküvilik kalite özelliğine daha yakın olan Carisma ve Bayraktar çeşitlerinin aynı grubu oluşturması, daha çok ekmek kalite özelliğine daha yakın performansa sahip Gerek 70, Artico ve çeşit adayı hattın da (advanced line) başka grubu oluşturması NMR spektroskopisi metodunun güvenle ekmeklik buğday çalışmalarında kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bu konuda daha ileri sonuçlar elde etmek için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- [1] Altınbaş M, Tosun M, Yüce S, Konak C, Köse E, Can RA. Ekmeklik buğdayda (T. aestivum L.) tane verimi ve bazı kalite özellikleri üzerinde genotip lokasyon etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2004; 41(1):65-74.
- [2] Anonim. Buğday Raporu. T.C.Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Araştırma Planlama ve Koordinasyon Kurulu Başkanlığı Araştırma ve İstatistik Dairesi Başkanlığı; Ankara: 2004.
- [3] Anonim. TZOB Buğday Çalışma Grubu Raporu. Sayı:1; Haziran 2003.
- [4] Atlı A. Buğday ve Ürünleri Kalitesi. Orta Anadolu’da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu 8-11 Haziran 1999; Konya.

- [5] Atlı A, Köksel H, Dağ A. Unda süne ve kımlı zararının belirlenmesi için geliştirilen yöntemler ve bu yöntemlerin uygulanabilirliği üzerine araştırmalar. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Yayınları; Genel Yayın No: 1988/3, Arş. Yayın No:1988/2, Tarım Matbaası.
- [6] Aydın N, Bayramoğlu HO, Mut Z, Özcan H. Ekmelik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının Karadeniz koşullarında verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. AÜZF Tarım Bilimleri Dergisi 2005; 11(3): 257-262.
- [7] Baker JM, Hawkins ND, Ward JL, Lovegrove A, Napier JA, Shewry PR, Beale MhH. A metabolomic study of substantial equivalence of field-grown genetically modified wheat. *Plant Biotechnology Journal* 2006; 4: 381-392.
- [8] Beleggia R, Rau D, Laido G, Platini C. Evolutionary metabolomics reveals domestication-associated changes in tetraploid wheat kernels. *Mol Biol Evol* 2016; 7: 1740-1753.
- [9] Demir İ. Tahıl ıslahı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 235, İzmir: 1983.
- [10] Feil B. Beziehungen zwischen dem Kornertrag und den Konzentrationen von Protein, Phosphor und Kalium in den Körnern von Sommerweizensorten. *Pflanzenbauwiss* 1999; 3: 1-8.
- [11] Joreskog K. "Factor Analysis by Least Squares and Maximum Likelihood Methods," *Statistical Methods for Digital Computers*. ed. K. Enslein, A. Ralston and H. Wilf, John Wiley & Sons, 1977.
- [12] Khakimov B, Bak S, Engelsen SB. High-throughput cereal metabolomics: current analytical technologies, challenges and perspectives. *J Cereal Sci* 2014; 59: 393-418.
- [13] Kınacı E, Kınacı G, Birsin MA, Alp A, Kutlu İ. Serin iklim tahılları üretiminin artırılması olanakları. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi 2010; Cilt II.
- [14] Krygsman PH, Barrett AE. Simple methods for measuring total oil content by benchtop NMR. *Oil Extraction and Analysis* 2004; 152-165.
- [15] Kün E. Türkiye Bitkisel Gıda Üretimi ve Sorunları. Gıda Güvencesi, Bugünkü Durum, Sorunlarımız ve Önerilerimiz Sempozyumu 15 Kasım 1996; T.C. Ziraat Bankası ve Katılımcı Kuruluşlar, Ankara s. 47-64.
- [16] Mazzei P, Piccolo A. HRMAS NMR spectroscopy applications in agriculture. *Chem Biol Technol Agric* 2017; 4(11):1-13.
- [17] Milligan GW. An Examination of the Effect of Six Types of Error Perturbation on Fifteen Clustering Algorithms. *Psychometrika* 1980; 45: 325-342.
- [18] Mut Z, Aydın N, Bayramoğlu NO, Özcan H. Bazı ekmelik buğday (*Triticum aestivum* L.) genotiplerinin verim ve başlıca kalite özelliklerinin belirlenmesi. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* 2007; 22(2): 193-201.
- [19] Rascio A, Beleggia R, Platini C, Nigro F, Codianni P, De Santis G, Rinaldi M, Fragasso M. Metabolomic diversity for biochemical traits of *Triticum* subspecies. *J Cereal Sci* 2016; 71: 224-229.

- [20] Simpson A, Kingery W, Shaw D, Spraul M, Humpfer E, Dvortsak P. The Application of ¹H HR-MAS NMR spectroscopy for the study of structures and associations of organic components at the solid-aqueous interface of a whole soil. *Environ Sci Technol* 2001; 35: 3321-5.
- [21] Smejkalova D, Spaccini R, Piccolo A. Multivariate analysis of CPMAS ¹³C-NMR spectra of soils and humic matter as a tool to evaluate organic carbon quality in natural systems. *Eur J Soil Sci* 2008; 59: 496-504.
- [22] Souza JM, Martin MJ, Guttieri KM, O'Brien DK, Habernicht SP, Lanning R, McLean GR, Talbert LE. Influence of genotype, environment, and N management on spring wheat quality. *Crop Sci* 2004; 44(2): 425-432.
- [23] Tayyar Ş, Gül MK. Evaluation of 12 bread wheat varieties for seed yield and some chemical properties grown in Northwestern Turkey. *Asian Journal of Chemistry* 2008; 20(5): 3715-3725.
- [24] Winning H, Viereck N, Wollenweber B, Larsen FH, Jacobsen H, Sondergaard I, Engelsen SB. Exploring abiotic stress on asynchronous protein metabolism in single kernels of wheat studied by NMR spectroscopy and chemometrics. *J Experimental Botany* 2009; 60(1): 291-300.