

Polyfenolické sloučeniny v obilovinách

(Polyphenolic compounds in cereals)

Podloucká Pavlína, Vaculová Kateřina, Martinek Petr, Polišínská Ivana
Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, Kroměříž

Souhrn: Polyfenolické látky jsou rozsáhlou skupinou sloučenin, které nacházíme v rostlinách. V dnešní době je jim věnována pozornost pro jejich pozitivní vliv na lidské zdraví, který je připisován jejich antioxidačním vlastnostem, tj. schopnosti reagovat s volnými radikály a zhaset je. Kromě ovoce a zeleniny jsou významným zdrojem těchto sloučenin i obiloviny. Množství a zastoupení jednotlivých polyfenolů v obilovinách je ovlivněno druhem i odrůdou obiloviny, prostředím a podmínkami růstu. V dnešní době je při šlechtění nových odrůd obilovin věnována zvláštní pozornost odrůdám s vyšším obsahem těchto látek, které se mohou stát surovinou pro vývoj tzv. funkčních potravin. Obiloviny a výrobky z nich tvoří významnou část potravy člověka. Při jejich zpracování zrno prochází celou řadou technologických postupů, které ovlivňují obsah těchto látek v konečném produktu. Pro stanovení obsahu polyfenolů a jejich antioxidačních vlastností se používá celá řada metod.

Klíčová slova: Polyfenolické látky, obiloviny, antioxidanty, technologický postup zpracování obilovin, obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivita

Abstract: Polyphenols are a large group of compounds derived from plants. They are studied for their beneficial effects on human health which is attributed to their antioxidant features i.e. their ability to react with free radicals and to quench them. Barring fruit and vegetables, the important source of polyphenols are cereals. The content and the proportion of individual polyphenols in cereals is influenced by the species and the cultivar of cereal, the environment and the growing conditions. Today, the special attention in cereal breeding is paid to the varieties with higher content of these substances which can become a raw material for development of functional foods. Cereals and their products form significant part of human diet. During the processing of cereals, the cereal grains undergo a number of technological processes which affect the content of these substances in final product. To study the total polyphenol content and their antioxidant features, the number of methods is used.

Key Words: Polyphenolic compounds, cereals, antioxidants, technological process of cereal processing, content of polyphenols, antioxidant activity

V dnešní době vzrůstá pozornost odborné i laické veřejnosti, věnovaná složení potravin a působení jednotlivých látek v organismu. V popředí zájmu jsou zejména sloučeniny s tzv. antioxidačními účinky. Takových sloučenin je celá řada a množství publikací na téma antioxidantů v potravinách a jejich role v eliminaci oxidačního stresu narůstá.

Oxidace je pro živé organismy nezbytný proces, při kterém buňky přeměňují organické sloučeniny získané z potravy na oxid uhličitý, vodu a energii. V průběhu těchto reakcí dochází ke vzniku volných radikálů, které způsobují poškození komponent buněk jako jsou lipidové membrány, DNA, proteiny a další. Jestliže v buňce dojde k nerovnováze mezi vznikem radikálů a jejich eliminací, mluvíme o tzv. oxidačním stresu. Dlouho trvající oxidační stres může být příčinou vzniku celé řady onemocnění, ať už se jedná o různé záněty, kardiovaskulární onemocnění, různé typy rakoviny, neurodegenerativní onemocnění a také nemoci spojené se stárnutím. Organismus má řadu specializovaných obranných mechanismů, aby k tomuto poškození nedocházelo. Jedná se o specifické enzymové reakce i o působení jednodušších molekul syntetizovaných organismy nebo přijatých z potravy. Takovým sloučeninám říkáme antioxidanty. Přírodní antioxidanty získané z rostlinné stravy mohou mít různou strukturu a v organismu mají různé funkce. Patří mezi ně sloučeniny jako vitamíny C a E, karotenoidy, terpenoidy, alkaloidy, saponiny i rozsáhlá skupina sloučenin souhrnně nazvaných polyfenolické látky (Cámara et al. 2021).

Polyfenolické látky, zkráceně polyfenoly, zahrnují několik tisíc chemických sloučenin, jejichž společným rysem je aromatické jádro s navázanou alespoň jednou hydroxylovou skupinou

(Obr. 1A). Právě tato struktura jim umožňuje efektivně reagovat s volnými radikály, které jsou příčinou oxidačního stresu a následného poškození buněk. Patří mezi ně jednoduché molekuly s jedním aromatickým jádrem, jako jsou fenolové kyseliny, ale také polymerní struktury, např. taniny (Manach et al. 2004). Klinické i epidemiologické studie potvrzují, že strava bohatá na polyfenoly hraje významnou roli v prevenci výše zmíněných onemocnění (Cámara et al. 2021).

Každý rostlinný druh má vlastní skladbu fenolických sloučenin. Zastoupení jednotlivých polyfenolů se liší v jednotlivých tkáních i částech konkrétní rostliny. V samotných rostlinách plní řadu funkcí. Hrají důležitou roli při růstu i rozmnožování rostlin, poskytují ochranu před UV zářením, patogeny i škůdci. U rostlin a potravin z nich vyrobených ovlivňují zbarvení, chuť, vůni, stravitelnost i oxidační stabilitu, tj. trvanlivost. Podle chemické struktury jsou rozděleny na jednoduché fenoly, fenolové kyseliny, kumariny, flavonoidy, stilbeny, lignany, ligniny, taniny a mnohé další. Navíc jednotlivé polyfenoly se mohou spojovat navzájem, nebo mohou být navázány se sacharidy, organickými kyselinami, aminy a lipidy (Shahidi et al. 2003).

Kromě ovoce a zeleniny jsou významným zdrojem těchto látek i obiloviny. Většina polyfenolů v obilovinách je nerozpustných, vázaných esterovými nebo etherovými vazbami na polysacharidy, např. arabinoxylózu, celulózu, nebo lignin v buněčné stěně. Právě těm je připisován největší podíl na celkové antioxidační aktivitě obilovin. Zbývající část je rozpustná, jsou to polyfenoly volné nebo vázané v podobě esterů, etherů, či glykosidů. Složení jednotlivých polyfenolů ovlivňuje druh i odrůda obiloviny, prostředí a podmínky růstu (Verma et al. 2008, Yu et al. 2003).

Například evropská databáze obsahu polyfenolických látek v potravinách (<http://phenol-explorer.eu/>) uvádí (na základě průměrů různých studií), že kukuřice má přibližně dvojnásobný celkový obsah polyfenolických látek ve srovnání s pšenicí, ječmenem a ovsem (Rothwell et al. 2013). Pseudoobilovina pohanka má dokonce 3krát vyšší obsah polyfenolických sloučenin než kukuřice. Přitom platí, že barevné varianty obilovin mají vždy vyšší obsah polyfenolů než jejich nebarevné odrůdy.

Nejvýznamnější skupiny polyfenolických látek v obilovinách

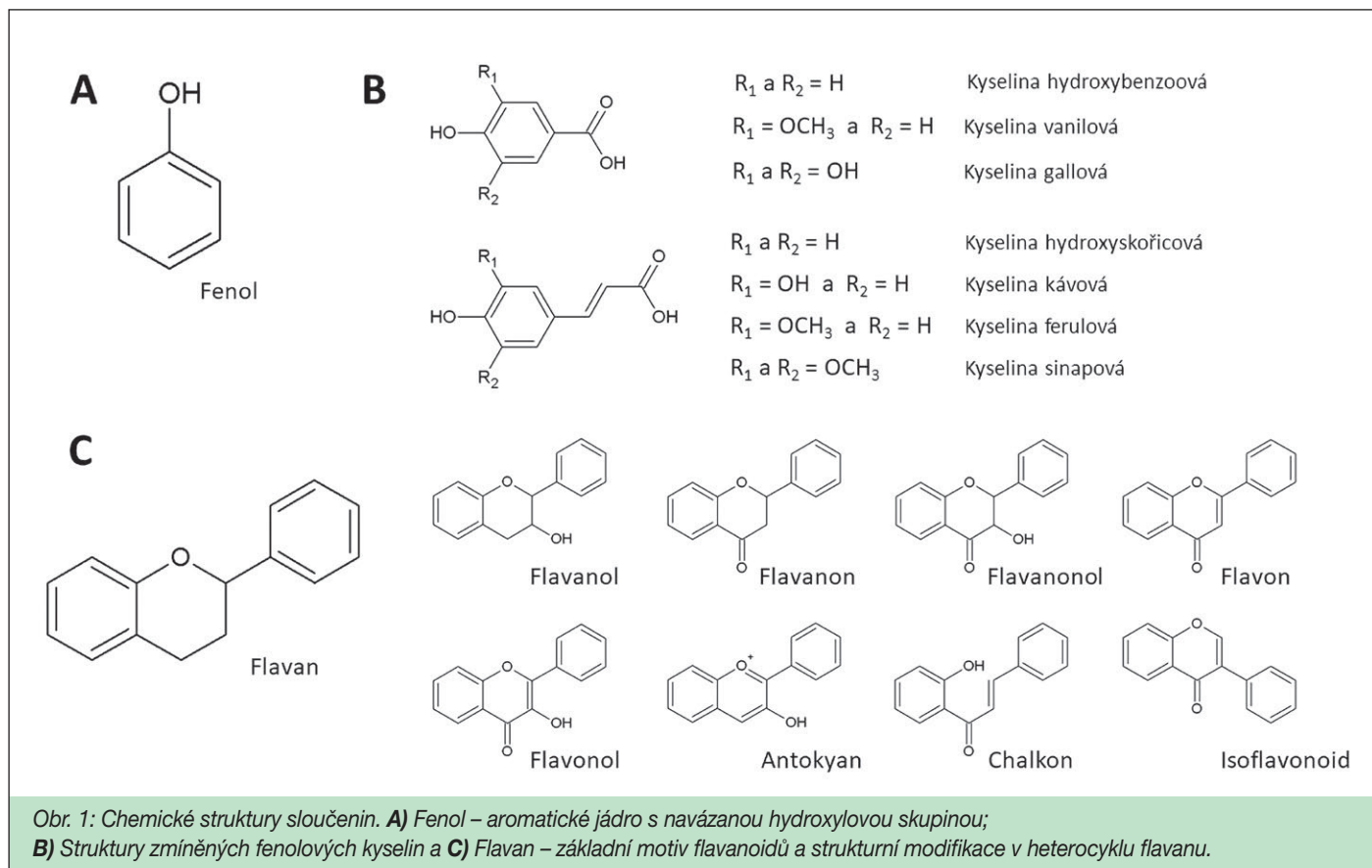
V obilovinách nejvíce zastoupené, a zároveň nejjednodušší, jsou fenolové kyseliny. Jejich chemická struktura je odvozena od kyseliny p-hydroxybenzoové (např. kyselina vanilová, gallová, atd.) nebo hydroxyskořicové (např. kyseliny ferulová, kávová, sinapová, atd.) (Obr. 1B). Fenolové kyseliny se nacházejí hlavně v obalových vrstvách zrna, kde jsou obsaženy volně nebo jsou vázané na buněčnou stěnu s makromolekulami jako jsou sacharidy a bílkoviny. Vázané kyseliny reprezentují 85–95 % celkového množství fenolů v obilovinách. Nejvíce je zastoupena kyselina ferulová. Fenolové kyseliny vykazují vysokou antioxidační aktivitu a mají mnoho terapeutických účinků v prevenci chronických onemocnění jako je diabetes, neurodegenerativní choroby nebo různé druhy nádorových onemocnění (Slavin et al. 1997).

Další významnou skupinou polyfenolů, obsaženou v obilovinách, jsou flavonoidy. Jejich struktura je odvozena od flavanu. Jedná se o dvě aromatická jádra spojená 3uhlíkatým řetězem, který zpravidla vytváří kyslíkatý heterocyklus (Obr. 1C). Podle strukturních modifikací v heterocyklu jsou flavonoidy rozděleny na osm hlavních skupin, a to anthokyaniny, flavonoly, flavony, flavanonoly, flavanony, flavanoly, chalkony a isoflavonoidy. V obilných zrnech jsou nejvíce zastoupeny flavony a anthokyaniny, a to ve formě glykosidů nebo komplexů s organickými kyselinami,

aminy, lipidy, sacharidy i dalšími fenoly. Jsou obsaženy hlavně v obalových vrstvách zrna, ale i v aleuronové vrstvě a klíčku. Jejich biologické účinky jsou obdobné jako u fenolových kyselin. Největší pozornost je věnována anthokyaninům, což jsou ve vodě rozpustné pigmenty, které jsou např. v ovoci a zelenině zodpovědné za modrý, růžový a červený odstín. Není příliš známo, že i některé kultivary obilovin, jako jsou pšenice, ječmen, kukuřice nebo rýže, mohou mít jiné zbarvení zrna (purpurové, modré nebo černé), které je vyvoláno právě vysokým obsahem anthokyanů v obalových vrstvách zrna (Martinek et al. 2019).

Oligomery nebo polymery, jejichž základní stavební jednotkou je flavanol, tvoří skupinu látek nesoucí název kondenzované taniny nebo proanthokyanidiny. Podle struktury jsou rozděleny do čtyř skupin: hydrolyzovatelné taniny, kondenzované taniny, florotaniny a komplexní taniny. Jsou přítomné v obalových vrstvách zrna, kde brání vstupu vody a kyslíku, a tím ovlivňují klíčení. Jejich přítomnost se projevuje trpkou chutí. Díky své struktuře bohaté na hydroxylové skupiny snadno tvoří nerozpustné komplexy s proteiny či sacharidy, což snižuje stravitelnost těchto živin.

Obiloviny jsou významným zdrojem ligninů a lignanů, které se od sebe liší svou molekulovou hmotností. Ligniny jsou, po celulóze, nejvíce zastoupené polymery v rostlinné říši. Jedná se o stavební složku, která má za úkol propojení mezibuněčných vláken a zpevnění celulózových molekul v rámci buněčných stěn. V obilných zrnech jsou hlavně v otrubách. Pro svou nestravitelnost jsou součástí nerozpustných vláknin. Lignany jsou menší, ve vodě rozpustné sloučeniny. V lidském organismu jsou střevní mikroflórou přeměněny na fytoestrogeny, které chrání proti řadě chronických onemocnění včetně těch spojených s hormonálním systémem, jako je rakovina prsu a prostaty.



Stanovení obsahu polyfenolických látek

Stanovení celkového obsahu fenolických látek je poměrně složitá záležitost, když přihlédneme k množství struktur polyfenolů a jejich uložení v zrně obilovin. Prvním a nejdůležitějším krokem je extrakce. Polyfenolické látky jsou v zrně buď volné, nebo navázané na buněčnou stěnu. Ty volné lze snadno extrahovat do vodného nebo organického rozpouštědla. Polyfenoly vázané na buněčnou stěnu je nutné před extrakcí uvolnit pomocí hydrolyzy. Použitá metoda extrakce vždy ovlivní množství stanovených polyfenolických látek, proto je nutné výsledky jednotlivých studií srovnávat s ohledem na použitou metodiku.

Pro stanovení obsahu polyfenolů se nejčastěji používají spektrofotometrické metody např. Folin - Ciocalteuova metoda (FCM) (Singleton et al. 1965, Singleton et al. 1999), nebo Price-Butlerova metoda (PBM) (Price et al. 1977). První jmenovaná využívá reaktivity Folin-Ciocalteuova (FC) činidla s fenolickými sloučeninami v zásaditěm prostředí. FC činidlo je žlutě zbarvený roztok, který reaguje s fenoly za vzniku tmavě modrého roztoku. Jako srovnávací standard se nejčastěji používá kyselina gallová, ale je možno použít i kyselinu ferulovou nebo katechin. FC metoda nerozlišuje jednotlivé fenoly, jedná se tedy o stanovení celkového obsahu fenolických látek („*Total phenol content assay*“).

Další spektrofotometrickou metodou pro stanovení obsahu celkových polyfenolů je Price-Butlerova metoda, která využívá vzniku komplexu „pruské modře“. Při reakci dochází k redukci železitých iontů na železnaté, což je doprovázeno změnou zbarvení ze žluté na odstíny zelené až modré barvy. Jako standard se opět používá kyselina gallová nebo katechin. Stejně jako FCM, ani PRM nerozlišuje mezi jednotlivými fenoly.

Pro kvantitativní nebo kvalitativní stanovení jednotlivých sloučenin se používají chromatografické metody (jak kapalinová – HPLC, tak plynová – GC) s různým způsobem detekce. Využít je možné i elektroforézu. Tyto metody jsou velmi přesné, problémem může být určení neznámé složky, pro kterou není k dispozici analytický standard.

Určení antioxidační aktivity polyfenolických látek

Z hlediska srovnání antioxidačního účinku přírodních látek může mít lepší vypovídací schopnost stanovení antioxidační aktivity než stanovení celkové koncentrace těchto látek. Kvůli rozmanitosti složení různých potravin je zkoumání působení jednotlivých složek a jejich chování v organismu zdlouhavé a neposkytuje přesný obraz. Většinu přírodních antioxidantů totiž přijímáme v potravinách jako součást složitých směsí, jejichž složky mohou s volnými radikály reagovat různými mechanismy a mohou se navzájem ovlivňovat. Proto se ukazuje vhodné charakterizovat antioxidační aktivitu určité suroviny nebo potraviny jako celku, tj. současné působení všech obsažených látek. Hovoříme o celkové antioxidační aktivitě („*Total Antioxidant Activity*“), která kvantifikuje kapacitu určitého vzorku eliminovat radikály. Pro toto stanovení byla vyvinuta celá řada postupů (DPPH metoda, TEAC metoda, ORAC metoda, TRAP metoda, FRAP metoda, liposomální metoda), které se od sebe liší použitým substrátem, reakčními podmínkami, interpretací výsledků a tím i zjištěnými informacemi (Huang et al. 2005).

Dva nejčastěji používané postupy jsou DPPH (diphenyl-picrylhydrazyl) test a TEAC („*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*“) metoda. Obě využívají reakce stabilních volných radikálů s testovaným antioxidantem, což je doprovázeno barevnou změnou reakční směsi. Změna zbarvení se hodnotí spektrofotometricky. U metody DPPH se setkáváme s pojmem „*Antiradical Efficien-*

cy (AE)“, který vyjadřuje schopnost antioxidantu uhasit DPPH radikál. U TEAC metody se měří relativní schopnost odstranit přítomný radikál z roztoku. Pro porovnání se používá trolox, což je ve vodě rozpustný analog vitamínu E.

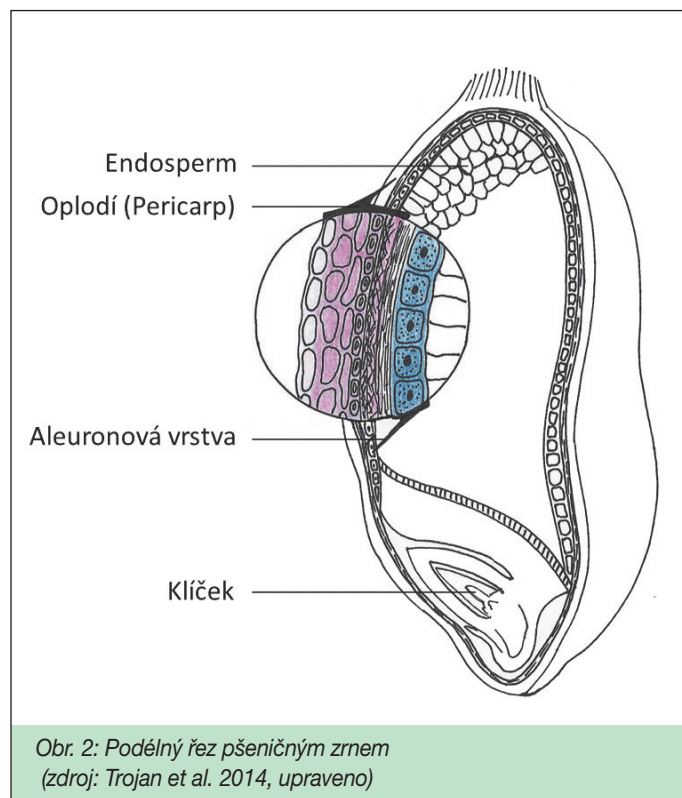
Další často používanou metodou je FRAP („*Ferric Reducing Antioxidant Power*“). Tato metoda využívá přenosu elektronu mezi železitou solí a antioxidantem. Reakce je doprovázena barevnou změnou, což se dá opět měřit spektrofotometricky.

V literatuře se také můžeme setkat s metodami, které se snaží přiblížit působení antioxidantů v živém organismu. Buď se jedná o zhasnutí radikálů, které se v organismu vyskytují (hydroxylový radikál, peroxylový radikál apod.) nebo o ochranu biologických molekul (proteinů, lipidů) antioxidantem. První z těchto metod je ORAC („*Oxygen Radical Absorbance Capacity*“), která měří relativní schopnost antioxidantu chránit biologické molekuly před poškozením volnými radikály. Čím vyšší ORAC hodnota je, tím vyšší schopnost antioxidant má. Pro srovnání se opět používá trolox.

TRAP („*Total Radical-trapping Antioxidant Parameter*“) metoda se původně používala pro odhad antioxidační kapacity krevní plasmy. Měřila množství spotřebovaného kyslíku v průběhu lipidové peroxidace. V dnešní době se měří přímo vliv vzniklých peroxidových radikálů na cílový protein. Sloučeniny v plasmě nebo antioxidanty reagují s radikály rychleji, a tak protein chrání před poškozením. Pro srovnání se opět používá trolox.

Liposomální metoda měří, zda antioxidant inhibuje peroxidaci připraveného lipidového systému. Jako substrát se používají liposomy z vaječných žloutků nebo liposomy mozkové tkáně. Antioxidanty zpomalují vznik lipidových peroxidů v závislosti na jejich koncentraci. Jako standard se používá α -tokoferol (Terao et al. 1994).

Všechny tyto metody se snaží zachytit složité biologické děje, a to různými způsoby. Proto také jejich výsledky musí být vždy interpretovány spolu s uvedením metody, kterou byly získány.



Obr. 2: Podélný řez pšeničným zrnem
(zdroj: Trojan et al. 2014, upraveno)

Jak zpracování obilovin ovlivňuje množství polyfenolických látek

Obiloviny a výrobky z nich tvoří významnou část potravy člověka na celém světě. Chleba ať kynutý nebo nekynutý, různé druhy pečiva, vařená rýže a různé druhy krup, produkty typu kaše, snídaňové cereálie, těstoviny, sušenky, nebo alkoholické i nealkoholické nápoje, to všechno je vyrobeno z obilovin. Prakticky žádná obilovina se nekonzumuje ve stavu, tak jak se sklídí na poli. Zrno před konzumací obvykle prochází celou řadou technologických postupů, které ovlivňují nutriční složení konečného produktu. Proto zpracování má značný vliv i na obsah polyfenolických sloučenin v potravinách.

Prvním technologickým postupem, kterým obiloviny zpravidla prochází, je mletí. Při mletí je zrno zbaveno všech nečistot a následně je obroušeno, aby se odstranily obalové části (otruby a slupky) a také klíček. Odstranění těchto částí je z technologického hlediska žádoucí, protože obalové vrstvy mají tvrdou strukturu a mohou mít nahořklou chuť, klíček je zase vzhledem k vysokému obsahu tuku náchylný k oxidaci. Tím dochází ke zlepšení chutových i zpracovatelských vlastností a ke zlepšení stravitelnosti mouky. Z výživového hlediska je však kvalita mouky ve srovnání s celým zrnem obvykle nižší, protože největší obsah nutričně hodnotných látek včetně polyfenolů je právě v obalových vrstvách zrna a klíčku (Beta et al. 2005). Rafinovaná mouka, která vzniká pomletím pouze vnitřní části zrna, má proto obsah polyfenolických látek významně nižší ve srovnání s celým zrnem. Celozrnná mouka, která vzniká mletím zrna včetně obalových vrstev, má obsah pro zdraví pozitivních látek, mezi které patří i fenoly, vyšší. Takto semletá mouka je proto doporučována odborníky na výživu a v literatuře najdeme mnoho studií, které potvrzují, že konzumace právě celozrnných výrobků snižuje riziko řady chronických onemocnění (Liu et al. 2020).

Zde je třeba poznamenat, že při mlýnském zpracování obilného zrna na celozrnnou mouku je třeba brát ohled také na možný obsah kontaminujících látek. Některé z nich se totiž, stejně jako polyfenoly a další látky zdraví prospěšné, vyskytují převážně ve vnějších obalových vrstvách. Jedná se zejména o mykotoxiny a těžké kovy. Proto je nutné, aby zrno před mletím vždy prošlo tříděním, čištěním a lehkým odíráním, které odstraní nejsvrchnější nestravitelné obalové vrstvy a také obilný prach ulpělý na zrnu. Obilný prach obvykle obsahuje značné koncentrace kontaminujících látek, zejména mykotoxinů. Třídění a čištění musí být u zrna určeného pro zpracování na celozrnnou mouku prováděny také zvlášť pečlivě. Je nezbytné odstranit zrna poškozená, lehká nebo scvrklá, protože se může jednat o zrna napadená plísněmi a houbami. Odstraňují se i zlomky zrn, protože poškozené lomové plochy jsou vhodným substrátem pro růst plísní.

Je třeba myslet na to, že mouka je biologický materiál, který prochází v průběhu skladování biochemickými změnami. Polyfenolické sloučeniny nejsou příliš stabilní, a proto se jejich množství v mouce při dlouhém skladování snižuje (Zhang et al. 2021). Vliv má i další zpracování mouky na finální potravinu. U nás se mouka nejčastěji používá pro přípravu chleba a kynutého i nekynutého pečiva. Chleba a pekařské výrobky mají tradičně v našem jídelníčku významné místo. Jsou zdrojem energie i nutričních látek jako jsou bílkoviny, aminokyseliny včetně esenciálních, vlákniny, minerálů, vitamínů a řady dalších pro zdraví prospěšných fytochemických látek. I když některé z nich jsou obsaženy pouze v nízkých koncentracích, je třeba brát v úvahu, že pekařské výrobky jsou obvykle konzumovány několikrát denně, a proto denní příjem těchto sloučenin je z výživového hlediska významný.

Během přípravy pečiva probíhá řada chemických reakcí, např. enzymatický rozklad cukrů, želatinace škrobů, karamelizace, denaturace a koagulace proteinů, inaktivace kvasinek a enzymů a Maillardova reakce. Ty určují kvalitu výsledného pečiva, a to jak senzoryckou, tak nutriční, protože jednotlivé procesy různým způsobem ovlivňují obsah jednotlivých nutričně významných látek. Bylo experimentálně prokázáno, že antioxidační potenciál hotového výrobku závisí na podmínkách při přípravě a na receptuře. Celý proces výroby kynutého pečiva může být rozdělen na tři fáze, a to příprava těsta, kynutí a samotné pečení (Dziki et al. 2014). Každá obilovina má jiné složení, které je různě odolné vůči jednotlivým fázím přípravy. V první fázi dochází k mísení mouky s vodou a většina studií se shoduje, že během této fáze množství polyfenolických látek a jejich aktivita klesá.

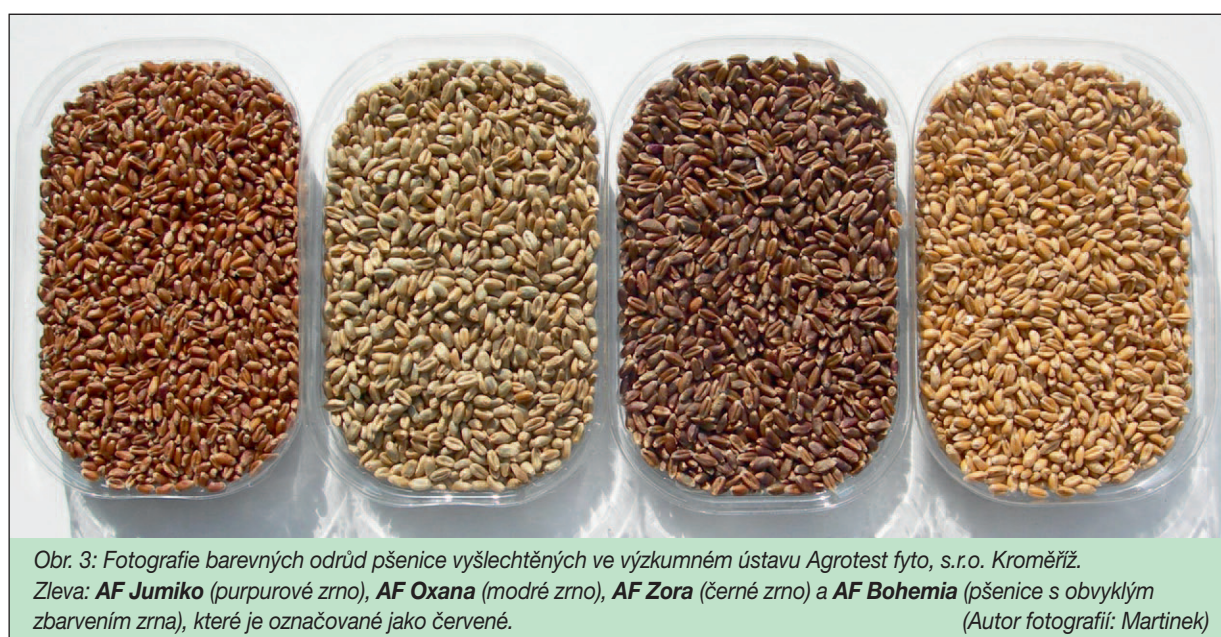
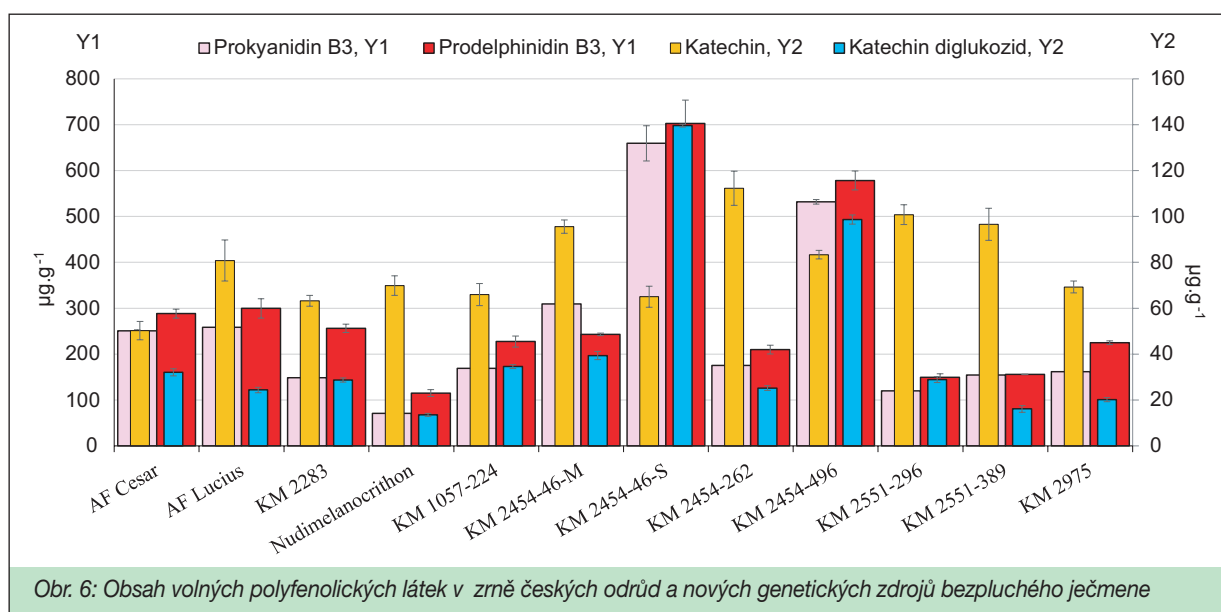
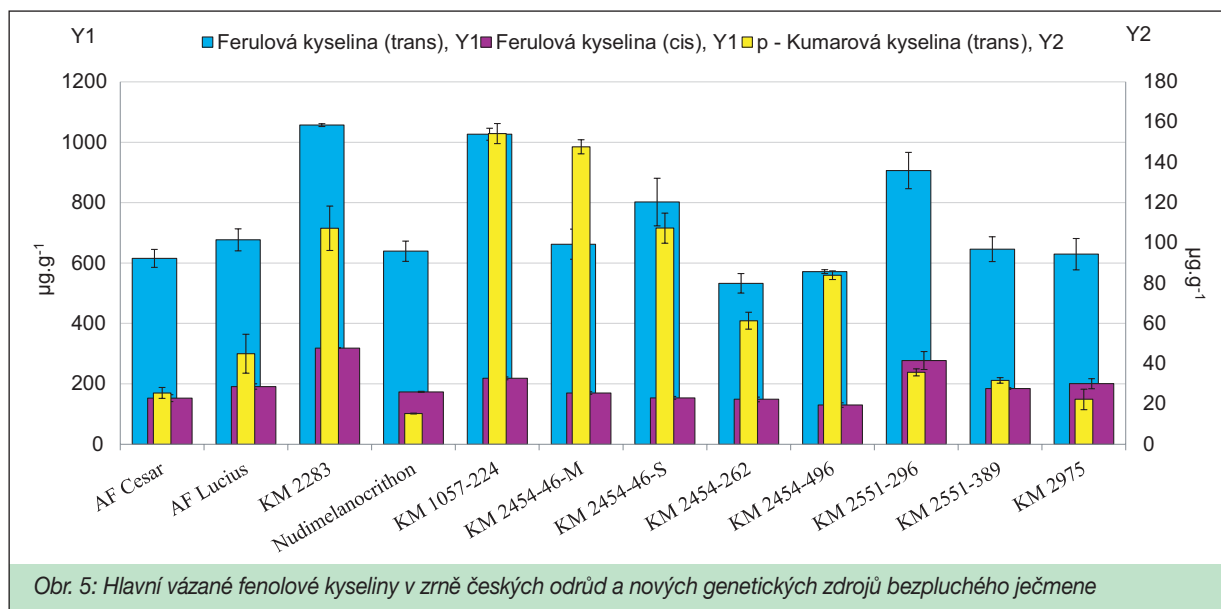
Druhou fází je kynutí neboli fermentace těsta. Kynutí zlepšuje kvalitu, trvanlivost, texturu, a chuť pekařských výrobků. Přítomné mikroorganismy (bakterie, kvasinky aj.) rozkládají základní složky zrna a tím dochází k uvolnění vázaných polyfenolických látek. Proto při kynutí dochází ke zvýšení obsahu polyfenolů i jejich antioxidační aktivity (Saharan et al. 2017). Fermentace naopak snižuje v obilných produktech obsah některých, z výživového hlediska nežádoucích látek (kyselina fytová, taniny ap.), což příznivě ovlivňuje stravitelnost a využitelnost živin z těchto potravin.

Poslední fází je pečení. Jedná se o tepelnou úpravu, která ovlivňuje jak senzorycké, tak nutriční vlastnosti potravin. Tepelná úprava obecně množství polyfenolických sloučenin snižuje. Nicméně, v literatuře se setkáme i s výsledky, kdy při pečení celkové množství polyfenolických látek naopak vzrostlo. Vysvětlení není jednoduché a ani v literatuře nenajdeme jasnou odpověď. Předpokládá se, že během pečení teplo uvolňuje konjugované fenolické části molekul a dochází k polymeracím, oxidačním reakcím, během kterých fenoly vznikají nebo se uvolňují z vázaných forem. Podmínky pro pečení (vysoké teploty a vlhko) také usnadňují průběh tzv. Maillardovy reakce, při které vznikají sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi. Což podporuje i fakt, že kůrka chleba má vždy vyšší antioxidační kapacitu než střídka.

Pro výrobu alkoholických i nealkoholických nápojů se často využívá slad. Ten vzniká klíčením zrna ve vlhkém prostředí za přesně daných podmínek. V ČR je nejběžnější výroba sladu z ječmene, který je základní surovinou při výrobě piva. Během klíčení je aktivována řada enzymů, které působí na základní složky zrna jako jsou škroby, bílkoviny, buněčné stěny, a mění tak jeho strukturu. Protože fenolické látky jsou navázané na tyto části, během klíčení dochází k nárůstu množství polyfenolických sloučenin (Duodu et al. 2011).

Odrůdy barevných pšeníc v České republice

První českou odrudou s odlišným zabarvením zrna byla ozimá pšenice **Skorpion** (modré zrno), která byla registrována v roce 2011 v Rakousku, firmou Saatbau Linz, GmbH., a v roce 2012 byla zařazena do Společného katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin EU. Firmou Agrotest fyto, s.r.o. v Kroměříži byly vyšlechtěny tři odrůdy ozimé pšenice s odlišnou barvou zrna: odrůda **AF Jumiko** s purpurovým zbarvením (registrace 2019), odrůda **AF Oxana** s modrým zbarvením (registrace 2020) a odrůda **AF Zora** s černým zbarvením (registrace 2021). Tyto odrůdy vznikly za přispění tří výzkumných projektů: Dlouhodobá koncepce rozvoje výzkumné organizace MZE-RO1118, QJ1510206, QK1910343, financovaných Ministerstvem zemědělství České republiky. Tak zvané „černé zbarvení zrna“ u odrůdy **AF Zora**



je převzato ze zahraniční literatury a je důsledkem kombinace genu pro purpurové a modré zbarvení.

Kromě odrůd, u kterých je zbarvení vyvolané anthokyany, existují rovněž odrůdy, kde je barva způsobena karotenoidy, což jsou sloučeniny se zcela odlišnou chemickou strukturou, které jsou v přírodě zodpovědné za žluté až oranžové zbarvení. V ČR byly v roce 2011 registrovány firmou Hanácká osiva, s.r.o. dvě německé odrůdy pšenice se žlutým endospermem: ozimá **Citrus** a jarní **Luteus**. V roce 2018 byla vyšlechtěna firmou SELGEN, a.s. česká odrůda jarní pšenice **Pexeso**, u které byl zjištěn rovněž vysoký obsah žlutých látek v zrně.

Pro úplnost je nutné uvést, že existuje i tzv. bílé zbarvení zrna, které je způsobeno absencí hořkých látek v zrně, kdy zrna je přirozeně sladší (nepřítomnost hořkých látek v zrně však má spojitost s nižší odolností odrůdy k porůstání). V roce 2005 byla registrována firmou RAGT Czech, s.r.o. německá ozimá odrůda **Heroldo** s bílou barvou zrna.

V obchodech zdravé výživy se někdy můžeme setkat s výrobky pod označením „mouka z červené pšenice“. Toto označení není správné, protože jako „červené“ zbarvení je v odborných kruzích označováno obvyklé zbarvení zrna pšenice. Ve skutečnosti se jedná o výrobky z pšenice s purpurovým zrnem. Toto nesprávné označení výrobků se traduje ještě z doby, kdy o barevných pšenicích neexistovalo v ČR žádné povědomí. Výrobci se tehdy dostala do rukou pšenice s purpurovým zrnem, pro kterou neznali adekvátní název. Od té doby se u nás stále vyskytují potravinářské výrobky s tímto terminologicky zavádějícím názvem.

Odrůdy a genetické zdroje potravinářského ječmene

Také v zrně ječmene byly stanoveny látky s antioxidačním účinkem. V rámci studie, provedené u 27 vzorků zrna souboru španělských a českých odrůd a genetických zdrojů ječmene jarního bylo metodou UPLC MS/MS identifikováno celkem 64 polyfenolů, z toho 19 patřilo do skupin fenolových kyselin a aldehydů, 9 do skupiny flavanolů, 9 k flavonovým glykosidům a 27 do skupiny anthokyanů (Martínez et al. 2018). Výsledky dokumentovaly, že u ječmene není přítomnost polyfenolických látek s vysokou antioxidační aktivitou vázána pouze na přítomnost barviv v obilkách. V zrně vlastních bezpluchých odrůd a nových genetických zdrojů ječmene jarního (vyšlechtěných ve společnosti Agrotest fyto, s.r.o.) s perspektivou využití k výrobě zdravých potravin pro lidskou výživu a převážně se světlým zrnem, byly fenolické sloučeniny nalezeny volné i vázané na strukturní složky buněčných stěn, jako je celulóza, hemicelulózy nebo lignin. Ve všech genotypích ječmene byla zjištěna vázaná kyselina ferulová (trans a cis-izomer) a dále její dimery a trimery. Druhou nejhojnější byla kyselina kumarová, následovaná sinapovou (a jejím glukosidem) a dále kyselinou vanilinovou. Ostatní vázané polyfenoly byly obsaženy v menším množství.

Volné fenolické látky byly zastoupeny převládajícími flavanoly katechinem, procyanidinem B3 a prodelphinidinem B3. V minoritním množství se v obilkách nacházely volné fenolové kyseliny a aldehydy a flavony, z nichž byl u všech materiálů (s výjimkou odrůdy **AF Lucius**) detekován izoskopolarin-7-O-glukosid, který je uváděn jako biomarker, využívaný k detekci přítomnosti ječmene v potravinách.

Výsledky ukázaly širokou škálu koncentrací fenolických látek ve vzorcích ječmene, obsah anthokyanů byl ale v porovnání s pšenicí podstatně nižší. I když v materiálu s barevným zrnem (genetický zdroj **Nudimelanocrithon** s bezpluchou obilkou

černé barvy) byl detekován vyšší sumární obsah anthokyanů ($2,77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), významně se nelišil od obsahu v zrně genetického zdroje se světlým bezpluchým zrnem, označeného **KM 2283** ($2,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Na rozdíl od genotypů s černě zbarveným zrnem, kde je podle literatury tmavá barva obilek často způsobena kombinací anthokyanů s barvivými melaniny, ve fialové nebo červeně zbarvených zrnech ječmene (Obr. 4) byl vyšší obsah anthokyanů detekován, obdobně jako u pšenice.

Obsah kyseliny ferulové (trans a cis izomeru) a kumarové (trans izomeru) u vybraných odrůd a nových genetických zdrojů ječmene pro potravinářské využití znázorňuje graf na Obr. 5. Nejvyšší obsahy trans monomeru kyseliny ferulové byly naměřeny u genetických zdrojů **KM 2283** a linie **KM 1057-224** ($1056,9$ a $1026,7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), kde byl současně stanoven i nejvyšší obsah kyseliny kumarové ($154,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Obsah této kyseliny byl naopak nejnižší v zrně genetického zdroje **Nudimelanocrithon**, kde byl zjištěn také jeden z nejnižších obsahů volných polyfenolických látek – prokyanidinu B3, prodelphinidinu B3 a katechin diglukosidu (graf na Obr. 6). Obdobně jako v případě vázaných, tak také u volných fenolických látek kolísal obsah v závislosti na zvoleném genotypu.

Porovnáním obou grafů lze jednoduše zjistit, že zvýšený obsah různých polyfenolů nebyl dosažen u stejných materiálů, což může indikovat rozdílný mechanismus akumulace jednotlivých polyfenolických látek u různých genotypů. Současně se však potvrdilo, že existuje celá řada nových genetických zdrojů s významně odlišným obsahem žádoucích polyfenolických sloučenin, které je možné doporučit ke šlechtění odrůd ječmene pro zdravou a preventivní lidskou výživu.

Závěr

Obiloviny jsou významným zdrojem řady sloučenin s pozitivním vlivem na zdraví. Mezi ně patří i polyfenolické látky, které vykazují antioxidační účinky, tj. mají schopnost chránit organismus před škodlivým působením volných radikálů. Pro stanovení obsahu těchto látek a jejich antioxidačních vlastností se používá celá řada metod, které se od sebe liší jak postupem, tak i výsledky. Proto získané výsledky musí být interpretovány spolu s použitou metodou.

V dnešní době šlechtitelé obilovin věnují svou pozornost nejen odrůdám odolným vůči škůdcům, chorobám a měnícímu se prostředí, ale také odrůdám s vyšším obsahem nutričně zajímavých látek, jako jsou právě polyfenoly. Příkladem jsou odrůdy pšenice s barevným zrnem vyšlechtěné ve společnosti Agrotest fyto, s.r.o. v Kroměříži (AF Zora – černé zbarvení zrna, AF Oxana – modré a AF Jumiko – purpurové), nebo nové genetické zdroje jarního ječmene, u kterých je vysoký obsah polyfenolických látek možné kombinovat s dalšími antioxidanty obsaženými v ječmeni (například s vitaminem E, nebo některými enzymy) a rovněž se zvýšeným obsahem β -glukanů, což jsou látky s pozitivními účinky v prevenci většiny civilizačních chorob a posilující imunitní systém. Všechny tyto odrůdy obilovin představují novou generaci surovin pro vývoj tzv. funkčních potravin, což jsou potraviny s deklarovanými, vědecky podloženými pozitivními zdravotními účinky.

I když publikací zaměřených na polyfenolické látky v obilovinách přibývá, stále existuje množství dosud nedostatečně nebo vůbec neřešených otázek s nimi spojených. Jedná se třeba o stabilitu polyfenolů v průběhu skladování jak celého zrna, tak mlynářských produktů i výrobků z nich připravených. Důležitá je i znalost vlivu jednotlivých technologických zpracovatelských

postupů na chemické a fyzikální vlastnosti sledovaných zdraví prospěšných látek, které mohou ovlivnit nejen jejich obsah v konečném produktu, ale hlavně jejich biologickou dostupnost a využitelnost v lidském organismu.

/Recenzováno/

Poděkování

Výsledky byly získány s využitím institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace Agrotest fyto, s.r.o. (MZE-RO1118).

Literatura

- Beta T., Nam S., Dexter J.E., Sapirstein H.D. (2005): Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fraction, *Cereal chemistry*, Vol. 82 (4), p. 390-393
- Câmara J.S., Albuquerque B.R., Aguiar J., Corrêa R.C.G., Gonçalves J.L., Granato D., Pereira J.A.M., Barros L., Ferreira I.C.F.R. (2021): Food bioactive compounds and emerging techniques for their extraction, *Foods*, Vol.10 (1), 37
- Duodu K.G. (2011): Effects of Processing on Antioxidant Phenolics of Cereal and Legume Grains, *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion*, Chapter 3, p. 31-54
- Dziki D., Różyło R., Gawlik-Dziki U., Świeca M. (2014): Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 40 (1), p. 48-61
- Huang D., Ou B., Prior R.L. (2005): The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of agricultural and food Chemistry*, Vol. 53(6), p. 1841-1856
- Manach C., Scalbert A., Morand Ch., Rémésy Ch., Jiménez L. (2004): Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79 (5), p. 727-747
- Martinek P., Eliašová M., Paznocht L. (2019): Barevné látky a další antioxidanty v znu pšenice, *Úroda* 10/2019
- Martínez M., Motilva M.J., Lopez de las Hazas M.C., Romero M.P., Vaculova K., Ludwig I.A. (2018): Phytochemical composition and β -glucan content of barley genotypes from two different geographic origins for human health food production, *Food Chemistry*, Vol. 245, p. 61-70
- Liu J., Yu L.L., Wu Y. (2020): Bioactive components and health beneficial properties of whole wheat foods, *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 68 (46), p. 12904-12915
- Price M.L., Butler L.G. (1977): Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain, *Journal of Agricultural and food chemistry*, Vol. 25 (6), p. 1268-1273
- Rothwell J.A., Pérez-Jiménez J., Neveu V., Medina-Ramon A., M'Hiri N., Garcia Lobato P., Manach C., Knox K., Eisner R., Wishart D., Scalbert A. (2013): Phenol-Explorer 3.0: a major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. *Database*, 10.1093/database/bat070
- Saharan P., Sadh P.K., Duhan J.S. (2017): Comparative assessment of effect of fermentation on phenolics, flavanoids and free radical scavenging activity of commonly used cereals, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Vol. 12, p. 236-240
- Shahidi F., Naczek M. (2003): *Phenolics in food and Nutraceuticals*, CRC press

- Singleton V.L., Rossi J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American journal of Enology and Viticulture*, Vol. 16, p. 144-158
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymology*, Vol. 299, p. 152-178
- Slavin J., Jacobs D., Marquart L. (1997): Whole-grain consumption and chronic disease protective mechanism, *Nutrition and cancer*, Vol. 27 (1), p. 14-21
- Terao J., Piskula M., Yao Q. (1994): Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers, *Archives of biochemistry and biophysics*, Vol. 308(1), p. 278-284
- Trojan V., Musilová M., Vyhnánek T., Klejdus B., Hanáček P., Havel L. (2014): Chalcone synthase expression and pigments deposition in wheat with purple and blue colored caryopsis, *Journal of Cereal Science*, Vol. 59 (1), p. 48-55
- Verma B., Hucl P., Chibbar R.N. (2008): Phenolic content and antioxidant properties of bran in 51 wheat cultivars, *Cereal chemistry*, Vol. 85 (4), p. 544-549
- Yu L., Perret J., Harris M., Wilson J., Haley S. (2003): Antioxidant properties of bran extracts from Akron Wheat grown at different location, Vol. 51 (6), p. 1566-1570
- Zhang Y., Truzzi F., D'Amen E., Dinelli G. (2021): Effect of storage condition and time on polyphenol content of wheat flours, *Processes*, Vol. 9(2), 248



Obr 4: Silné fialové zabarvení klasu ječmene bývá často spojeno i s vysokým obsahem anthokyanů v zrně.