

Fenolické látky obilovin a jejich stanovení Folinovým činidlem

Jana Grygarčíková

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana GRYGARČÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T08315**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Fenolické látky obilovin a jejich stanovení Folinovým činidlem**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Charakterizace složení obilovin, fenolické látky, jejich dělení a význam.**
- 2. Princip stanovení fenolických látek pomocí Folinova činidla.**
- 3. Jiné analytické metody pro stanovení fenolických látek.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 1, 1. vydání, OSSIS, Tábor 1999.

[2] DYKES, L., ROONEY, L. W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits, Cereal Foods World 2007.

[3] KOPÁČOVÁ, O. Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 2006.

[4] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. Cereální, chemie a technologie I: Cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin, 1. vydání, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze 2004, Praha 2004.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ERYGARČÍKOVÁ JANA

Obor: MEK. A. TECHNOLOGIE
POTRAVIN

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 26.5.2011

Erygarčiková

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na fenolické sloučeniny, jež jsou obsaženy v obilovinách a jejich význam. Jsou zde uvedeny možné metody stanovení těchto látek a blíže je popsáno jejich stanovení pomocí Folin-Ciocalteuova činidla.

Klíčová slova: obiloviny, fenolické látky, Folin-Ciocalteuovo činidlo, antioxidant

ABSTRACT

The bachelor thesis is focused on the phenolic compounds, which are contained in cereals and their significance. There are possible methods of determination these substances and determination by the Folin-Ciocalteu reagent is described closer.

Keywords: cereals, phenolic compounds, Folin-Ciocalteu reagent, antioxidant

Poděkování

Zde bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a trpělivost, jež mi poskytla. Také bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za psychickou podporu při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....
Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 OBILOVINY	12
1.1 OBILNÉ ZRNO	12
1.1.1 Morfologická stavba.....	12
1.1.2 Chemické složení	14
1.1.2.1 Sacharidy	14
1.1.2.2 Bílkoviny	15
1.1.2.3 Lipidy.....	15
1.2 JEDNOTLIVÉ DRUHY OBILOVIN	16
1.2.1 Pšenice.....	17
1.2.2 Ječmen.....	17
1.2.3 Kukuřice.....	18
1.2.4 Oves.....	18
1.2.5 Žito	19
2 ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBENÍ	20
3 FENOLICKÉ LÁTKY	21
3.1 FENOLICKÉ LÁTKY OBSAŽENÉ V OBILOVINÁCH.....	22
3.1.1 Fenolové kyseliny	23
3.1.2 Flavonoidy.....	23
3.1.3 Kondenzované taniny.....	24
3.1.4 Avenantramidy	24
3.1.5 Lignany	25
3.1.6 Alkylresorcinoly.....	25
3.1.7 Fenol a antioxidační aktivita v obilných zrnech.....	25
3.2 METODY STANOVENÍ OBSAHU FENOLICKÝCH LÁTEK.....	26
3.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s coulometrickým detektorem	26
3.2.2 Kapilární elektroforéza.....	27
3.2.3 Stanovení za použití Folin-Ciocalteuova činidla	27
3.2.3.1 Folin-Ciocalteuovo činidlo	28
3.2.3.2 Rychlá mikrotitrační vysoce kapacitní metoda pro posuzování snižování aktivity Folin-Ciocalteuového činidla	29
3.2.3.3 Porovnání obsahů fenolických sloučenin při teplotě měření 20 °C a 40 °C	29
3.2.3.4 Stanovení celkového obsahu fenolických látek v několika druzích obilovin	31
3.2.3.5 Stanovení polyfenolů v semenech amarantu, quinoi, pohanky a pšenice v závislosti na jejich klíčení a úpravou pečením	32
3.2.3.6 Stanovení obsahu fenolických látek u ovesných snídaňových cereálií.....	33

ZÁVĚR	36
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	37
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	41
SEZNAM OBRÁZKŮ	42
SEZNAM TABULEK.....	43
SEZNAM PŘÍLOH.....	44

ÚVOD

Obiloviny jsou základní součástí výživy již od nepaměti. V rozvojových zemích tvoří převažující složku přijímané potravy. Vyšší konzumaci těchto potravin jsou často přičítány velmi příznivé dopady na lidské zdraví. Zrna obilovin totiž obsahují velmi cenné látky, z nichž můžeme jmenovat polysacharid škrob, jež je dobrým zdrojem energie pro náš organismus, dále proteiny a také lipidy, jež jsou zastoupeny nenasycenými mastnými kyselinami, jejichž příjem ve stravě je mnohdy opomíjen. Významný je také obsah některých vitaminů, minerálů a vlákniny, díky níž se může častější zařazení obilovin do jídelníčku jevit jako velmi příznivé při hubnutí a nejrůznějších dietách. Je ovšem nutné nezapomenout na to, že obsah těchto nutričních živin je výrazně nižší, dochází-li k vymílání zrn, neboť vymletím získáváme bílou mouku, která obsahuje v podstatě pouze škrob. V posledních letech je navíc blíže prozkoumáván obsah antioxidantů v obilovinách, neboť jejich příjem potravou je stále více diskutován. Těmto látkám jsou přičítány účinky jako zpomalení procesu stárnutí organismu, snižování rizika vzniku nádorových onemocnění, snižování rizika vzniku zánětů, celkové posílení imunitního systému a mnoho dalších účinků. Obiloviny obsahují významná množství fenolických sloučenin, jež také disponují těmito účinky a řadíme je rovněž mezi antioxidanty. Cílem práce bylo vysvětlení metody stanovení fenolických sloučenin v obilovinách pomocí Folin-Ciocalteuova činidla a jsou zde uvedeny některé studie, jež se těmito stanoveními zabývaly.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBILOVINY

Obiloviny neboli cereálie mohou mít v době rozšířeného výskytu nejrůznějších civilizačních chorob mezi ostatními zemědělskými plodinami výsadní postavení [1]. Pojem civilizační choroba je definován jako chronická neinfekční choroba s hromadným výskytem. Konkrétně jsou to kardiovaskulární, nádorová onemocnění, obezita, *diabetes mellitus II.* typu, cévní mozkové příhody, hypertenze a dyslipidemie [2], čili změna koncentrace lipidů a lipoproteinů v krvi [3]. Kromě zvýšení míry sociálního stresu, snížení pohybové aktivity a nadměrného užívání návykových látek, má na rozvoji těchto onemocnění nemalý podíl i způsob výživy člověka [2]. Obiloviny výrazně ovlivňují výživovou bilanci a obzvláště zdraví prospěšné mohou být ty, které mají nízký glykemický index. To je hodnota, která říká, jak daná potravina ovlivní hladinu cukru v krvi [1]. Pro lidskou výživu se přímo, tzn. bez např. chemického zpracování, z obilovin používá výhradně zrna [4] a ostatní části rostlin mohou být využity jako krmivo či na výrobu siláže. Název cereálie byl odvozen od římské bohyně Ceres, dávkyně zrna, což svědčí o významu obilovin již ve starověku. Obiloviny různých druhů dodnes pokrývají základní lidské potřeby či slouží i jako krmivo pro zvířata [5]. V mnoha částech Afriky a Asie pokrývají více než 70 % energetického příjmu. Ve výživě zemí mírného pásma je pšenice nejdůležitější obilovinou, v zemích Dálného východu má výsadní postavení rýže a ve velké části Afriky a Střední Ameriky je to kukuřice [6]. Botanicky jsou obiloviny řazeny do třídy jednoděložných rostlin, do čeledi *Gramineae*, obecně označovaných jako Trávy [5]. Společný botanický původ obilovin může být příčinou jejich vzájemné podobnosti, co se týče struktury a tvorby zrna či i v jeho chemickém složení [4]. Významné jsou však i tzv. pseudocereálie, které patří do třídy dvouděložných rostlin.

1.1 Obilné zrna

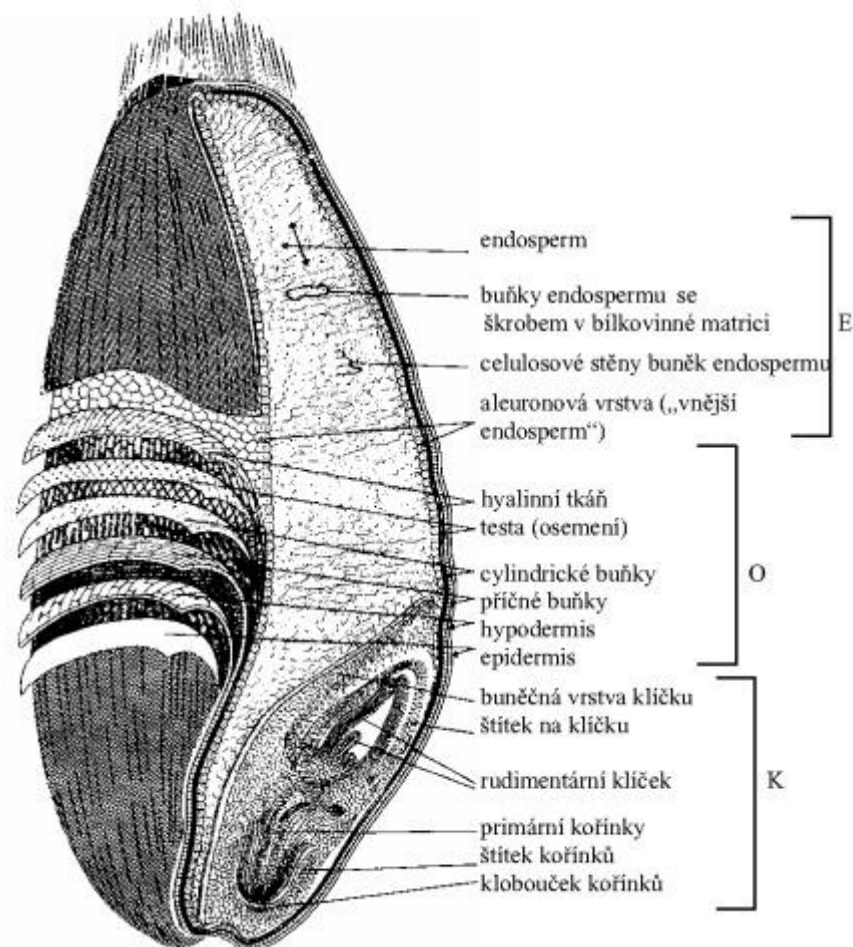
1.1.1 Morfologická stavba

Morfologická skladba obilného zrna je pro všechny obiloviny v podstatě stejná. Rozdíly nalezneme ve tvaru, velikosti, hmotnosti a v podílu jednotlivých vrstev. Informace o velikostech zrn různých obilovin a hmotnosti tisíce zrn udává tabulka č. 1.

Tabulka č. 1: Velikosti zrn a hmotnosti tisíce zrn (HTZ) jednotlivých obilovin [4]

Druh cereálie	Délka [mm]	Šířka [mm]	HTZ [g]
Pšenice	5 - 8	2,5 - 4,5	27 - 48
Žito	4,5 - 10	1,5 - 3,5	15 - 40
Ječmen	8 - 14	1,0 - 4,5	32 - 36
Oves	6 - 13	1,0 - 4,5	32
Rýže	5 - 10	1,5 - 5,0	27
Kukuřice	8 - 17	5 - 15	150 - 600
Čirok	3 - 5	2 - 5	8 - 50

Nejsvrchnější vrstvy zrna jsou tvořeny nerozpustnými a obtížně bobtnajícími materiály, především celulózu. Hlavní funkcí těchto vrchních vrstev, označovaných také jako oploď, je ochrana zrna před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Další podpovrchové vrstvy neboli osemení obsahují barviva, která určují barevný vzhled zrna. V následujících vrstvách jsou obsaženy polysacharidové látky, které jsou schopny do různé míry bobtnat a vázat vodu, a tím mohou přispívat k udržování rovnováhy vlhkosti zrna. Zmíněné vrstvy tvoří pevnou houževnatou vrstvu, která při mletí přechází do otrub a v obrázku č. 1 jsou označeny písmenem O. Rozhraní obalových vrstev a endospermu je tvořeno jednoduchou, měkčí vrstvou velkých buněk, tzv. aleuronovou vrstvou, obsahující vysoký podíl bílkovin (cca 30 %), který je téměř třikrát vyšší než v endospermu. Aleuronová vrstva může být společně s endospermem vymleta do mouk, nebo jí část zůstává ulpělá na otrubách. Buňky aleuronové vrstvy mají také nejvyšší obsah minerálních látek ze všech buněk zrna, proto se při jejím vymílání výrazně zvýší obsah minerálií (popela) v mouce. Na obrázku č. 1 je tato vrstva přecházející do mouky označena písmenem E [4]. Protože klíček velmi rychle podléhá oxidačním a enzymovým změnám, před vlastním mlýnským zpracováním je broušením celý odstraňován. Tyto změny by jinak zhoršovaly senzoričnou kvalitu výrobku, proto je při zpracovávání klíčku pro potravinářské účely nutné přítomné enzymy inhibovat již během několika hodin. Na obrázku č. 1 je klíček označen písmenem K.



Obrázek č. 1: Podélný řez pšeničným zrnem [1]

1.1.2 Chemické složení

V chemickém složení jednotlivých obilovin nejsou přílišné rozdíly. Větší rozdíly nalezneme spíše ve složení různých variet jednoho druhu obilí. Je ovšem nutné zdůraznit, že uvažujeme celá, neloupaná zrna, která mimo jiné obsahují více vlákniny a minerálních látek než zrna oloupaná. Vliv na chemické složení mají především půdní, klimatické a agrotechnické podmínky.

1.1.2.1 Sacharidy

Sacharidy tvoří největší podíl zrna. Z vysokomolekulárních polysacharidů, které se zde vyskytují, je nejvíce zastoupen škrob. Monosacharidy a oligosacharidy jsou v obilných zrnech obsaženy jen v nepatrném množství, v rozmezí 1 - 3 % a jsou zastoupeny především sacharózou, v malých množstvích maltózou, fruktózou či glukózou. Škrobové granule se nacházejí v endospermu a jejich podoba je pro jednotlivé druhy obilovin charakteris-

tická. Množství škrobu se pohybuje v rozmezí 65 - 75 %. Z dalších polysacharidů zde nalezneme celulózu, hemicelulózy, pektiny či β -glukany. Celulóza ve formě vláken z obalových vrstev je obsažená v celozrnných moukách. Zvyšuje spotřebu vlákniny a tím příznivě působí na fyziologii trávení. Hemicelulózy jsou uloženy převážně v podobalových vrstvách a také plní funkci nestrávitelné vlákniny potravy. Jejich důležitou složkou jsou pentózy heterogenního složení, s převahou arabinózy a xylózy, neboť na sebe váží vodu a jsou schopny tvořit viskózní roztoky. Jsou významné především při tvorbě žitného těsta. β -glukany jsou rozpustné polysacharidy, které rovněž vytvářejí viskózní gely a nalezneme je nejvíce v ječmeni a ovsu [1].

1.1.2.2 Bílkoviny

Obiloviny obsahují zhruba 6 - 15 % bílkovin. Velmi významné jsou především bílkoviny pšenice. Nejvíce se jich nachází v endospermu pšeničného zrna. Vypíráním pšeničné mouky vodou se získává lepek, pružný a tažný hydratovaný gel. Jeho sušina je z 80 - 95 % tvořena právě bílkovinou, konkrétně dvěma a to gliadinem a glutelinem. Tzv. mokrá lepek je hlavním jakostním kritériem pekařské jakosti pšeničné mouky, je asi z 66 hmot. % tvořen vodou. Po jeho vysušení dostaneme suchý lepek. Zásobními bílkovinami rýže je glutelin (oryzein), kukuřice prolamin (zein), ječmene hordeiny a gluteliny a v ovsu jsou obsaženy albuminy a globuliny. Co se týče obsahu aminokyselin v cereáliích, některé jsou zde obsaženy v nízkých množstvích. Limitující aminokyselinou pro obiloviny obecně je lyzin, s výjimkou žita, jehož limitující aminokyselinou je tryptofan [1].

1.1.2.3 Lipidy

Množství lipidů v cereáliích se pohybují do 10 %, uvažujeme-li jejich množství obsažená v sušině. Největší podíl lipidů je obsažen v klíčku. Z jednotlivých druhů obilovin jich nejvíce obsahuje oves, množství se pohybují v rozmezí 5 - 10 % v sušině. Dobrá nutriční hodnota cereálních lipidů je opodstatněna tím, že více než 75 % z mastných kyselin jsou kyseliny nenasycené [1]. Ty představují nezbytnou složku pro lidskou výživu. Při nedostatku nenasycených mastných kyselin dochází k poruchám činnosti nervových buněk, k poruchám vývoje a růstu a nepříznivě jsou ovlivněny také naše imunitní reakce. Neméně důležitým je příznivé ovlivňování hladiny cholesterolu v krvi při dodržování potřebného příjmu nenasycených mastných kyselin [7].

Kromě výše zmíněných základních nutričních složek cereálie obsahují i další látky, jako jsou vitaminy, minerální látky, fytyáty a fenolické látky. Cereálie jsou dobrým zdrojem pře-

devším vitaminů skupiny B a klíčky jsou bohaté na vitamin E. Co se týče minerálních látek, v celých zrnech obilovin a celozrnných výrobcích je nejvíce obsaženo železo, hořčík, zinek, vápník, draslík či selen. Zmiňované fytyáty mají spíše negativní vliv, neboť zhoršují využitelnost některých živin, a to jejich rozkládáním nebo přeměnou. Váží především minerální látky, jako železo, zinek či vápník a jejich absorpce je tak omezena. V průběhu zpracování však dochází ke snižování obsahu fytyátů, neboť u většiny obilovin jsou obsaženy v aleuronové vrstvě či v klíčku, proto je např. bílá mouka téměř neobsahuje [1].

Tabulka č. 2: Základní chemické složení obilovin v % [8]

Obilovina	Voda	Proteiny	Lipidy	Škrob	Minerální látky
Pšenice	13,2	11,7	2,2	59,2	1,5
Žito	13,7	11,6	1,7	52,4	1,9
Ječmen	11,7	10,6	2,1	52,2	2,3
Oves	13,0	12,6	5,7	40,1	2,9
Rýže	13,1	7,4	2,4	70,4	1,2
Kukuřice	12,5	9,2	3,8	62,6	1,3

1.2 Jednotlivé druhy obilovin

Obiloviny, v první řadě pšenice, jsou pro výživu člověka nejvýznamnějším zdrojem proteinů z rostlinných materiálů [8]. Před druhou světovou válkou u nás převládalo především pěstování pšenice z oblasti Čech a Moravy, v ostatních oblastech převažovalo pěstování žita, ječmene a ova. Dnes se již pouze žitný chléb prakticky nevyrábí, spíše žitnopšeničný, který obsahuje maximálně 60 % žitné mouky. Dle statistik FAO (Food and Agriculture Organization - Organizace pro výživu a zemědělství) z roku 2003 patří ve světě k obilovinám s největším objemem produkce pšenice a rýže. Obecně se pak více či méně v potravinářství zpracovávají obiloviny: pšenice, žito, kukuřice, rýže, ječmen, oves, čirok, proso a tritikale a také pseudoobiloviny pohanka, amarant a quinoa [1].

Dle údajů Českého statistického úřadu zaujímala v roce 2010 nejvíce osevních ploch v České republice pšenice a následoval ječmen, kukuřice, oves a žito [9].

1.2.1 Pšenice

Pšenice je nejdůležitější a nejvíce kultivovanou potravinovou plodinou na světě [10]. Její pěstování spadá daleko do historie, ve starověku byla tato plodina převládajícím zdrojem lidské potravy. Pěstována byla zejména v Persii (Írán), Egyptě, Řecku a také v Evropě [11]. Pšenice je hlavní plodinou pro asi 35 % lidské populace. V roce 1996 tvořila největší podíl (28,5 %) na trhu s obilovinami dle údajů FAO. Popularita této plodiny je z velké části založena na její vysoké nutriční hodnotě a univerzálnosti jejího využití při výrobě široké škály potravinářských výrobků, jako je chleba, těstoviny, sušenky a další [10]. Pěstuje se hlavně v aluviální půdě v oblastech s mírným podnebím. V zimě je pěstována v Indii, v létě pak v Evropě a Americe, protože zde je v tomto období vyhovující množství srážek. V Austrálii, Jižní Americe, části Spojených států a části Paňdžáb (Indie a Pákistán) je z důvodu nedostatku srážek pěstování pšenice závislé na zavlažování [12].



Obrázek č. 1: Pšenice setá (*Triticum aestivum*) [13]

1.2.2 Ječmen

V dnešní době je ječmen asi ze dvou třetin využíván pro výrobu krmiv, z jedné třetiny ve sladovnictví a kolem 2 % je využito v potravinářském průmyslu. Je pravděpodobně nejvíce přizpůsobivým druhem obiloviny s produkcí i ve vyšších nadmořských výškách či v poušti, a proto představuje hlavní zdroj potravy pro himalájské národy, Etiopii a Maroko. Ječmen je přínosem pro zdraví především díky obsahu β -glukanů, jež jsou zodpovědné za snižování krevního cholesterolu a tato obilovina se také vyznačuje nízkým glykemickým indexem [14].



Obrázek č. 2: Ječmen setý (*Hordeum vulgare*) [15]

1.2.3 Kukuřice

Tato obilovina původem z Mexika, je pěstována po celém světě, jejím největším producentem je však stále Amerika. Největší část sklizně je přitom využívána ke krmení dobytka a významná část je využívána k výrobě kukuřičného škrobu. Ten je vhodný pro výrobu modifikovaných škrobů. Stále více se rozšiřuje výroba různých snack extrudovaných výrobků z kukuřičné krupice a využití nachází i ve výrobě alkoholu. Významnou obilovinou může být pro nemocné celiakií, jež jsou omezeni, co se cereálních výrobků týče, na příjem rýže a kukuřice [4].



Obrázek č. 3: Kukuřice setá – květenství (*Zea mays*) [16]

1.2.4 Oves

Této nenáročné obilovině, původem z Malé Asie, vyhovuje sušší a chladnější podnebí a relativně suchá půda. Je poměrně odolná vůči mechanickému poškození, pěstuje se převážně jako krmivo. Největšími producenty ovsu jsou Rusko, Kanada a USA. V České re-

publice se vyrábí ovesná mouka či se zpracovává na vločky, jejichž obliba stále stoupá. Mezi obilovinami se vyznačuje nejvyšším obsahem bílkovin s vysokou biologickou hodnotou, neboť jsou zde zastoupeny esenciální aminokyseliny lyzin a metionin. Příznivé je také vysoké množství vlákniny a velmi dobrý poměr nasycených a polynenasycených mastných kyselin [1].



Obrázek č. 4: Oves setý (*Avena sativa*) [17]

1.2.5 Žito

Žito seté je nenáročná rostlina pěstovaná spíše v oblastech s chladným, drsnějším klimatem, je možné jej pěstovat také ve vyšších nadmořských výškách a relativně suchých oblastech. Je naší tradiční obilovinou, využívanou pro potravinářské, krmivářské, technické i farmaceutické účely. Žitná mouka je základní složkou chleba, kde je možné využít nejen mouku, ale i celá zrna. Dominantní postavení co se týče jeho produkce má Evropa, v posledních letech má však podíl žitné mouky v pekárenských výrobcích klesající tendenci [1].



Obrázek č. 5: Žito seté (*Secale cereale* L.) [18]

2 ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBENÍ

Antioxidační vlastnosti vykazuje řada rostlinných potravinářských materiálů. Po staletí se k prodloužení tržnosti potravin používají převážně různé byliny a koření. Zvláště účinné jsou rozmarýna a šalvěj, ale i další, např. oregano, tymián, hřebíček, kurkuma a také ovesná mouka aj. Přírodní antioxidanty získávané z rostlin nejčastěji jako extrakty mají často omezené použití, neboť mohou vykazovat vůni po použitých rostlinách nebo hořkou chuť [19].

Hlavními zdroji antioxidantů jsou rostlinné produkty, ovoce a z nich vyráběné džusy, čaj, káva, červené víno, zelenina, obiloviny, čokoláda a luštěniny. V minulosti byla větší pozornost věnována spíše vitaminům s antioxidačním účinkem, karotenoidům či minerálním látkám, proto můžeme říci, že polyfenolické sloučeniny jsou v této spojitosti méně prozkoumanou skupinou. Možnou příčinou opožděného zájmu o tuto skupinu je značná rozmanitost a složitost jejich chemické struktury [20]. Antioxidační aktivita potravin je velmi důležitou vlastností, s níž jsou spojovány příznivé účinky na zdraví člověka. Rozhodující je schopnost látek již v malých koncentracích na intracelulární úrovni zpomalovat nebo rušit nežádoucí oxidační reakce. To je způsobeno jejich relativně vyšším oxidačně-redukčním potenciálem, schopností rychle odstranit reaktivní formy kyslíku a další volné radikály, schopností chelátově vázat katalyticky aktivní prvky, redukovat meziprodukty řetězových oxidačních změn nebo stimulovat aktivity endogenních antioxidačních enzymů. Významnými antioxidanty v potravinách jsou jednoduché fenoly a furany, složené fenolové látky, flavonoidy včetně katechinů a antokyaninů, stilbeny, alkylsulfidy, indoly a některé vitaminy a karotenoidy [21].

Antioxidanty jsou tedy látky působící proti volným radikálům. Mohou výrazně snížit nepříznivé účinky způsobené oxidanty, zabránit řetězové reakci nebo zabránit aktivaci kyslíku na vysoce reaktivní formy [22]. Většina energie, kterou mozek spotřebuje, je generována mitochondriální oxidativní fosforylací za vzniku ATP. Při určitých podmínkách však vznikají vedlejší produkty, jako kyslík, volné hydroxylové radikály a peroxid vodíku. Právě nadměrná produkce těchto látek způsobuje závažné změny, jež jsou souhrnně označovány jako oxidativní stres, dochází při nich k poškození proteinů a lipidů [23]. Antioxidanty mohou být buď enzymatického či neenzymatického charakteru [22].

3 FENOLICKÉ LÁTKY

Fenolické sloučeniny, konkrétně polyfenoly, tvoří ve stravě nejrozsáhlejší skupinu antioxidantů. Jejich celkový příjem potravou může být až více než 1 g denně, a to je mnohem více než u všech ostatních skupin fytochemikálií a antioxidantů [20]. Fenolické látky jsou skupinou organických sloučenin, obsahující nejméně jeden aromatický kruh, na který je kovalentně vázána jedna či více hydroxylových skupin. Obsahují-li jednu hydroxylovou skupinu, označujeme je jako monomery, pokud mají ve své struktuře více hydroxylových skupin, pak mluvíme o polyfenolech [24]. Většina přirozeně se vyskytujících fenolických sloučenin je přítomna ve formě konjugátů s monosacharidy či polysacharidy anebo se vyskytují jako funkční deriváty esterů a metylesterů [25]. Celkem bylo zjištěno více než 100000 látek řazených mezi fenolické sloučeniny [24]. V rostlinách se běžně vyskytují v jedlých i nepoživatelných částech [26]. Tyto látky mají široké využití, mohou se vyskytovat v přírodní nebo syntetické podobě, jako např. lignany a katecholy. Hrají důležitou roli v růstu a rozmnožování u rostlin, kde také poskytují ochranu před predátory a patogeny. U ovoce a zeleniny ovlivňují jejich zbarvení a také jejich sensorické vlastnosti [25]. Fenoly se dále využívají např. jako dezinfekční prostředky (kresoly), při výrobě azobarviv a plastů, dále jako aromatické látky (vanilka), jako antioxidanty (sezamol a nordihydroguajaretová kyselina) a pigmenty (kurkumin). Některé fenoly jsou však rovněž považovány za jedy (chlorfenoly) [27]. Pro zdraví člověka jsou nejvíce prospěšné velké složité molekuly, tzn. polyfenoly. Kromě antioxidačního účinku stimulují užitečné enzymy, chrání játra, posilují kapiláry a vykazují i antialergický účinek, neboť brání uvolňování histaminu. Dále se spolupodílejí na účinku kyseliny askorbové a omezují shlukování krevních destiček. Ojedinele mohou působit i negativně a to tak, že mohou omezovat využití bílkovin, tiaminu či železa [28]. Navzdory široké rozmanitosti skupiny fenolických látek vyskytujících se v přírodě, je lze rozdělit v podstatě do několika tříd [25]. V této práci je uvedeno rozdělení dle [Balasundram] v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Třídy fenolických sloučenin obsažených v rostlinách [25]

Třída	Struktura
Jednoduché fenoly, benzochinony	C_6
Hydroxybenzoové kyseliny	C_6-C_1
Acetofenony, fenyloctové kyseliny	C_6-C_2
Hydroxyskořicové kyseliny, fenypropanoidy (kumariny, izokumariny, chromony, chromeny)	C_6-C_3
Naftochinony	C_6-C_4
Xantony	$C_6-C_1-C_6$
Stilbeny, antrachinony	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoidy, izoflavonoidy	$C_6-C_3-C_6$
Lignany, neolignany	$(C_6-C_3)_2$
Bioflavonoidy	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligniny	$(C_6-C_3)_n$
Kondenzované taniny (proantokyanidiny, flavolany)	$(C_6-C_3-C_6)_n$

3.1 Fenolické látky obsažené v obilovinách

Bylo dokázáno, že spotřeba celozrnných výrobků pomáhá snížit riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění, mozkové mrtvice, cukrovky 2. typu a rakoviny střev. Celá zrna obilovin obsahují mnoho zdraví prospěšných složek, jako jsou vitaminy, minerální látky a fytochemikálie, které zahrnují fenolické sloučeniny. Tyto sloučeniny mají antioxidační vlastnosti, mohou chránit před degenerativními onemocněními, např. onemocnění srdce či rakovina, ve kterých hrají důležitou roli reaktivní formy kyslíku (tj. superoxid, hydroxylové radikály a peroxyradikály) [29]. V potravinářském průmyslu roste zájem o potraviny bohaté na obsah fenolických látek, neboť zpomalují oxidační degradaci lipidů, a tím zlepšují kvalitu i nutriční hodnoty potravin [26]. Přínos vysoké konzumace ovoce a zeleniny pro zdraví bývá např. přisuzován právě fenolickým sloučeninám v nich obsažených a jejich blahodárné účinky jsou přičítány antioxidační činnosti [25].

Obiloviny obsahují celou řadu fenolických látek, včetně kyseliny benzoové, skořicové, antokyanidinů, chinonů, chalkonů, flavonolů a aminofenolů. Množství polyfenolů v obilovinách je velmi variabilní a závisí také na druhu obiloviny a mletí. Polyfenolické látky zde mohou být přítomny buď volně nebo v esterifikované či eterifikované rozpustné formě, stejně jako v nerozpustné formě vázané na složky buněčné stěny, jako jsou polysacharidy, bílkoviny, lignin, kutin a suberin. Nerozpustným fenolickým látkám je připisován hlavní podíl na celkové antioxidační aktivitě obilovin [30]. Velmi příznivě ovlivňují zdraví člověka, neboť je jim přičítáno mnoho biologických účinků. Neméně důležité jsou také antimutagenní, antimikrobiální, hypolipidemické či protizánětlivé účinky a také stimulace trávicí činnosti [26]. V zrnech obilovin se tyto sloučeniny nachází hlavně v oplodí a ve vnějších vrstvách využívaných k výrobě otrub. Přestože je větší zájem soustředěn především na fenolické látky obsažené v ovoci, zelenině, ve víně či čaji, obsah těchto látek byl prokázán i v obilovinách. Některé fenoly jsou jedinečné pro určitý druh obiloviny, jako jsou avenantramidy obsažené v ovsu [29].

3.1.1 Fenolové kyseliny

Fenolovými kyselinami rozumíme deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové, které jsou přítomny ve všech obilovinách. Rozlišují se dvě třídy fenolových kyselin, hydroxybenzoové a hydroxyskořicové kyseliny. Do první skupiny patří kyselina gallová, *p*-hydroxybenzoová, vanilková, syringová a protokatechinová kyselina. Hydroxyskořicové kyseliny mají tří- až šestiuhlíkatou strukturu a zahrnují kumarové, kávové, ferulové a sinapové kyseliny. Obecně se fenolické kyseliny v obilovinách vyskytují volně či ve vázané formě. Konkrétně nejvíce je fenolických kyselin obsaženo v čiroku a prosu. Volné kyseliny jsou umístěny ve vnější vrstvě oplodí a jsou získány použitím organických rozpouštědel. Vázané se vyskytují esterifikované v buněčných stěnách. Významné fenolické kyseliny v obilovinách jsou ferulová a *p*-kumarová [29].

3.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou sloučeniny s C₆-C₃-C₆ kostrou, která se skládá ze dvou aromatických kruhů spojených s tříuhlíkatými sloučeninami. Patří zde antokyany, flavanoly, flavony, flavanony a flavonoly. V přírodě bylo identifikováno více než 5000 flavonoidů, můžeme je nalézt v oplodí všech cereálií. Vykazují antioxidační, protinádorové, protialergické, antikarcinogenní a gastroprotektivní vlastnosti. Doposud bylo nejširší spektrum flavonoidů udáváno u čiroku. Antokyany jsou ve vodě rozpustné pigmenty, které v rostlinných potravi-

nách přispívají k modrému, červenému či fialovému zbarvení (např. u borůvek, ostružin a jahod) a jsou v obilovinách nejvíce prostudovanou skupinou. V přírodě můžeme nalézt hlavně antokyanidiny kyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, petunidin a peonidin. Tyto byly nalezeny v určitých odrůdách ječmene, kukuřice, rýže, žita a pšenice. Obiloviny obsahující modrá či fialová zrna a otruby obsahují antokyany v úrovních 93 - 152 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a 236 - 453 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Například čirok obsahuje 3-deoxyantokyany, které nemají hydroxylové skupiny v poloze 3 uhlíkové řetězce, což může zvyšovat jejich stabilitu při vysokých pH v porovnání s běžnými antokyany. Jsou dobrými přírodními potravinovými barvivy. V cereáliích byly nalezeny také další flavonoidy, běžně se nacházející v ovoci a zelenině, např. apigenin, který tak můžeme kromě petržele či celeru nalézt i v prosu, ovsu a čiroku [29].

3.1.3 Kondenzované taniny

Jsou to látky, které v potravinách přispívají především k jejich trpkosti. Jinak jsou nazývány také jako proantokyanidiny či prokyanidiny, jsou to v podstatě polymery flavanolů. Nacházejí se v čiroku s pigmentovanými vnějšími obaly semene a ječmeni. Stanovení tříslovin v potravinách bylo v minulosti obtížné z důvodu nedostatku odpovídajících standardů. Ke stanovení obsahu kondenzovaných taninů bylo tedy využíváno především kolorimetrických metod. Výsledky těchto metod však nebyly plně věrohodné, neboť i monomerní fenoly reagovaly s činidly. Množství tříslovin v ječmenu je 0,74 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a v čiroku 7,88 - 21,97 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Třísloviny obsažené v ječmenu jsou mono-, di- či trimery, zatímco v čiroku jsou to polymery. Třísloviny mají schopnost vázat na sebe proteiny, sacharidy a minerály a snižují tak stravitelnost těchto živin. Kondenzované třísloviny mají vysokou antioxidační aktivitu ve srovnání s monomerními fenolickými sloučeninami. Vykazují antikarcinogenní, gastroprotektivní a protivředové účinky, dále snižují cholesterol a příznivě působí také na močové cesty [29].

3.1.4 Avenantramidy

V ovsu se nacházejí avenantramidy 1 resp. B, avenantramid 3 resp. C a avenantramid 4 resp. A. V ovesných vločkách se nachází těchto sloučenin více než v ovesných otrubách, zatímco ve vločkách je to 26 - 27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, otruby obsahují 13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Opět vykazují antioxidační či antiaterogenní účinky [29].

3.1.5 Lignany

Jsou to fytoestrogeny vyskytující se hlavně ve lněném semínku, dále pak v ječmenu, ovsu, žitu, pšenici a v tritikale [29]. Kromě obilovin jsou obsaženy v zelenině, ovoci, luštěninách, olejninách a dobrým zdrojem je i čaj [31]. Množství v těchto obilovinách se pohybují v rozmezí 8 až 299 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$. Sekoizolaricirezinol a matairezinol jsou rostlinné lignany. V lidském těle jsou tyto látky přeměňovány bakteriemi tlustého střeva na tzv. savčí lignany enterodiol a enterolakton [29]. Přestože mohou lignany svou molekulární strukturou připomínat ligniny, liší se tyto dvě skupiny již v počáteční fázi vzniku fenylypropenolů, v prvé řadě koniferyl- a sinapylalkoholů. Lignany jsou součástí stěn rostlinných buněk. V obilném zrně jsou soustředěny ve vnější vrstvě buněk perikarpu, po které následuje aleuronová vrstva, proto jsou jejich bohatým zdrojem otruby. Bylo např. zjištěno, že vysoký příjem rostlinných lignanů vedl u mužů ke snížení kardiovaskulárních onemocnění, a také byla prokázána ochranná role těchto sloučenin před karcinomem prostaty či tlustého střeva [31].

3.1.6 Alkylresorcinoly

Tyto sloučeniny jsou deriváty 1,3-dihydroxybenzenu s lichým počtem uhlíkových řetězců v pozici 5 na benzenovém jádře. Tyto sloučeniny se nacházejí v pšeničných otrubách, žitu, tritikale a v ječmeni. Pšenice obsahuje 339 - 759 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, žito 575 - 1008 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a v ječmeni je obsaženo 8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ alkylresorcinolů. V otrubách pšenice je jich pak obsaženo 2,211 - 3,225 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a žitné obsahují 2,758 - 4,108 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Alkylresorcinoly vykazují antibakteriální, antimykotické a antioxidační účinky [29].

3.1.7 Fenol a antioxidační aktivita v obilných zrnech

Obecně můžeme říci, že zrna obsahující tanin a pigmentová zrna obsahují nejvíce fenolů. Taniny čiroku a černé rýže obsahují nejvíce fenolických sloučenin a mají nejvyšší antioxidační aktivitu, kdežto nepigmentovaná zrna obilovin, jako např. bílá rýže či pšenice, vykazují nejnižší antioxidační aktivitu. To znamená, že přítomnost barviv či kondenzovaných taninů ve fenolických sloučeninách přispívá ke zvýšení antioxidační aktivity. Mezi obsahem fenolů a antioxidační aktivitou je vysoká závislost, tedy obsah fenolických látek přispívá k antioxidační aktivitě. Dodnes je velmi málo informací o prospěchu fenolických látek obsažených v cereáliích. Čirok obsahující kondenzované tříslovinny vykazuje *in vitro* nejvyšší antioxidační aktivitu, která se blíží či převyšuje aktivitu, kterou vykazuje ovoce či

zelenina. Pěstování této plodiny převládá v horkých, vlhkých oblastech Afriky, konkrétně východní a jižní Afriky.

Mnoho fenolických látek typických pro ovoce a zeleninu bylo nalezeno v obilných zrnech, nicméně mnohé z nich je těžké rozlišit. Proto je nutné tyto fenolové sloučeniny izolovat a charakterizovat jejich zdravotní přínos pro lidský organizmus. Cereálie, jakožto zdroj fenolických látek, mohou mít oproti ovoci a zelenině výhodu v tom, že zrna cereálií jsou suchá a tedy snadno skladovatelná po dlouhou dobu. Obiloviny tedy mohou sloužit jako dobrý prostředek ke zvýšení příjmu zdraví prospěšných složek z potravy, samozřejmě je však vždy lepší konzumovat jejich celá zrna [29].

3.2 Metody stanovení obsahu fenolických látek

Orientačními metodami pro identifikaci fenolických látek v rostlinách jsou chromatografie na tenké vrstvě (TLC – Thin Layer Chromatography) či kolonová chromatografie (CC – Column Chromatography). Ke kvalitativnímu a kvantitativnímu stanovení těchto látek jsou používány spíše chromatografické a elektromigrační metody (jako HPLC – High Performance Liquid Chromatography, Vysokoučinná kapalinová chromatografie; GC – Gas Chromatography, Plynová chromatografie a CE - Capillary Electrophoresis, Kapilární elektroforéza), hmotnostní spektrometrie (MS - Mass Spectrometry) a nukleární magnetická rezonance (NMR - Nuclear Magnetic Resonance) [32].

3.2.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie ve spojení s coulometrickým detektorem

Coul Array detektor, jež se k tomuto měření využívá, je coulometrický multielektrodový detektor, určený pro použití v HPLC. Využívá se k detekci elektroaktivních látek, kdy na základě poměru odezvy signálu velkého počtu kanálů je možná jejich charakterizace. Jedná se o velmi citlivý způsob detekce, při němž je použita série 4 až 16 průtočných coulometrických cel a v nich dochází k elektrochemické přeměně analytu. Každá cela má jiný, avšak konstantní potenciál, a daná látka se buď oxiduje či redukuje při jiném potenciálu. Ten je označován jako dominantní [33].

Technika HPLC již v minulosti výrazně přispěla k řadě farmaceutických, biochemických, klinických a ekologických analýz [34].

3.2.2 Kapilární elektroforéza

Tato separační metoda využívá pohybu nabitých částic v elektrickém poli, kterým může být roztok elektrolytu, či jiné nosné médium, např. gel. Podstata metody spočívá v tom, že každý druh částic, které se pohybují v elektrickém poli má svou charakteristickou rychlost, čehož se dá využít právě pro analýzu či separaci směsí [35].

Metoda je využívána hlavně pro stanovení fenolických látek v rostlinných materiálech. Jako další analytické metody pro stanovení těchto látek zahrnuje extrakci vzorku, analytické oddělení, kvantifikaci a nakonec interpretaci získaných údajů. Nezbytně nutná je správná preparace vzorku bez obsahu rušivých složek. Izolace fenolických látek např. z ovoce může být zkomplikována jejich nerovnoměrným rozptýlením v ovoci. Neboť ve vnějších (epidermálních a subepidermálních) vrstvách ovoce jsou více obsaženy rozpustné fenolické sloučeniny než je tomu ve vnitřních tkáních [36].

3.2.3 Stanovení za použití Folin-Ciocalteuova činidla

Kvantitativní stanovení fenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuova činidla, neboli FC činidla je rozšířená metoda. Probíhá zde oxidace fenolických látek v alkalickém prostředí ze žlutého zbarvení fosfowolframové heteropolykyseliny a kolorimetrické měření výsledného komplexu o modrém zbarvení. Tyto modré pigmenty mají maximální absorpci závislou na kvalitativním či kvantitativním složení fenolických směsí, také na pH, obvykle se zde přidává uhličitan sodný. Přestože je metoda v laboratořích poměrně často používána, konkrétními detaily se značně liší, proto není zcela vhodné srovnávání výsledků z různých laboratoří. Metoda byla v minulosti blíže prostudována vědci Singletonem a Rossim. Ti studovali konkrétně počáteční a konečné koncentrace uhličitanu sodného, sled doplňků činidla, jejich načasování a čas a teplotu ponechání reakční směsi. Vlnové délky, při níž jsou stanoveny absorbance, by měly být v rozmezí 700 – 760 nm a množství konečné směsi se pohybuje od 2 do 100 ml. Tyto parametry jsou však variabilní. Velmi důležitá je koncentrace alkoholu v konečné směsi. Použití rozpouštědel jiných než voda, může někdy zasahovat do přeměny na modré zbarvení ve vzorcích. Alkohol je ekvivalentní 1ml na 100 ml konečné reakční směsi, proto jsou za použití standardů získány reprodukovatelné výsledky. Také je důležité, aby směs vzorku a FC činidla byla zředěná a uhličitan sodný by měl být přidán na konci, to může být poté příčinou přítomného uhličitanu v relativně koncentrované podobě. Při použití 20 hmot. % roztoku uhličitanu se vzorkem či standardem a FC činidla, přičemž vzorek/standard nebo FC činidlo byly vysoce zředěny, byla

zjištěna 3% koncentrace uhličitanu v konečné směsi. Dle Singletona je stanovení většinou prováděno s konečnou koncentrací alkoholu do 1 % a za přidání 20 hmot. % roztoku uhličitanu [37].

Při měření celkového množství fenolů obsažených v pohance bylo např. napipetováno 0,5 ml roztoku vzorku, resp. standardu, kterým byla kyselina gallová. Dále bylo pipetováno 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a po třech minutách bylo přidáno 1,5 ml 20% uhličitanu sodného. Nakonec byla přidána destilovaná voda na k dosažení celkového objemu 10 ml. Reakcí fenolových sloučenin s činidlem vzniklo modré zbarvení, jehož intenzita byla po dvou hodinách měřena jako absorbance při 765 nm [38].

Modifikovaná metoda s Folin-Ciocalteuovým činidlem byla použita i ke stanovení celkových polyfenolů v bramborách. 0,5 ml vzorku zde bylo napipetováno do 50 ml odměrné baňky a zředěno destilovanou vodou. Poté bylo přidáno 2,5 ml Folin-Ciocalteu činidla a po promíchání 7,5 ml 20% roztoku uhličitanu sodného. Směs byla ponechána 2 hodiny stát při laboratorní teplotě a poté byla na spektrofotometru změřena absorbance při vlnové délce 765 nm proti slepému pokusu. I zde byla jako standard využita kyselina gallová [39].

3.2.3.1 Folin-Ciocalteuovo činidlo

Folin-Ciocalteuovo činidlo je jasně zářivě žlutý roztok. Připravuje se rozpuštěním 10 g wolframnanu sodného a 2,5 g molybdenanu sodného v 70 ml vody. Dále se přidává 5 ml 85% kyseliny fosforečné a 10 ml koncentrované HCl. Poté probíhá zpětný tok (reflux) po dobu 10 hodin. Následně se přidá 15 g síranu litného, 5 ml vody a 1 kapka bromu. Následuje opět zpětný tok 15 min, poté zchlazení na pokojovou teplotu a roztok je přenesen do 100 ml vody. V roztoku vznikají šestimocné komplexy – fosfomolybdenové kyseliny či fosfowolframové kyseliny. Činidlo je možné skladovat při pokojové teplotě a ředěno by mělo být deionizovanou vodou.

Folin-Ciocalteuovo činidlo neobsahuje fenol. Spíše bude reagovat s fenolickými sloučeninami a s jinými látkami ve formě chromogenů, které se dají zachytit spektrofotometricky. Také je možno jej využít ve formě spreje u chromatografických metod. Zbarvení roztoku činidla je způsobeno přenosem elektronů k zásadnímu pH a redukcí komplexů fosfomolybdenové/fosfowolframové kyseliny. Nejběžnější využití tohoto činidla je v Lowryho metodě sloužící ke stanovení koncentrace proteinu. Přidáním FC činidla jsou totiž generovány chromogeny, jež zvyšují absorbanci v rozmezí 550 a 750 nm [40].

3.2.3.2 *Rychlá mikrotitrační vysoce kapacitní metoda pro posuzování snižování aktivity Folin-Ciocalteuového činidla*

V minulosti byly použity různé kombinace koncentrace uhličitanu a reakční teploty ke snížení doby potřebné k dosažení maximálního zbarvení reakční směsi. Při teplotě 40 °C a výše je doba reakce nižší, nicméně termolabilita fenolických sloučenin může způsobit naměření nižších hodnot. Za účelem dosažení rychlejší redukce FC činidla byly podmínky původní časově náročnější metody upraveny, jako standard byla použita kyselina gallová a roztok uhličitanu byl nahrazen roztokem hydroxidu sodného. Pomocí této metodiky byly fenolické sloučeniny stanovovány např. ve víně, pivu, čaji a šťávách. Měření bylo prováděno v 96-ti destičkovém formátu, přičemž k redukci zde dochází již po 3 minutách na rozdíl od původní metody, kdy výsledků bylo dosaženo po 120 minutách.

Měření spektrofotometrickou detekcí je prováděno na mikrotitrační 96-ti jamkové destičce, přičemž 50 µl kyseliny gallové jako standardu či vzorek jsou umístěny v každé jamce a je přidáno 100 µl 0,35 mol.dm⁻³ roztoku NaOH. Absorbance při vlnové délce 760 nm byla sledována při pokojové teplotě v 1 minutových intervalech, dokud nebylo dosaženo maximálních hodnot. Oxidace fenolických sloučenin probíhá tím rychleji, čím je vyšší zásaditost média a také nejsou-li fenolické části protonovány. Během oxidační reakce se může iont fenolátu zregenerovat polymerací oxidovaných fenolů na dimerizované produkty, čili oxidace se může nejen opakovat, ale regenerované fenoly se nezdá oxidují snadněji než původní. Proto je nutná alkalizace a reakce by měla proběhnout co nejrychleji, aby byly tyto regenerační polymerizace minimalizovány. Výhodou této metody je mimo jiné snížení objemu reakční směsi ve srovnání s klasickou metodou. Stejně jako klasické stanovení FC činidlem však metoda není vhodná k použití ve vzorcích s nízkou úrovní fenolických látek a nejsou-li eliminovány rušivé látky, jako kyselina askorbová, fruktóza či siřičitany [41].

3.2.3.3 *Porovnání obsahu fenolických sloučenin při teplotě měření 20 °C a 40 °C*

Při stanovení obsahu fenolických sloučenin v zrnech obilovin pocházejících z Bosny a Hercegoviny a Itálie bylo při teplotě 20 °C zjištěno, že množství se pohybovalo v rozmezí 2,95 - 20,35 mg.l⁻¹ v extraktu. Jako standard byla použita kyselina gallová. Zvýšení teploty na 40 °C vedlo k naměření vyšších hodnot, a taktéž byla zjištěna vyšší antioxidační aktivita. Absorbance výsledného modrého zbarvení po oxidaci fenolických látek s FC činidlem byla v obou případech měřena po 60 min při 760 nm. K neutralizaci byl použit uhličitan sodný. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č. 4 [42].

Tabulka č. 4: Množství fenolických sloučenin získané při 20 a 40 °C [42]

Druh cereálie a původ	Obsah fenolických sloučenin (mg GA.l ⁻¹) při 20 °C	Obsah fenolických sloučenin (mg GA.l ⁻¹) při 40 °C
Pohanka (Mrkonjic Grad, B. a H.)	20,35	30,65
Rýže (Velika Kladusa, B. a H.)	18	26,34
Oves (Gnojnica-Lukavac, B. a H.)	17,1	25,19
Oves (Mrazovac-Buzim, B. a H.)	16,25	23,78
Oves (Velika Kladusa, B. a H.)	13,85	20,26
Ječmen (Velika Kladusa, B. a H.)	13,56	19,94
Ječmen (Mrazovac-Buzim, B. a H.)	13,3	19,68
Ječmen (Gnojnica-Lukavac, B. a H.)	11,69	17,26
Kukuřice (Toplice, B. a H.)	11,29	16,56
Kukuřice (Si Selo-Tuzla, B. a H.)	10,17	14,88
Kukuřice (Srebrenik, B. a H.)	9,82	14,51
Pšenice (Ljusine-Bos.Otoka, B. a H.)	9,26	13,48
Pšenice (Velika Kladusa, B. a H.)	8,46	12,24
Pšenice (Bos.Krupa, B. a H.)	6,48	9,86
Hnědá rýže (Itálie)	7,48	10,89
Bílá rýže (Itálie)	2,95	4,29

Pozn: GA – Gallic acid, kyselina gallová

Stanovením bylo zjištěno, že nejvyšší koncentrace fenolických sloučenin byla naměřena v extraktu pohanky, a dále následovaly obiloviny v pořadí: žito, oves, ječmen, kukuřice, pšenice a rýže. Jelikož se výzkumy z předchozích publikovaných prací liší např. výběrem rozpouštědla, dobou extrakce či teplotou, liší se i jejich závěry. Nicméně obecně můžeme říci, že zvýšení teploty zlepšuje výtěžnost stanovovaných látek a zvyšuje i antioxidační aktivitu zkoumaných druhů obilovin. Závěrem tohoto měření je, že pohanka obsahuje nejvyšší množství fenolických látek, stejně tak vykazuje nejvyšší antioxidační aktivitu a naopak v bílé rýži jich bylo zjištěno nejméně [42].

3.2.3.4 Stanovení celkového obsahu fenolických látek v několika druzích obilovin

K přípravě extraktů bylo naváženo 5 g mouky či mletých zrn dané obiloviny. V případě pšenice bylo stanovení provedeno v pšeničné mouce, mleté z tvrdých či měkkých zrn. U ječmene, prosa, čiroku a žita byla analýza prováděna v celých zrnech. Po navážení bylo smíseno s 50 ml 80% metanolu. Několik studií totiž prokázalo, že efektivním rozpouštědlem k extrakci fenolů i jiných polárních látek v obilovinách je právě 80% roztok metanolu. Směs byla očištěna proudem dusíku, poté důkladně promíchána na třepače po dobu 30 min a následovalo odstředění při 6000 ot.min⁻¹ po dobu 20 min. Extrakty byly převedeny do zkumavky, opět byly propláchnuty proudem dusíku a až do zahájení analýzy byly skladovány v chladu. Při samotném stanovení bylo použito 250 µl extraktu, 250 µl zředěného FC činidla a 500 µl nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Směs byla doplněna na objem 5 ml destilovanou vodou a po řádném smísení byla uchována ve tmě po dobu 30 min. Následovalo odstředování při 6000 ot.min⁻¹ 10 min, poté byla měřena absorbance při vlnové délce 725 nm. Celkové obsahy fenolických sloučenin byly vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové za použití její průměrné molární absorptivity. Tato množství udává tabulka č. 5 [43].

Tabulka č. 5: Zjištěné hodnoty fenolických látek v některých obilovinách [43]

Obilovina	Celkový obsah fenolických látek vyjádřený jako ekvivalent kyseliny gallové (µg.g ⁻¹)
Tvrdá pšenice (<i>Triticum aestivum</i> L.)	562 ± 28,8
Měkká pšenice (<i>Triticum aestivum</i> L.)	501 ± 25,5
Ječmen (<i>Hordeum volgare</i> L.)	879 ± 24,0
Proso (<i>Pennisetum glaucum</i> L.)	1387 ± 13,3
Žito (<i>Secale cereale</i> L.)	1026 ± 16,9
Čirok (<i>Sorghum bicolor</i> L.)	4128 ± 9,3

Množství zjištěných fenolických látek v pšeničné mouce a v celých zrnech ostatních obilovin se významně lišila. Zatímco v pšeničné mouce se jejich obsah pohyboval v rozmezí 501 - 562 µg.g⁻¹, v celých zrnech obilovin byly obsaženy v rozmezí 879 - 418 µg.g⁻¹. Celkově nejvyšší obsah fenolů byl zjištěn v čiroku, naopak z celých zrn vykazoval nejnižší obsah ječmen. Bylo zjištěno, že celkový obsah fenolických sloučenin v ječmenu je vyšší než u pšenice, avšak je stále nižší, než vykazuje pohanka [43].

3.2.3.5 Stanovení polyfenolů v semenech amarantu, quinoi, pohanky a pšenice v závislosti na jejich klíčení a úpravou pečením

Byl zkoumán vliv dvou způsobů zpracování těchto obilnin, klíčení a pečení, na složení polyfenolů v nich a celkové antioxidační vlastnosti. Ke stanovení byly použity semena amarantu (*Amarantus caudatus*) sklizena v Peru, semena quinoi (*Chenopodium quinoa*) pěstována v Bolívii, semena pohanky (*Fagopyrum esculentum* Möench) pěstována v Číně a zrna pšenice (*Triticum aestivum* L.) pěstována v Irsku. Před provedením analýzy byly vzorky skladovány v papírových pytlích v chladu. Máčení a klíčení semen bylo dokončeno pomocí mikro sladovnického stroje. Během máčení byla semena podrobena střídání vlhkých a suchých cyklů po třech hodinách během více než 24 hod a teplota byla udržována na 15 °C. Máčená zrna poté klíčila při 18 °C v případě pohanky a pšenice, kdy doba klíčení pro pohanku činila 96 hod a pro pšenici 110 hod. Amarant a quinoa klíčily již při 10 °C, amarant po 98 hod a quinoa po 82 h. Vzorky byly v průběhu klíčení každých 30 min otáčeny. Velikost klíčků byla přibližně 4 cm u pohanky, 1 cm u pšenice a 0,5 cm u amarantu a quinoi. Naklíčená semena byla následně zmrazena, čím byla vysušena a až do provedení stanovení byla skladována při teplotě -20 °C.

Extrakty vzorku byly připraveny smísením 1,25 g čerstvě mletého vzorku s 25 ml metanolu. Směs byla homogenizována 2 min při 12000 ot.min⁻¹ za použití Ultra-Turrax T-25 homogenizéru, protřepána byla na zařízení V400 Multitube vortex 20 min při 1050 ot.min⁻¹ a nakonec bylo po dobu 10 min odstředováno při 2000 ot.min⁻¹. Konečné extrakty byly získány filtrací 10 ml čiré kapaliny přes 0,22 μm stříkačku membránovými filtry PTFE a před zahájením analýzy byly uloženy při teplotě -20 °C.

Metoda stanovení FC činidlem zde byla upravena. Ke 100 μl metanolového extraktu či standardu bylo přidáno 100 μl metanolu, 100 μl FC činidla a 700 μl uhličitanu sodného, směs byla přesunuta do 1,5ml zkumavky mikro odstředivky. Po promíchání byly zkumavky uchovány ve tmě po dobu 20 min při pokojové teplotě a následovalo odstředování všech vzorků při 13000 ot.min⁻¹ 3 min. Měřena byla absorbance čiré kapaliny nad sedimentem po odstředění při vlnové délce 735 nm. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 6 a vyjádřeny v mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g suché váhy.

Tabulka č. 6: Celkový obsah fenolických látek semen, klíčků a chlebů jednotlivých obilovin [44]

Obilovina	Semena (mg GA.100 g ⁻¹ suché váhy)	Klíčky (mg GA.100 g ⁻¹ suché váhy)	Chléb (mg GA.100 g ⁻¹ suché váhy)
Amarant	21,2 ± 2,3	82,2 ± 4,6	13,8 ± 0,0
Quinoa	71,7 ± 5,5	147 ± 3,7	30,7 ± 0,3
Pohanka	323 ± 14,1	670 ± 12,3	64,5 ± 3,1
Pšenice	53,1 ± 2,8	110 ± 7,9	29,1 ± 0,6

Pozn: GA – Gallic acid, kyselina gallová

Chleby obsahující pseudoobiloviny amarant, quinou a pohanku byly vždy složeny z 50 % z mouky dané suroviny a těsto neobsahovalo lepek. Pšeničný chléb zde byl použit pro kontrolu a není uvedeno procentuální složení pšeničné mouky. Po upečení byly chleby zchlazeny na pokojovou teplotu, nakrájeny a sušeny mrazem.

Celkový obsah fenolů metanolových extraktů semen jednotlivých obilovin se významně lišily. Z pseudoobilovin byl nejvyšší obsah zjištěn u pohanky, poté v quinoi a amarantu. Pšenice obsahovala více fenolických sloučenin než amarant, avšak méně než pohanka. Po klíčení těchto byly naměřeny přibližně dvojnásobné hodnoty u quinoi, pohanky a pšenice a přibližně čtyřnásobné v případě amarantu. Co se týče stanovení obsahu fenolů v chlebech, nejvyšší množství bylo opět nalezeno v pohance. Pšeničný chléb vykazoval více fenolických sloučenin než chléb obsahující amarant, avšak méně než další dva chleby neobsahující lepek. Závěrem můžeme říci, že klíčení působí velice příznivě na celkový obsah fenolů ve stanovených obilovinách. Přestože pečením dochází k poklesu hodnot, chleby obsahující pohankovou mouku či quinou stále obsahují významná množství fenolických sloučenin, což je důležité pro zlepšení nutričních vlastností potravin, jež neobsahují lepek, konkrétně chlebů [44].

3.2.3.6 Stanovení obsahu fenolických látek u ovesných snídaňových cereálií

Vzhledem k šíření informací o zdravotních přínosech konzumace ovsu dochází v posledních letech ke zvýšení spotřeby ovesných snídaňových cereálií. Studie porovnává obsah fenolických sloučenin ve třiceti ovesných cereálních směsích komerčně dostupných ve Velké Británii.

Vzorek k analýze fenolických sloučenin byl připraven navážením 36 g suchého vzorku a následným rozmělněním paličkou v hmoždíři a zvážen. Poté bylo extrahováno rozpouštědlem, použit byl 70% aceton, po dobu 2 hod při pokojové teplotě ve třepací vodní lázni. Dále bylo odstředováno po dobu 10 min. Ke stanovení byl použit supernatant. Ten byl přidán k 1,5 ml FC činidla, jež byl objemově zředěn s vodou v poměru 1:10. Směs byla ponechána 5 min stát při pokojové teplotě, poté k ní byl přidán 1,5 ml roztoku uhličitanu sodného o koncentraci 60 g.l^{-1} . Opět byla směs inkubována při pokojové teplotě a po 90 min byla měřena její absorbance při 725 nm proti 70% acetonu. U každého druhu cereální směsi bylo stanovení provedeno třikrát. Výsledky jsou uvedeny jako průměr tří stanovení \pm standardní chyba průměru a jsou vyjádřeny jako μg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku. Výběr vzorků, u nichž bylo stanovení provedeno uvádí tabulka č. 7. Bylo zjištěno, že všechny analyzované snídaňové směsi byly významným zdrojem polyfenolů. Množství polyfenolů obsažené ve 40g porci je srovnatelné s množstvím obsaženým v ovoci a zelenině. Ze stanovení tedy vyplývá, že jedna průměrná porce ovesných snídaňových cereálií významně přispívá k celkovému obsahu polyfenolů ve stravě a mnohem více může přispívat k celkové antioxidační aktivitě ve stravě v porovnání s čaji či ovocnými šťávami. Studií nebyl prokázán vztah mezi obsahem vlákniny a polyfenolů, což ale může být způsobeno tím, že ve výsledcích byly prezentovány pouze volné rozpustné fenolické sloučeniny a vázané sloučeniny nebyly v extraktu přítomny [45].

Tabulka č. 7: Obsah vlákniny a celkových fenolů v ovesných cereálních směsích [45]

Druh cereálie	Obsah fenolických látek ($\mu\text{g GA}\cdot\text{g}^{-1}$)
Asda Ready Oats	1514,3 \pm 9,4
Asda Scottish Porridge Oats	1511,7 \pm 16,8
Morrison's Organic Oats	1575,4 \pm 16,9
Morrison's Instant Hot Oats	1591,8 \pm 14,6
Waitrose Organic Jumbo Oats	1710,9 \pm 26,0
Essential Waitrose Porridge Oats	1637,3 \pm 24,2
Marks & Spencer Scottish Oats Porridge	1591,8 \pm 25,1
Marks & Spencer Quick Oat Porridge	1524,7 \pm 8,6
Tesco Value Porridge Oats	1596,2 \pm 18,7
Tesco Organic Porridge Oats	1506,1 \pm 8,1
Tesco Instant Hot Oats	1599,6 \pm 23,9
Sainsbury's SO Organic Porridge Oats	1600,1 \pm 16,7
Sainsbury's Original Easy Porridge Oats	1699,2 \pm 28,2
Flahavan's	1613,5 \pm 22,5
Flahavan's Quick Oats	1628,2 \pm 20,8
Quaker Oats Original	1674,1 \pm 14,8
Quaker Oats Golden Syrup	1853,3 \pm 35,0
The Oatmeal of Alford	1813,9 \pm 27,8
White's Only Oats	1548,1 \pm 23,8
Scott's Porage Oats	1524,7 \pm 25,2
Mornflake Organic Oats	1677,5 \pm 13,2
Ready Brek Porridge Oats	1553,7 \pm 10,5
Oatibix	1804,0 \pm 32,6

Pozn: GA – Gallic acid, kyselina gallová

ZÁVĚR

Cílem práce bylo přiblížení metody stanovení fenolických sloučenin v obilovinách pomocí Folin-Ciocalteuova činidla, jež se v poslední době pro stanovení těchto sloučenin využívá stále více. Metoda se však většinou používá s určitými modifikacemi, jako použití jiných extrakčních rozpouštědel o rozdílné koncentraci, či např. měření absorbance při jiné vlnové délce. Proto není zcela vhodné porovnávání výsledků z jednotlivých studií mezi sebou. Obecně však můžeme říci, že vliv na získané hodnoty má také teplota měření. Bylo zjištěno, že při zvýšení teploty bylo naměřeno vyšší množství fenolických látek a i vyšší antioxidační aktivita. Provedením stanovení u pšeničné mouky a celých zrn pšenice bylo potvrzeno, že v nemletých zrnech je skutečně více fenolických sloučenin. Dále bylo zjištěno, že na množství těchto látek v obilovinách má vliv i to, zda se stanovení provádí u semen, klíčků či chlebů složených z daných druhů obilovin. Naklíčením semen totiž byly naměřeny několikrát vyšší hodnoty, které byly např. u amarantu až čtyřnásobné oproti obsahu v semenech. V chlebech byla množství podstatně nižší, nicméně v případě pohanky stále významná pro výživu. Stanovením u komerčně vyráběných snídaňových směsí bylo prokázáno, že jedna porce obsahující 40 g směsi je minimálně srovnatelná s množstvím antioxidantů obsažených v ovoci a zelenině a může i převyšovat jejich množství v čaji či ovocných šťávách, jež jsou pokládány za nejvýznamnější zdroje fenolických látek.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*, Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007, ISBN 978-80-7271-184-0
- [2] SVAČINA, Š. a kol. *Klinická dietologie*, 1. Vydání, Praha: Grada Publishing, a. s., 2008, s. 343. ISBN 978-80-247-2256-6
- [3] MANDOVEC, A. *Kardiovaskulární choroby u žen*, 1. vydání, Praha: Grada Publishing, a. s., 2008, s. 21. ISBN 978-80-247-2807-0
- [4] PŘÍHODA, J. SKŘIVAN, P. HRUŠKOVÁ, M. *Cereální, chemie a technologie I: Cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*, 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004, 202 s. ISBN 80-7080-530-7
- [5] MORRIS, P. C., BRYCE, J. H. *Cereal Biotechnology*, Woodhead Publishing, 2002, 252 s. ISBN 978-1-59124-026-6. Dostupné z WWW: <http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?SpaceID=10104&BookID=156>
- [6] GARROW, J. S., JAMES, W. P. T., RALPH, A. *Human nutrition and dietetics*. 10. vydání. London: Churchill Livingstone, 2000, 900 s. ISBN 0-4430-5627-7
- [7] MOUREK, J. *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing a. s., 2005, 204 s. ISBN 80-247-1190-7
- [8] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*, 1. vydání, Tábor: OSSIS, 1999, 328 s. ISBN 80-902391-3-7
- [9] *Situační a výhledová zpráva: obiloviny*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 2010, 92 s. ISBN 978-80-7084-907-1
- [10] VASIL, I. K. *Molecular improvement of cereal crops: Advances in cellular and molecular biology of plants – vol. 5*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999, 255 s. ISBN 0-7923-5471-0
- [11] KENT, N. L., EVERS, A. D. *Technology of Cereals (4th Edition)*, Woodhead Publishing, 1994, 352 s. ISBN 978-1-59124-108-9. Dostupné z WWW: http://knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=304&VerticalID=0
- [12] QAZI, S. A., QAZI, N. S. *Geography of the World*, New Delhi: A P H Publishing Corporation, 2007, 410 s. ISBN 81-313-0192-3

- [13] Dostupné z WWW: <http://www.vurv.cz/index.php?key=article&id=746>
- [14] BAIK, B.-K., ULLRICH, S. E. Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*, 48, 2008, s. 233-242
- [15] Dostupné z WWW: <http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id89311/>
- [16] Dostupné z WWW: <http://botanika.bf.jcu.cz/materials/fotogalerie-nahledy.php?family=Poaceae&genus=Zea&name=Liliopsida>
- [17] Dostupné z WWW:
<http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id64466/?taxonid=14871&type=1>
- [18] Dostupné z WWW:
http://www.agroatlas.ru/en/content/cultural/Secale_cereale_K/
- [19] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. 1. Vydání. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902391-5-3
- [20] SCALBERT, A., JOHNSON, I. T., SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 2005, s. 2155 – 2175
- [21] SUKOVÁ, I. *Antioxidační aktivita potravin* [online]. [cit. 2011-03-20] Dostupný z WWW:
<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=161&ch=13&typ=1&val=31119>
- [22] RANTAM, V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. K., RAVI KUMAR, M. N. V. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 2006, s. 189 - 207
- [23] MARTÍNKOVÁ, J. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing a.s., 2007, 380 s. ISBN 978-80-247-1356-4
- [24] BÄRLOCHER, F., GRAÇA, M., GESSNER, M. *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*. Dordrecht: Springer, 2007, 330 s. ISBN 978-1-4020-3466-4
- [25] BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 2006, s. 191 - 203
- [26] WOJDYŁO, A., OSZMIAŃSKI, J., CZEMERYŚ, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 2007, s. 940 - 949

- [27] International Food Information Service: *Dictionary of food science and technology*. 2. vydání. Singapore: IFIS Publishing, 2009, 488 s. ISBN 978-1-61583-120-3
- [28] KOPEC, K. *Zelenina ve výživě člověka*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing a. s., 2010, 168 s. ISBN 978-80-247-2845-2
- [29] DYKES, L., ROONEY, L. W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, 52, 2007, s. 105 – 111
- [30] ARRANZ, S., CALIXTO, F. S. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet, *Journal of Cereal Science*, Vol. 51, Issue 3, May 2010, s. 313 - 318
- [31] PERLÍN, C. *Lignany v potravinách a ve výživě* [online]. [cit. 2011-03-23] Dostupný z WWW:
<http://agronavigator.cz/default.asp?ids=147&ch=13&typ=1&val=42887>
- [32] KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V. Rostlinné fenoly v allelopatii. *Chemické listy*, 104, 1999, s. 243 - 248
- [33] MARCANÍKOVÁ, K., BEŇOVÁ, B. Využití coulometrického detektoru pro analýzu fenolických látek. *Chemické listy*. 104, 2010, s. 27 - 30
- [34] PRYDE, A., GILBERT, M. T. *Applications of high performance liquid chromatography*. Cambridge: Springer, 1979, 255 s. ISBN 0-412-14220-1
- [35] GAŠ, B. *Kapilární elektroforéza*. *Vesmír*. 80, 2001, s. 370 - 373
- [36] HURTADO-FERNANDEZ, E., GÓMEZ-ROMERO, M., CARRASCO-PANCORBO, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 53, 2010, s. 1130 - 1160
- [37] CICCIO, N., LANORTE, M. T., PARAGGIO, M., VIGGIANO, M., LATTANZIO, V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu next term micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal*. 91, 2009, s. 107 - 110
- [38] MIKULAJOVÁ, A., TAKÁCSOVÁ, M., ALEXY, P., BRINDZOVÁ, L. Optimalizácia extrakcie fenolových zložiek z pohánky na základe výsledkov plánovaného experimentu. *Chemické listy*. 101, 2007, s. 563 - 568

- [39] LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ČEPL, J., PIVEC, V., ŠULC, M., DVOŘÁK, P. Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. *Chemické listy*. 100, 2006, s. 522 - 527
- [40] Dostupné z WWW:
<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Datasheet/6/47641dat.Par.0001.File.tmp/47641dat.pdf>
- [41] MAGALHÄES, L. M., SANTOS, F., SEGUNDO, M. A. REIS, S., LIMA, J. L. F. C. Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*. 83, 2010, s. 441 – 447
- [42] HODZIC, Z., PASALIC, H., MEMISEVIC, A., SRABOVIC, M., SALETOVIC, M., POLJAKOVIC, M. The Influence of Total Phenols Content on Antioxidant Capacity in the Whole Grain Extracts. *European Journal of Scientific Research*. 28, 2009, s. 471 – 477
- [43] RAGAEI, S., ABDEL-AAL, E.-S., M., NOAMAN, M. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*. 98, 2006, s. 32 - 38
- [44] ALVAREZ-JUBETE, L., WIJNGAARD, H., ARENDT, E. K., GALLAGHER, E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*. 119, 2010, s. 770 – 778
- [45] RYAN, L., THONDRE, P. S., HENRY, C. J. K. Oat-based breakfast cereals are a rich source of polyphenols and high in antioxidant potential. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. [cit. 2011-05-01] Dostupný z WWW:
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJH-5259C42-B&_user=658430&_coverDate=02%2F12%2F2011&_alid=1739437893&_rdoc=19&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=6879&_sort=r&_st=13&_docanchor=&view=c&_ct=6191&_acct=C000035718&_version=1&_urlVersion=0&_userid=658430&md5=ab289604be80590a7b9b4fa168d7a831&searchtype=a

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP	Adenozintrifosfát
GC	Column Chromatography (kolonová chromatografie)
CE	Capillary Electrophoresis (kapilární elektroforéza)
FAO	Food and Agriculture Organization (Organizace pro výživu a zemědělství)
FC	Folin-Ciocalteuovo
GA	Gallic acid (kyselina gallová)
GC	Gas Chromatography (plynová chromatografie)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
HTZ	Hmotnost tisíce zrn
MS	Mass Spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (nukleární magnetická rezonance)
TLC	Thin Layer Chromatography (chromatografie na tenké vrstvě)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Podélný řez pšeničným zrnem	14
Obrázek č. 3: Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>).....	18
Obrázek č. 4: Kukuřice setá – květenství (<i>Zea mays</i>).....	18
Obrázek č. 5: Oves setý (<i>Avena sativa</i>)	19
Obrázek č. 6: Žito seté (<i>Secale cereale</i> L.)	19

SEZNAM TABULEK

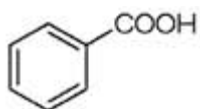
Tabulka č. 1: Velikosti zrn a hmotnosti tisíce zrn (HTZ) jednotlivých obilovin	13
Tabulka č. 2: Základní chemické složení obilovin v %	16
Tabulka č. 3: Třídy fenolických sloučenin obsažených v rostlinách	22
Tabulka č. 4: Množství fenolických sloučenin získané při 20 a 40 °C	30
Tabulka č. 5: Zjištěné hodnoty fenolických látek v některých obilovinách.....	31
Tabulka č. 6: Celkový obsah fenolických látek semen, klíčků a chlebů jednotlivých obilovin.....	33
Tabulka č. 7: Obsah vlákniny a celkových fenolů v ovesných cereálních směsích	35

SEZNAM PŘÍLOH

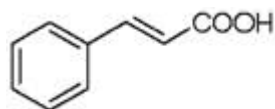
PŘÍLOHA P I: OBECNÉ VZORCE FENOLICKÝCH SLOUČENIN OBSAŽENÝCH V OBILOVINÁCH

PŘÍLOHA P I: OBECNÉ VZORCE FENOLICKÝCH SLOUČENIN OBSAŽENÝCH V OBILOVINÁCH

Fenolové kyseliny

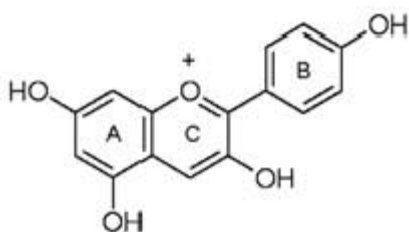


Kyselina benzoová

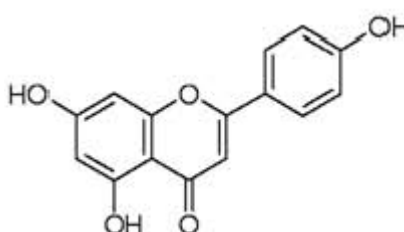


Kyselina skořicová

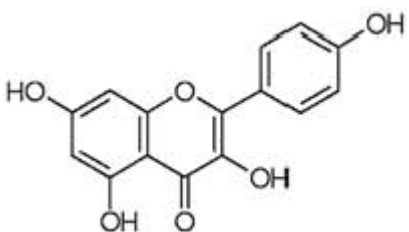
Flavonoidy



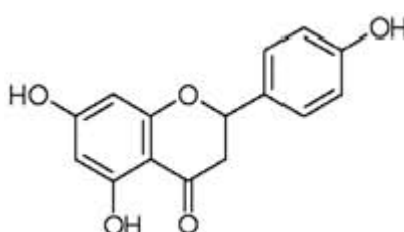
Antokyanidin



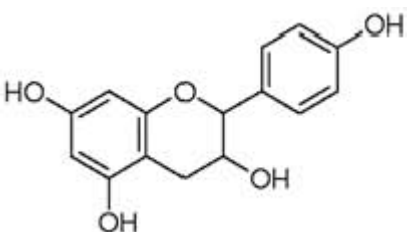
Flavon



Flavonol

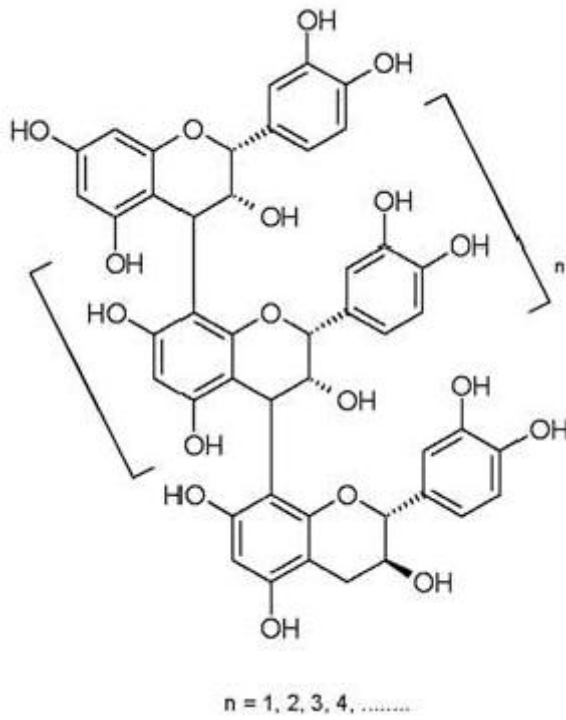


Flavanon

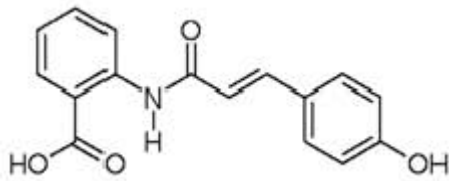


Flavanol

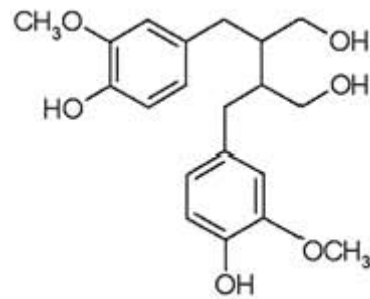
Kondenzované taniny



Avenantramidy



Lignany



Alkylresorcinoly

