

Stanovení polyfenolů v netradičních obilovinách Folin-Ciocalteuovou metodou

Bc. Jana Grygarčíková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jana GRYGARČÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T11103**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení polyfenolů v netradičních obilovinách
Folin-Ciocalteuovou metodou**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popsat chemické složení obilovin s důrazem na polyfenolické látky.
2. Princip Folin-Ciocalteuho spektrofotometrické metody pro stanovení polyfenolů. Stručně zmínit obecný princip spektrofotometrie.

II. Praktická část

1. Využití a navržení vhodné extrakční metody za použití metanolu pro následné stanovení polyfenolů F-C metodou pro netradiční obiloviny.
 2. Vypracování a navržení metodiky pro spektrofotometrické stanovení polyfenolů F-C metodou. Aplikovat tuto metodiku na předložené vzorky.
 3. Diskuze a závěr práce.
-

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] NACZK, Marian a Fereidoon SHAHIDI. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2006, 5 (41). ISSN 0731-7085. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708506003062>.

[2] SERNA-SALDIVAR, Sergio O. *Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual*. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 978-1-4398-5565-2.

[3] SHEN, Yun et. al, Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science* [online]. 2009, 1 (49). ISSN 0733-5210.

[4] KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich Röhm. *Barevný atlas biochemie - Překlad 4. vydání*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: GRMČARČIKOVÁ JANA

Obor: THVP

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 obhajoby¹⁾;
- 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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit 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 28. 4. 2013

Grmčarčíková

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 nevydávlečně 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 užit 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 jím 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 přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V teoretické části diplomové práce je popsáno chemické složení obilovin včetně polyfenolických sloučenin, které jsou významnými antioxidanty. Stručně je popsána metoda absorpční spektrofotometrie. Praktická část je zaměřena na stanovení koncentrace polyfenolů Folin-Ciocalteueho metodou. Stanovení bylo provedeno u vzorků netradičních rýží a pšenic, které byly extrahovány více způsoby, a to rozpouštědly na bázi metanolu. Výsledky jsou vyjádřeny v ekvivalentních množstvích kyseliny gallové.

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

ABSTRACT

The theoretical part of the thesis presents the chemical composition of cereals including polyphenolic compounds, which are important antioxidants. The method of absorption spectrophotometry is described briefly. The practical part is focused on determining the concentration of polyphenols by Folin-Ciocalteu's method. The determination was performed on samples of non-traditional rice and wheat, which have been extracted more ways. For these purposes were used solvents based on methanol. The results are presented as gallic acid equivalents.

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

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce, Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D., za odborné vedení, ochotu, cenné rady a trpělivost, které mi během zpracování práce poskytla. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za psychickou podporu při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové 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 MORFOLOGICKÁ SKLADBA OBILNÉHO ZRNA.....	12
1.2 PŠENICE.....	13
1.2.1 Pšenice špalda	14
1.2.2 Grünkern	15
1.2.3 Kamut	15
1.3 RÝŽE	16
1.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILNÉHO ZRNA	17
1.4.1 Bílkoviny	17
1.4.2 Sacharidy	19
1.4.3 Lipidy	20
1.4.4 Vitaminy obilovin	21
1.4.5 Minerální látky v obilovinách	22
1.4.6 Ostatní složky obilovin.....	22
2 ANTIOXIDAČNÍ ÚČINEK OBILOVIN	24
2.1 OXIDAČNÍ STRES	24
2.2 POLYFENOLICKÉ LÁTKY	25
2.2.1 Fenolové kyseliny	26
2.2.2 Flavonoidy.....	26
2.2.3 Kondenzované třísloviny.....	27
2.2.4 Ostatní polyfenoly	28
2.2.4.1 Alkylrezorcinyly	28
2.2.4.2 Avenantramidy.....	28
2.2.4.3 Lignany	28
3 STANOVENÍ POLYFENOLICKÝCH SLOUČENIN FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU	31
3.1 FOLIN-CIOCALTEUOVO ČINIDLO.....	31
4 ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE	33
4.1.1 Lambert-Beerův zákon	33
4.1.2 Přístroje používané pro spektrofotometrické měření	34
4.1.2.1 Spektrofotometr Lambda 25	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	36
5 CÍL PRÁCE	37
6 METODIKA PRÁCE	38
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY	38
6.1.1 Chemikálie	38
6.1.2 Použité přístroje a pomůcky.....	38
6.2 ANALYZOVANÉ VZORKY	39
6.2.1 Rýže černá natural.....	39
6.2.2 Khaw Dam černá rýže.....	39
6.2.3 Rýže červená natural	40

6.2.4	Rýže červená	41
6.2.5	Jasmínová rýže z Thajska červená	42
6.2.6	Jasmínová rýže z Thajska hnědá	42
6.2.7	Lila Reis	43
6.2.8	Rýže basmati natural	44
6.2.9	Rýže dlouhozrná.....	45
6.2.10	Bio mléčná rýže.....	46
6.2.11	Bio červená pšenice.....	46
6.2.12	Pšenice ozimá bio.....	47
6.2.13	Pšenice špalda	48
6.2.14	Grünkern	49
6.2.15	Kamut zrno bio.....	49
6.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	50
6.4	EXTRAKCE VZORKŮ.....	50
6.4.1	Extrakce metanolem.....	51
6.4.2	Extrakce směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové	51
6.5	KALIBRAČNÍ PŘÍMKA PRO NÁSLEDNÉ STANOVENÍ POLYFENOLŮ.....	52
6.6	POSTUP SPEKTROFOTOMETRICKÉHO STANOVENÍ POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU U VZORKŮ NETRADIČNÍCH OBILOVIN	53
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	55
7.1	VÝSLEDKY EXTRAKCE.....	55
7.1.1	Extrakce metanolem.....	55
7.1.2	Extrakce směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové	55
7.2	VÝSLEDKY KALIBRAČNÍ PŘÍMKY	56
7.3	VÝSLEDKY SPEKTROFOTOMETRICKÉHO STANOVENÍ POLYFENOLŮ.....	57
7.3.1	Extrakce 24 hod metanolem.....	58
7.3.2	Extrakce 1 h metanolem v ultrazvuku.....	61
7.3.3	Extrakce 24 hod směsí metanol:voda:kyselina chlorovodíková (80:18:2).....	64
7.3.4	Extrakce 1 hod směsí metanol:voda:kyselina chlorovodíková (80:18:2) v ultrazvuku	67
	ZÁVĚR	70
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	71
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	78
	SEZNAM OBRÁZKŮ	79
	SEZNAM TABULEK.....	81

ÚVOD

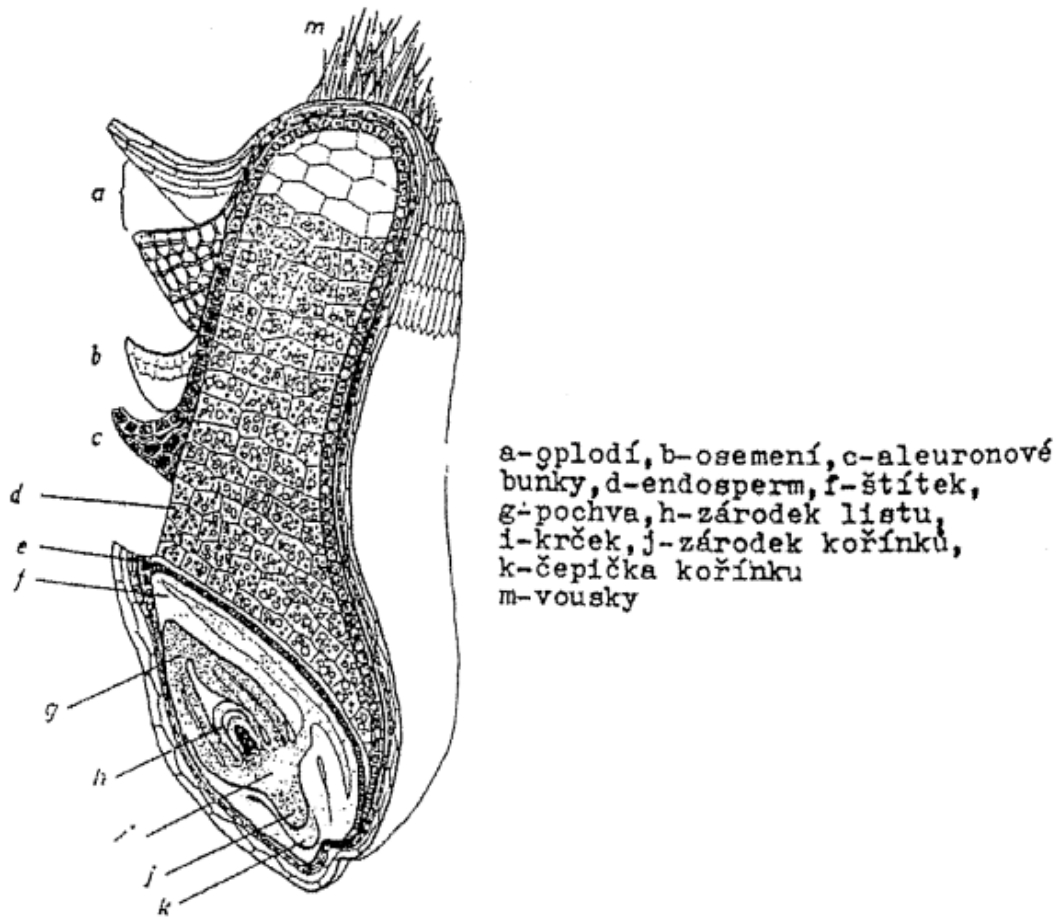
Strava založená především na obilovinách je pro lidskou populaci základem po tisíciletí. Zrna obilovin obsahují nejen důležité makronutrienty (sacharidy, bílkoviny, tuky), ale jsou také zdrojem minerálů, vitaminů a dalších nezbytných živin. Konzumace obilovin má kromě prostého poskytování potřebných složek potravy potenciál i pro zlepšování úrovně lidského zdraví. Může tak celkem výrazně přispět ke snížení rizika onemocnění, jejichž souvislost se stravováním je podstatná. Nemocnost a úmrtnost na neinfekční onemocnění jsou významnými problémy v zemích s bohatou a rozvinutou ekonomikou. Typické jsou především kardiovaskulární choroby, cukrovka II. typu a rakovina tlustého střeva, přičemž životní styl a strava jsou modifikovatelné rizikové faktory pro vznik těchto onemocnění. K vyššímu zájmu populace o obiloviny, jako potraviny preventivně působící proti různým onemocněním, přispěly studie porovnávající vliv konzumace celozrnných produktů s výrobky z rafinovaných obilovin. Zatímco u celozrnných produktů je většina či všechno oplodí, tzn. osemení, aleuronová vrstva a klíček zachováno, u rafinovaných produktů jsou tyto složky odstraněny vymíláním či jiným zpracováním. Přestože při rafinaci dochází ke ztrátě zdraví prospěšných složek, je nutné mít na paměti, že některé zpracování je nezbytné pro chuťové vlastnosti výrobku, bezpečnost, ale i biologickou dostupnost živin. Aplikací pokročilých technologií je však možné zvýšit nutriční hodnotu obilovin přidáním vedlejších produktů a jejich zdravotní potenciál tak maximalizovat. Vyšší příjem celozrnných potravin je mimo jiné spojen s nižším výskytem obezity, což je dáno nízkým glykemickým indexem a nižší stravitelností díky obsahu rezistentního škrobu a vlákniny [1]. Přesto však fytochemikálie a antioxidanty obsažené v obilných zrnech nezískaly tolik pozornosti, jako ty v ovoci a zelenině. Získávání fenolů z obilných zrn je nezanedbatelné, zrna jsou snadno dostupná a skladovatelná [2]. Kapitoly 1.2 a 1.3 obsahují základní informace o pšenici a rýži, u jejichž různých druhů je stanoven obsah polyfenolických látek v praktické části.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBILOVINY

1.1 Morfologická skladba obilného zrna

Zastoupení složek zrna je pro jednotlivé druhy obilovin různé, závisí na vnějších i vnitřních faktorech, kterými jsou odrůda, půdní a klimatické podmínky, agrotechnika a hnojení a další [3]. Oplodí, tvořící nejvrchnější vrstvy zrna, obsahuje především celulózu. Jeho funkcí je ochrana před mechanickým poškozením, působením vody a škodlivých látek [4]. Tato vrstva je tedy tvořena nerozpustnými a obtížně bobtnajícími materiály. Následující vrstvou je osemení, v němž jsou obsažena barviva, která dodávají zrnům vnější barevný vzhled. Zmíněné vrstvy obsahují polysacharidy, které jsou schopny vázat vodu a bobtnat, čímž udržují rovnováhu vlhkosti zrna a během mletí přecházejí do otrub [5]. Následuje vrstva aleuronových buněk, která odděluje endosperm od obalových vrstev zrna. Tyto aleuronové buňky obsahují bílkoviny, tuky, vitaminy a minerální látky. Největší podíl zrna zaujímá endosperm, a to až 86 % hmotnosti, ve finálních produktech (mouky a škroby) proto tvoří jejich podstatnou část. Jsou v něm obsaženy bílkoviny a škrob, při výživě či krmení je endosperm hlavním zdrojem energie a bílkovin. Klíček je nejmenší částí zrna, např. u pšenice zaujímá pouze 3 % hmotnosti. Od endospermu je oddělen štítkem, ten obsahuje vysoké množství bílkovin, neboť je zárodkem nové rostliny. Klíček obsahuje jednoduché sacharidy, bílkoviny či vitaminy, ale především tuk. Klíčky musí být před mletím odstraněny, aby bylo zabráněno hydrolýze tuku a následnému vzniku žluklé chuti [3].



Obrázek 1 Morfologická skladba obilného zrna [3]

1.2 Pšenice

Pšenice je jednou z nejdůležitějších zemědělských plodin s roční sklizní téměř 598 milionů tun v roce 2006. Lidé přímo spotřebovávají více než 60 % této produkce. Další část je využita ke krmení zvířat, která následně poskytují mléko či maso. Široké využití pšenice jistě přispívá k hojnosti pěstování. Využívá se pro výrobu potravinářských produktů, jako např. chleba, koláčů, piva, ale i vedlejších produktů, kterými jsou škrob a lepek. [6]. V ČR se stala pšenice dominantní již po druhé světové válce. Taxonomicky ji řadíme do rodu *Triticum* [5], čeledi *Poaceae* (lipnicovité). Rostliny tohoto rodu jsou jednoleté s jarní či zimní formou, jejichž klásky mohou být chlupaté či hladké, lysé. Stéblo je obvykle duté a dosahuje výšky až 1,6 m [7]. Nejvýznamnější je pšenice setá (*Triticum aestivum*) a pšenice tvrdá (*Triticum durum*), jež se využívá výhradně k výrobě těstovin. Pšenice obsahuje průměrně 12,6 % proteinů, 2,7 % tuku a 72,4 % sacharidů. Minerální látky obsahuje v rozmezí 2 – 3 % [5]. *Triticum aestivum* je nejvíce široce kultivovaná pšenice,

existuje řada poddruhů, které se liší základními morfologickými znaky, jež jsou dědičné. Jedním z těchto poddruhů je *Triticum aestivum* ssp. *vulgare*, označovaná jako pšenice obecná či *Triticum aestivum* ssp. *spelta*, pšenice špalda [8].



Obrázek 2 Pšenice obecná (*Triticum aestivum*) [9]

1.2.1 Pšenice špalda

Pšenice špalda (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) byla do počátku 20. století v mnoha oblastech převládající obilovinou pro výrobu chleba, např. v jihozápadním Německu, v části Švýcarska a Rakouska. Poté byla nahrazena pšenicí obecnou. Příčinou byly jednak nižší výnos špaldy, a také to že dlouhá stébla mají tendenci k polehání, zvláště pokud je v půdě vysoká koncentrace dusíkatých hnojiv. V posledních desetiletích nachází však stále větší uplatnění, je vnímána jako zdravější, či méně přešlechtěná v porovnání s moderní pšenicí [10]. Špalda je méně náročná na půdní podmínky, dobře přizpůsobitelná chladným a vlhkým klimatickým podmínkám, nese proto označení „robustní“ obilovina. V závislosti na genotypu obsahuje špalda více bílkovin, rozpustné vlákniny a minerálů ve srovnání s pšenicí obecnou [11]. Lepek špaldy bývá více tažný a méně elastický a tvoří tedy typická slabší těsta [10].



Obrázek 3 Pšenice špalda (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) [12]

1.2.2 Grünkern

Tradiční mlýnské produkty se vyrábějí ze zralých obilných zrn, vedle toho se však stále více uplatňují zrna nezralá, sklizená v mléčné zralosti. Příkladem je grünkern, označovaný také jako zelené zrno. Získává se z pšenice špaldy [13], jejíž zrna se sklízají, zatímco jsou ještě zelená a následně jsou sušena kouřem [14].

1.2.3 Kamut

Kamut pochází z divoce rostoucí pšenice (*Triticum turgidum* ssp. *polonicum*) a patří k nejstarším druhům obilí. Zrno kamutu má dvojnásobnou velikost ve srovnání se zrnem pšenice obecné. Obsahuje výrazně více živin, až o 40 % více bílkovin, více nenasycených mastných kyselin a minerálních látek. Vyznačuje se zvláště vysokým obsahem stopového prvku selenu, dále ve srovnání s ostatními obilovinami obsahuje více hořčíku a zinku. Kamut je typický lahodnou ořechovou chutí, mimo jiné má preventivní účinek proti alergiím [15].



Obrázek 4 Kamut (*Triticum turgidum* ssp. *polonicum*) [16]

1.3 Rýže

Původ rýže sahá do tropické a subtropické jihovýchodní Asie, jedná se o nejrozšířenější obilovinu, jež je pěstovaná pro přímou konzumaci [5]. Široce je tato plodina kultivována v Řecku [17]. Pravděpodobně se rýže vyvinula z divokého druhu *Oryza rufipogon* a některé červené rýže pěstované v USA jsou řazeny do stejné genotypové skupiny jako jejich předek [18]. Převážná většina pěstovaných variet rýže však spadá do rodu *Oryza sativa*. Pro 60 % světové populace zaujímá dodnes postavení základní potraviny. Je vhodná také pro různé druhy diet, kromě toho že neobsahuje cholesterol, má jen stopové množství tuku a neobsahuje lepek ani sodík. Některé druhy, jako např. hnědá rýže, navíc obsahují vysoké množství vlákniny [5]. Rýže obsahuje 7,4 % proteinů, 2,4 % lipidů a 1,2 % minerálních látek [19]. Na trhu nalezneme vedle klasické bílé rýže pololoupanou rýži, instantní, rýži ve varných sáčcích, hnědou rýži natural, parboiled, basmati, jasmínovou, divokou rýži a mnoho dalších druhů. Bílá rýže je zbavena všech obalů, oproti tomu hnědá má zachovány poslední obalovou vrstvu a s ní i vitaminy a minerální látky. Pro výrobu rýže parboiled se využívá hydrotermické úpravy zrna. Neloupaná namáčená rýže je vystavena působení vysokotlaké páry, přičemž vitaminy a minerální látky z povrchových vrstev jsou „vtlačeny“ dovnitř zrna a zůstávají zachovány i po dalším opracování, které zahrnuje loupání a broušení. Díky patentovanému postupu výroby parboiled rýže může obsahovat až dvojnásobek vitaminů skupiny B při srovnání s běžnou loupanou rýží. Basmati rýže je typická jemnou chutí a vůní s oříškovým nádechem. Pod označením divoká rýže nenalezneme rýži v pravém slova smyslu, jedná se totiž o semena divoké

vodní trávy rostoucí v USA u velkých jezer. Rýže obsahuje vysoké množství vlákniny a vitaminů skupiny B [5]. Barevné druhy rýží obecně jsou bohatými zdroji antioxidantů [20]. Červená rýže je jedním z nejdůležitějších „plevelů“ všude tam, kde je pěstována rýže. Způsobuje ztráty ve výnosech [17], což může být v závažných případech až o 80 % [18] a snížení obchodní kvality zrn pěstované rýže [17]. Nicméně v Japonsku se stala funkční potravinou díky vysokému obsahu polyfenolů, konkrétně antokyanů. Černá rýže obsahuje také vyšší obsah bílkovin, vitaminů a minerálních látek v závislosti na kultivaru a místě pěstování. Hlavní antokyaniny černé rýže peonidin, peonidin-3-glukosid a cyanidin-3-glukosid vykazují inhibiční účinek na buněčné invaze různých nádorových buněk [20].



Obrázek 5 Rýže setá (*Oryza sativa*) [21]

1.4 Chemické složení obilného zrna

Obsažené složky jsou v jednotlivých částech zrna zastoupeny v rozdílných množstvích. Porovnáním různých literárních zdrojů je také patrné, že zjištěné hodnoty mohou být odlišné. Údaje jsou vždy vztaheny na celá, neoloupaná a neobroušená zrna. Významně je složení zrna ovlivněno odrůdou a pěstebními podmínkami.

1.4.1 Bílkoviny

Molekuly bílkovin tvoří různě dlouhé řetězce aminokyselin navzájem spojených peptidovou vazbou. Je-li v řetězci zapojeno do 100 aminokyselin, označujeme tyto sloučeniny jako peptidy, nad 100 aminokyselin se jedná o bílkoviny (proteiny). Dle chemického složení rozlišujeme jednoduché bílkoviny a komplexní, což jsou např.

lipoproteiny či glykoproteiny. Nejvíce bílkovin v sušině obsahuje žito, až kolem 13 %, naopak nejméně rýže, a to přibližně 9 %. Co se týče zastoupení aminokyselin, obecně obiloviny obsahují nízký obsah lyzinu a nejvíce jsou zastoupeny glutamin a kyselina glutamová [22]. Vzhledem k nízkému obsahu lyzinu, jako esenciální aminokyseliny nutné pro lidskou výživu, označujeme bílkoviny obilovin jako neplnohodnotné.

Pšenice obsahuje průměrně kolem 12 % bílkovin [5], které dělíme na základě rozpustnosti na 4 skupiny: bílkoviny rozpustné ve vodě jsou albuminy, rozpustné v roztocích solí globuliny, prolaminy (gliadin) jsou rozpustné v 70% etanolu a gluteliny (glutenin) jsou částečně rozpustné ve zředěných roztocích kyselin a zásad [22]. Po přidání vody dochází k tvorbě pevného koloidního komplexu, jež se označuje jako lepek. Díky tomuto pšenice získává nadřazenost nad ostatními obilovinami ve výrobě kynutých výrobků. Za vznik lepku jsou zodpovědné bílkoviny gliadin a glutenin [23]. Proteiny lepku obsahují vysoké množství aminokyseliny glutaminu a naopak nízké množství lyzinu, metioninu a tryptofanu, které řadíme mezi esenciální. Obsah bílkovin v rýži je nižší v porovnání s pšenicí, pohybuje se v rozmezí 6 – 9 %. Nutriční hodnota rýžových bílkovin je však vyšší, a to díky relativně vysokému obsahu lyzinu. U pšenice byl hlavním zastoupeným proteinem gliadin [24], kdežto v rýži je obsažen především zásobní protein glutelin, nazývaný oryzein [5], který zaujímá až 80 % bílkovin rýže. Pokud však porovnáme proteinové složení celého zrna s rýžovými otrubami, zjistíme, že zde jsou hlavními přítomnými proteiny albumin a globulin [24].

Tabulka 1 Množství esenciálních aminokyselin obsažená v pšenici a rýži
v g.100 g⁻¹ bílkovin [25]

Aminokyselina	Pšenice		Rýže
	Zrno pšenice	Bílá pšeničná mouka	Mletá rýže
Histidin	2,3	2,2	2,4
Izoleucin	3,7	3,6	3,8
Leucin	6,8	6,7	8,2
Lyzin	2,8	2,2	3,7
Cystein	2,3	2,5	1,6
Metionin	1,2	1,3	2,1
Fenylalanin	4,7	4,8	4,8
Tyrozín	1,7	1,5	2,5
Treonin	2,9	2,6	3,4
Tryptofan	1,1	1,1	1,3
Valin	4,4	4,1	5,8

1.4.2 Sacharidy

Konzumace obilovin se významně podílí na pozitivním zdravotním přínosu i z hlediska sacharidového složení [1]. Obilné zrno obsahuje jak jednoduché cukry, tak vysokomolekulární polysacharidy [22]. Celkový obsah sacharidů ve sklizených zrnech činí průměrně u pšenice 72,4 % a u hnědé rýže jsou sacharidy zastoupeny v množství 77,4 % [5]. Monosacharidy, jako základní stavební jednotky oligo- a polysacharidů, se vyskytují spíše v nepatrném množství, hlavně v klíčku. Je zde obsažena hlavně glukóza, fruktóza, méně pak arabinóza, xylóza, ribóza, galaktóza a ve stopových množstvích manóza. Z oligosacharidů je přítomna maltóza, izomaltóza či sacharóza [22]. Oligosacharidy působí příznivě tím, že fungují jako prebiotika a zvyšují počet prospěšných bakterií v tlustém střevě [1]. Polysacharidy přítomné v obilovinách dle funkce dělíme na zásobní a stavební [22]. Škrob je velmi důležitý zásobní polysacharid, přestože byl donedávna považován spíše pouze za zdroj energie [26]. Nalezneme jej v endospermu ve formě škrobových zrn,

v množství přibližně 60 – 75 % sušiny [22]. Škrob, který není stráven v tenkém střevě, je označován jako rezistentní škrob a v lidském organismu plní funkci vlákniny. Představiteli stavebních sacharidů jsou celulóza, hemicelulózy a další, tyto patří také do skupiny označované jako nerozpustné, neškrobové polysacharidy. Jsou hlavní složkou vlákniny a mají projímavý účinek [1]. Stavební sacharidy jsou doprovázeny ligninem, což je přírodní polymer, který jako součást buněčné stěny dodává tuhost, podílí se na transportu vody a živin a chrání před mikroorganismy. Skládá se z fenylypropanových jednotek, jejichž prekurzory jsou tři aromatické alkoholy a to *p*-kumaryl, koniferyl a sinapylalkoholy [27].

Rozpustné neškrobové polysacharidy, např. β -glukany [1], obsažené ve větší míře v ovsu a ječmeni [22], snižují hladinu cholesterolu a snižují tak riziko srdečních chorob [1].

Pšenice obsahuje škrob v rozmezí 53 – 74 %, který je složen přibližně z 25 % amylozy a 75 % amylopektinu. Amylóza je rozpustná za studena, amylopektin pouze bobtná. Dále jsou zde v množství 1 – 3 % obsaženy pentózy, což jsou sloučeniny, které se skládají především z pentóz, hlavně z arabinózy a xylózy. Jsou schopné na sebe vázat několikanásobné množství vody a jejich přítomnost má význam při tvorbě pšeničného těsta. Bohatá na jejich obsah je žitná mouka. Další složkou je celulóza, která je v pšeničné mouce obsažena do 0,5 % a volné cukry, mezi něž bývají řazeny mono- a disacharidy. Pšeničné zrno obsahuje až 2,6 % volných cukrů, nejvíce sacharózu, dále pak maltózu, fruktózu a glukózu [22].

Sacharidy rýže jsou tvořeny převážně škrobem s malým množstvím pentózanů, hemicelulóz, monosacharidů a oligosacharidů. Rýžový škrob obsahuje stejně jako většina škrobů amylozu a amylopektin, výjimkou je však měkká rýže, která obsahuje jen malé či žádné množství amylozy. Obsah pentózanů mleté rýže se pohybuje do 2 %, u hnědé rýže obsah činí až 2,5 %. Mono- a oligosacharidy jsou přítomny v množství do 0,5 % v bílé rýži a až 1,4 % v hnědé rýži. Volné cukry jsou zde především sacharóza s malým množstvím glukózy, fruktózy či galaktózy [28].

1.4.3 Lipidy

Z hlediska chemického složení jsou lipidy rozsáhlou skupinou látek a patří mezi ně neutrální lipidy čili tuky a oleje, polární lipidy (hlavně fosfolipidy), steroidy, vosky, mezi doprovodné látky lipidů pak lipofilní pigmenty a některé vitaminy. Zrna obilovin neobsahují příliš mnoho lipidů, jejich převážné množství je však soustředěno v klíčku, tam

se nacházejí převážně tuky a oleje (estery MK a glycerolu) [22]. V zrnech pšenice a ječmene zaujímá olej 2 – 3 % suché hmotnosti a z mastných kyselin jsou zde zastoupeny palmitová, olejová a linolová. Zrno kukuřice obsahuje až 4 % oleje a oves dle kultivaru může obsahovat olej v rozmezí 3 – 11 % [29]. Vymletá rýže obsahuje méně než 5 % lipidů na sušinu, obsaženy jsou zde kyseliny linolová a linolenová, přičemž více těchto mastných kyselin obsahují rýžové otruby [30]. Problémem nenasycených mastných kyselin, které jsou v rostlinných tucích vázány více, je jejich snadné podlehnutí oxidaci vzdušným kyslíkem, tj. žluknutí. Příkladem může být kyselina linolová, která snadno podléhá oxidaci a dochází tak ke žluknutí mouky delším skladováním. Fosfolipidy obsahují v molekule navíc kyselinu fosforečnou. Nejznámějším zástupcem je fosfatidylcholin [22]. Fosfolipidy jsou významné nejen z nutričního hlediska, ale např. v pšenici mají výrazný vliv na konečnou texturu potravin, neboť interagují s proteiny pšeničného lepku [31]. V pšeničné mouce je obsaženo celkem 0,5 % fosfolipidů, nejvíce je zastoupen lyzofosfatidylcholin (až 48 % z přítomných fosfolipidů), poté fosfatidylcholin, N-acylfosfatidyletanolamin a nejméně N-acyllyzofosfatidyletanolamin [32]. Rýže obsahuje o něco méně fosfolipidů, 0,3 % kromě těch, které obsahuje pšenice, zde nalezneme ještě fosfatidylinositol a lyzofosfatidylinositol [33]. V obilovinách existují i lipidy vázané na jiné složky, jako jsou lipoproteiny či glykolipidy [22].

1.4.4 Vitaminy obilovin

Vitaminy nalezneme v obilném zrně nejvíce v obalových vrstvách a klíčku. Především obsahují vitaminy skupiny B, přičemž množství v moukách závisí na stupni vymletí. Ve světlých moukách je zachováno až 20 % původního obsahu, kdežto v tmavých moukách až 40 % [22]. Celozrnné výrobky jsou důležitým zdrojem folátů, označovaných jako vitamin B₉ s antioxidačním účinkem. Významným je vitamin E, který také působí antioxidačně a je hojně zastoupen především v klíčcích. Obiloviny bohaté na vitamin E jsou kukuřice a žito, zatímco pšenice, ječmen, oves, proso, čirok a pohanka ho obsahují méně.

U rýže je vitamin E přítomen také ve významném množství, ale zejména ve vnějších vrstvách zrna. Olej získaný např. z pšeničných klíčků pak obsahuje asi 25 mg vitaminu E ve 100 g [34].

1.4.5 Minerální látky v obilovinách

Množství minerálních látek v celých zrnech se pohybuje v rozmezí 1,25 – 2,5 %, opět se vyskytují nejvíce v obalových vrstvách a v endospermu minimálně. Obsah minerálních látek neboli obsah popela je významným kritériem pro klasifikaci mouk. Nejvíce jsou zde zastoupeny minerály hořčík, vápník, železo, fosfor ve formě oxidu fosforečného [22], zinek a méně selen. Konkrétně v rýži však nalezneme selenu nejvíce (10 - 13 μg ve 100 g). Pšenice je velmi bohatá oproti ostatním druhům obilovin na obsah vápníku (150 – 340 mg ve 100 g), hořčíku (20 – 120 mg ve 100 g) a železa (2 – 3,9 mg ve 100 g) [5]. V obilovinách nalezneme také toxické kovy olovo, kadmium, arsen a rtuť, kontaminanty odpovědné za rozsáhlé otravy. Arsen může být přítomen v obilovinách v množství 25 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, kadmium 17 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, olovo do 33 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a rtuť 8 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Světová zdravotnická organizace stanovila tolerovaný týdenní příjem těchto kovů pro zhodnocení zdravotního rizika příjmu potravy. Pro arsen činí hraniční příjem 15 μg v anorganické podobě na kg tělesné hmotnosti, kadmium v množství 7 μg , olovo 25 μg a rtuť 5 μg , vše vztaženo na kg tělesné hmotnosti [35].

1.4.6 Ostatní složky obilovin

Ostatní složky obilovin, které zatím nebyly zmíněny, působí především antioxidantně a jedná se o karotenoidy, betain, cholin, sirmé aminokyseliny, alkylrezorcinoly a lignany [34]. Karotenoidy jsou skupinou přírodních pigmentů, které jsou zodpovědné za žluté, oranžové a červené zbarvení ovoce, zeleniny i obilovin. V zrnech obilovin jsou xantofylové karotenoidy lutein a zeaxantin významnými antioxidanty. Studiemi bylo prokázáno, že potraviny bohaté na jejich obsah snižují riziko rakoviny, kardiovaskulárních chorob a věkem podmíněné makulární degenerace. Příznivě působí také na zdravý stav kůže. Lutein je většinou nejvíce zastoupen ze skupiny karotenoidů v obilovinách, nejvíce je ho obsaženo v kukuřici, dále v pšenici, méně v ovsu a ječmeni [36].

Betain, známý jako barvivo červené řepy, je základní osmolyt, který je zdrojem metylových skupin. Nedostatek betainu může způsobit metabolický syndrom, poruchy metabolismu tuků, cukrovku a další onemocnění. V obilovinách se betain vyskytuje zejména v pšeničných otrubách, kde představuje asi 1 hmot. % [37, 34]. Cholin je v opečených pšeničných klíčcích obsažen v množství 152 mg ve 100 g produktu. Jako předchůdce betainu se také podílí na antioxidantním působení v lidském organismu. Celozrnné produkty jsou bohatým zdrojem sirmých aminokyselin metioninu a cysteinu,

který přispívá k syntéze glutationu, jež je významným antioxidantem zejména v játrech [34]. Alkylrezorcinoly a lignany patří mezi polyfenolické sloučeniny, o nichž je pojednáno v kapitole 2.

Významnou minoritní složkou v obilných zrnech je také kyselina fytová [22] (kyselina myoinositol hexafosforečná) [38], která se ve formě rozpustných solí nachází také hlavně v obalových vrstvách [22]. Některé otruby mohou obsahovat více než 5 % kyseliny fytové. Je to hlavní zásobní forma fosforu většiny rostlinných semen a obilných zrn, až 70 % celkového obsahu fosforu může být přítomno v této podobě [38]. Je schopna vázat na svou molekulu minerální prvky a tyto sloučeniny jsou pak v lidském organismu nevyužitelné [22]. Jedná se především o vícemocné ionty kovů, jako je zinek, vápník a železo. Kyselina fytová má však i pozitivní účinek, bylo prokázáno, že snižuje vznik hydroxylových radikálů v tlustém střevě a působí tak proti karcinogenezi [38].

Antioxidanty přítomné v obilovinách jsou blíže popsány v kapitole 2.

2 ANTIOXIDAČNÍ ÚČINEK OBILOVIN

Přírodní antioxidanty využívané k lékařským a potravinářským účelům mají stále větší význam. O tom svědčí také vyšší zpracovávání zemědělských odpadů, např. vinařských, jako nízko nákladných zdrojů antioxidantů [39]. Celozrnné produkty obsahují mnohem více sloučenin s potenciálním antioxidačním účinkem. Mezi tyto sloučeniny patří již zmíněné minerální látky a stopové prvky, vitamin E, karotenoidy, foláty, kyselina fytová, lignin a další sloučeniny jako betain, cholin, sirté aminokyseliny, alkylrezorcinyly a lignany. Zatímco vitamin E působí přímo proti volným radikálům, jiné jsou kofaktory antioxidačních enzymů, nebo mohou být nepřímými antioxidanty, což jsou foláty, cholin a betain. Foláty, označované jako vitamin B₉, způsobují snížení koncentrace homocysteinu v plazmě. Hyperhomocysteinémie je rizikovým kardiovaskulárním faktorem. Obiloviny jsou průměrným zdrojem folátů, obsahují je v rozmezí 16 – 143 µg ve 100 g jedlé části v závislosti na druhu. Minerální prvky zinek, železo a stopové prvky jako selen, měď, mangan jsou kofaktory několika antioxidačních enzymů. Díky obsahu kyseliny fytové je však snížena biologická dostupnost těchto prvků [34].

2.1 Oxidační stres

Nadměrnou tvorbou reaktivních forem kyslíku či dusíku nebo poklesem antioxidační obrany vzniká oxidační stres, jenž má vliv na vznik nádorů, mutace DNA a poškození tkání. Reakcí superoxidu s oxidem dusnatým vzniká peroxyntiril, který nitruje bílkoviny. Volné radikály způsobují lipoperoxidaci, přičemž vznikají kancerogenní aldehydy. Radikálem je i oxid dusnatý, jehož vysoká koncentrace urychluje tvorbu nádoru. Pokud je oxidační stres doprovázen obezitou, chronickými infekcemi či např. kouřením, možnost výskytu nádorů se zvyšuje. Sloučeniny s antioxidačními účinky toto riziko snižují [40].

V souvislosti s oxidačním stresem je třeba zmínit pojem metabolický syndrom, neboť faktory jej vyvolávající jsou podpořeny oxidačním stresem. Metabolický syndrom zahrnuje kardiovaskulární onemocnění a jeho rizikové faktory a diabetes 2. typu. Hyperglykémie a zánět, jako součásti metabolického syndromu, zvyšují produkci reaktivních forem kyslíku, zvyšuje se tak oxidační stres s nadměrnou aktivací NADPH oxidázy. Tento enzym produkuje superoxidový anion, hlavní z reaktivních kyslíkových forem. Za fyziologických podmínek buňky vykazují určitou vlastní ochrannou antioxidační aktivitu před oxidačním poškozením. Systém je tvořen enzymovými komponenty, jako je kataláza, superoxidodismutáza, glutationperoxidáza a neenzymovými komponenty jsou

vitamin C a E. Je-li vysoká produkce oxidačního stresu, dochází k narušení rovnováhy mezi oxidačními a antioxidačními faktory, jehož důsledkem je prooxidační stav [41].

2.2 Polyfenolické látky

Polyfenolické látky jsou syntetizovány rostlinami jako sekundární metabolity během normálního vývoje či jako reakce na stresové podmínky (infekce, UV záření, zranění). Tato skupina látek je chemicky odvozena od fenylalaninu a tyrozinu [42]. Mohou to být látky povahy velmi lipofilní (např. tangeretin) či naopak snadno rozpustné ve vodě (např. kvercetin-3-sulfát). Velikost molekuly se také značně liší, jedná se o monomery i komplexy s vysokou molekulární hmotností [23]. V rostlinách přispívají k jejich pigmentaci, plní funkci tzv. atraktantů pro opylovače, dále fungují jako antioxidanty a chrání proti UV záření [42]. Mnoho polyfenolů, které však pigmenty nejsou, jsou zodpovědné za hnědnutí ovoce a zeleniny během skladování a zpracování. Tyto látky se účastní jak enzymatického, tak neenzymatického hnědnutí. Jelikož je barva ovoce a zeleniny pro spotřebitele významným faktorem, je pro technology výzvou tomuto hnědnutí zamezit [23]. V potravinách způsobují jejich hořkou chuť, svíravost, také ovlivňují zabarvení a samozřejmě oxidační stabilitu [42]. Chalkony a jim příbuzné sloučeniny, nacházející se v citrusových plodech mohou být mimořádně hořké ale i sladké a hořkost a trpkost vína je způsobena právě přítomností fenolických sloučenin v hroznech [22].

Obiloviny a celozrnné produkty jsou významným zdrojem polyfenolů [34], nejčastěji jsou zastoupeny ve formě fenolových kyselin a flavonoidů. Tuto skupinu látek řadíme mezi hlavní fytochemikálie, které mohou existovat jako rozpustné volné sloučeniny, rozpustné konjugáty esterifikované na sacharidy a další nízkomolekulární sloučeniny a nerozpustné vázané formy [42].

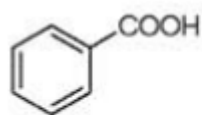
Kromě ovoce a zeleniny dále nalezneme polyfenoly např. v čaji, kde představují až 35 % jeho hmotnosti, hlavními zástupci jsou zde epikatechingalát, epigalokatechin, katechin, kvercetin a další. Především známý svým obsahem těchto přínosných složek je zelený čaj, ale také čaj černý. Díky vysokému obsahu polyfenolů v čaji je odhadováno, že Japonci, kteří pijí čaj ve velkém množství, mohou přijmout až 1 g epigalokatechin galátu denně. Dalším zdrojem jsou kakaové boby s až 18% obsahem, pražená káva, pivo a víno. Fenolické sloučeniny v potravinách podléhají změnám během jejich skladování

a zpracování. Jsou snadno dostupnými substráty pro enzymy jako polyfenoloxidáza nebo peroxidáza [23].

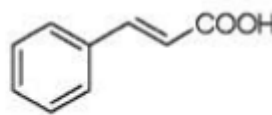
Mechanismus účinku polyfenolů *in vivo* není zcela objasněn. Většina působí tak, že přímo vychytávají volné radikály, jiné jsou považovány za chelátory přechodných kovů (minerálů nebo stopových prvků) [34]. Chelátory jsou látky, které se vážou na ionty kovů a zlepšují jejich vylučování z těla, čímž způsobují postupné snižování jejich koncentrace [43]. Antioxidační aktivita jednotlivých fenolických sloučenin je různá, účinnost např. flavonoidů jako volných radikálů je závislá především na počtu hydroxylových skupin a jejich umístění v molekule [42].

2.2.1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou deriváty kyseliny benzoové a skořicové, přítomné ve všech obilovinách. Rozlišujeme dvě skupiny těchto kyselin, hydroxybenzoová a hydroxyskořicová. Nejvíce fenolových kyselin je zastoupeno v prosu a čiroku [44]. V obilovinách jsou nejvíce přítomny: kyselina ferulová, vanilová, kávová, syringová, sinapová a *p*-kumarová. Ferulové kyseliny, jako nejvíce zastoupené fenolické kyseliny v celých obilných zrnech, byly nalezeny převážně ve vázané formě v kukuřici, pšenici, ovsu a rýži. V ovoci a zelenině je ještě ve vyšším množství přítomna kyselina hydroxyskořicová [42]. Obecně se kyseliny vyskytují spíše jako jednoduché estery, vázané na buněčných stěnách, pokud se vyskytují ve volném stavu, což bývá málokdy [23], nalezneme je ve vnější vrstvě oplodí [44]. Studiemi bylo prokázáno, že fenolické kyseliny hydroxyskořicová, ferulová, kávová a *p*-kumarová snižují oxidaci lipoproteinů s nízkou hustotou a potenciálně tak působí proti ateroskleróze [42].



kyselina benzoová



kyselina skořicová

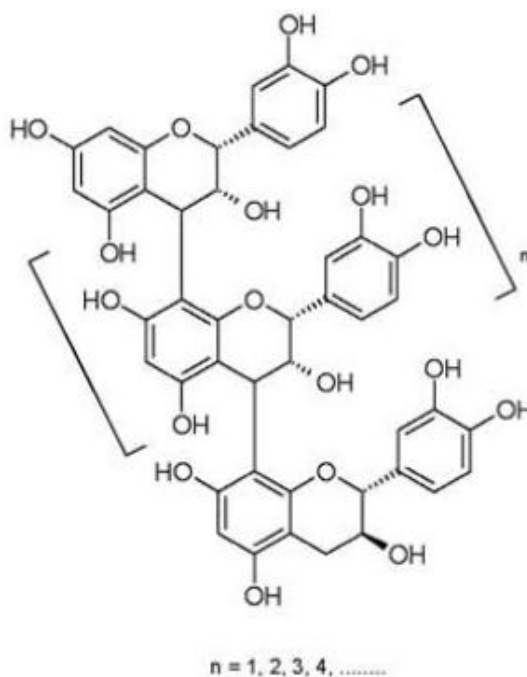
2.2.2 Flavonoidy

Flavonoidů bylo v přírodě identifikováno více než 5000 druhů [42], v rostlinách tak nalezneme flavan-3-oly (katechiny), 3-hydroxyflavony (flavonoly – např. kvercetin), flavanony, antokyanidiny, chalkony a izoflavony. Většina flavonoidů s výjimkou katechinů

se v rostlinách vyskytují jako glykosidy, ve kterých jsou kombinovány se sacharidy jako galaktóza, arabinóza, xylóza, glukóza a ramnóza [23]. Struktura flavonoidů je založena na 2-fenylchromonu, tedy flavonu a skládá se ze dvou benzenových kruhů spojených tříuhlíkatým řetězcem. Různé druhy flavonoidů se liší stavem oxidace tohoto tříuhlíkatého řetězce. Nejrozmanitější skladba flavonoidů byla zaznamenána u čiroku, ale flavonoidy v určitém množství nalezneme v oplodí všech obilovin [44]. Antokyany jsou nejdůležitější skupinou ve vodě rozpustných rostlinných pigmentů, které jsou viditelné lidským okem [23]. Jsou odpovědné za modré, fialové a červené zbarvení typické pro borůvky, ostružiny či jahody [44]. Vyskytují se jako monoglykosidy, diglykosidy či triglykosidy [23]. U pigmentovaných odrůd ječmene, rýže, kukuřice, žita a pšenice byly nalezeny antokyany kyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin, petunidin a peonidin [44].

2.2.3 Kondenzované třísloviny

V zrnech některých obilovin jsou obsaženy polymerní formy katechinů, kondenzované třísloviny (tj. proantokyanidiny), které vykazují vyšší antioxidační aktivitu než monomery [42]. Jejich přítomnost v potravinách způsobuje trpkost. Kondenzované třísloviny na sebe dokáží vázat bílkoviny, sacharidy a minerály a stravitelnost těchto živin je snížena. Nalezeny byly u čiroku a ječmene [44].

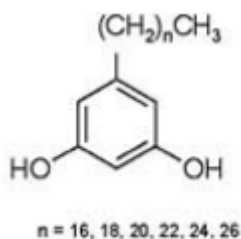


kondenzované třísloviny

2.2.4 Ostatní polyfenoly

2.2.4.1 Alkylrezorciny

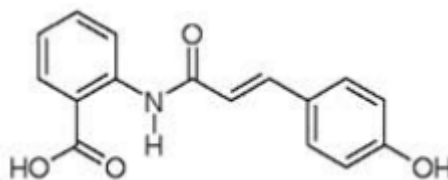
Jsou to deriváty 1,3-dihydroxybenzenu, které mají lichý počet uhlíkových řetězců na pozici 5 benzenového jádra. Vyskytují se v pšeničných otrubách, žitu, tritikale a ječmeni. Jsou u nich hlášeny kromě antioxidačních účinků také antibakteriální a antimykotické.



alkylrezorciny

2.2.4.2 Avenantramidy

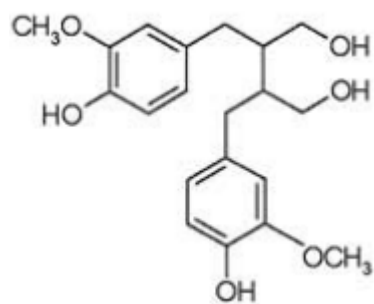
Tato skupina polyfenolů je typická pro oves, konkrétně jsou to avenantramid 1 (B), avenantramid 3 (C) a avenantramid 4 (A). Kromě antioxidačního účinku, který vykazují, dokáží působit na snižování cholesterolu.



avenantramid

2.2.4.3 Lignany

Lignany se ve vysokém množství vyskytují ve lněném semínku, obsahují je však i např. ječmen, oves, žito, tritikale a pšenice. Jsou to fytoestrogeny, v obilovinách se vyskytují sekoizolaricirezinol a matairezínol. Tyto jsou po požití přeměněny na savčí lignany enterodiol a enterolakton. Přínos těchto lignanů byl prokázán ve snižování rizika rakoviny prsu, prostaty, tlustého střeva [44].



lignany

Tabulka 2 Potravinové zdroje polyfenolů [42]

Skupina polyfenolických sloučenin	Zástupci skupiny	Potravinové zdroje
Fenolové kyseliny	Hydroxyskořicová k.	Meruňky, broskve, borůvky, citrusové plody, špenát, rajčata, obiloviny
	Hydroxybenzoová k.	Borůvky, obiloviny, brusinky, olejnatá semena
Flavonoidy	Antokyany	Borůvky, třešně, vinná réva, jahody
	Chalkony	Jablka
	Flavanoly	Jablka, borůvky, hlávkový salát, cibule
	Flavanonoly	Vinná réva
	Flavanony	Citrusové plody
	Flavonoly	Fazole, pohanka, čekanka, jablka, borůvky
	Flavony	Citrusové plody, celer, petržel
	Izoflavony	Sója
Taniny	Xantony	Mango
	Kondenzované	Jablka, hrušky, vinná réva, broskve
	Hydrolyzované	Granátové jablko, maliny
Ostatní polyfenoly	Alkylrezorcinyly	Obiloviny
	Arbutin	Hrušky
	Avenantramidy	Oves
	Kapsaicinoidy	Pepř
	Kumariny	Mrkev, celer, citrusové plody, pastinák
	Lignany	Pohanka, lněné semínko, žito, pšenice
	Secoiridoidy	Olivy
	Stilbeny	Vinná réva

3 STANOVENÍ POLYFENOLICKÝCH SLOUČENIN FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU

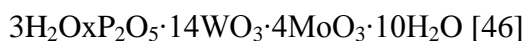
Způsob stanovení pomocí Folin-Ciocalteuova činidla je velmi rozšířený a běžně používaný v laboratořích, podrobnosti provedení metody se však značně liší. Dochází k oxidaci fenolů v zásaditém roztoku a změně zbarvení ze žlutého na modré. Tyto modré pigmenty mají maximální absorpci v závislosti na kvalitativním a/nebo kvantitativním složení směsi fenolů, dále na pH roztoku, které se upravuje obvykle přidáním uhličitanu sodného. Tato metoda byla široce studována s provedením různých odchylek. Jde především o počáteční a konečné koncentrace uhličitanu sodného, pořadí reakčních složek včetně načasování a teplotu inkubace reakční směsi. Parametry jsou tedy velmi variabilní. Význam pro provedení má také koncentrace alkoholu v konečné směsi. Použitá rozpouštědla jiná než voda mohou totiž někdy zasahovat do vzniku modrého pigmentu, avšak alkoholový ekvivalent do 1 ml/100 ml konečné směsi dává reprodukovatelné výsledky. Studie se shodují v tom, že uhličitan sodný se přidává ke směsi až po smíchání vzorku s činidlem. Proto může přidaný uhličitan sodný dosahovat poměrně vysoké koncentrace. Většinou je metoda prováděna s finální koncentrací alkoholu, která nepřesahuje 1 % a uhličitan sodný je v podobě 20 % roztoku. Folin-Ciocalteuova metoda je založena na spektrofotometrickém měření absorbance vzorků, z níž bude následně zjištěna koncentrace polyfenolů [45].

3.1 Folin-Ciocalteuovo činidlo

Největší uplatnění nachází Folin-Ciocalteuovo činidlo v Lowryho metodě, která slouží ke stanovení koncentrace bílkovin. Během stanovení se tvoří chromogeny, jež mají vyšší absorbanci mezi 550 nm a 750 nm. Běžně je absorbance na vrcholu (750 nm) používána pro kvantifikaci proteinů v koncentraci 1 – 100 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, zatímco absorbance při 550 nm je používána pro kvantifikaci vyšších koncentrací proteinů.

Činidlo neobsahuje fenol, účastní se však reakcí s fenoly i jinými redukujícími látkami za tvorby chromogenů, které jsou detekovány spektrofotometricky. Změna zbarvení je způsobena transportem elektronů k zásadnímu pH a redukcí komplexů. Činidlo může být také použito ve formě spreje u různých chromatografických postupů. Co se týče vzhledu, jedná se o čirou zářivě žlutou kapalinu. Je možné jej skladovat omezenou dobu při pokojové teplotě, může být ředěno deionizovanou vodou. Příprava činidla zahrnuje nejprve

rozpuštění 10 g wolframanu sodného a 2,5 g molybdenanu sodného v 70 ml vody. Ke směsi se přidá 5 ml 85% kyseliny fosforečné a 10 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Po dobu 10 hod probíhá reflux neboli zpětný tok. Poté je přidáno 15 g síranu litného, 5 ml vody a 1 kapka bromu. Opět následuje reflux po dobu 15 min. Po vychlazení na pokojovou teplotu je tato směs přenesena do 100 ml vody. V roztoku vznikají šestimocné komplexy kyseliny fosfowolframové či fosfomolybdenové s následující strukturou:



4 ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE

Absorpční spektrofotometrii řadíme mezi spektrální metody využívané především ke stanovení koncentrace látek v roztoku. Výhodami spektrálních metod jsou jednoduchost, rychlost a citlivost měření nachází-li se vzorek ve vhodném prostředí. Nevýhodou mohou být vysoké investiční náklady. Rozlišujeme dva druhy absorpční spektrofotometrie: UV-VIS spektrofotometrii či infračervenou spektroskopii. UV-VIS spektrofotometrie znamená měření spektrálních veličin ve viditelné a ultrafialové oblasti, což může být v oblasti již od 185 nm do 1000 nm. Kromě sacharidů mají téměř všechny látky v této oblasti, jež označujeme zkratkou UV-VIS charakteristické absorpční pásy, jejich koncentraci tak lze stanovit na základě spektrálních vlastností. Interakce určitého chromoforu s okolím ovlivňuje absorpční vlastnosti, vlnová délka absorpčního maxima a intenzita absorpce jsou tedy ovlivněny řadou procesů [47].

4.1.1 Lambert-Beerův zákon

Při průchodu světla určitou látkou dochází k rozptylu světla a jeho část je látkou pohlcována, čímž se snižuje jeho intenzita. Každá průhledná látka většinou absorbuje některé oblasti elektromagnetického záření, roztoky některých látek jsou zbarvené a absorbují světlo určitých vlnových délek viditelného spektra [48]. Jedním z nejznámějších fyzikálně-chemických vztahů je Lambert-Beerův zákon:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot b \cdot c \quad (1)$$

kde A je absorbance roztoku dané látky při vlnové délce λ . ε_{λ} je molární absorpční koeficient látky při vlnové délce λ [$\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]. b je tloušťka absorpční vrstvy [cm] a c je látková koncentrace dané látky v roztoku [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]. Pokud je v prostředí obsaženo více absorbujících látek, celková absorbance je sumou absorbancí jednotlivých látek dle vztahu:

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_0 \quad (2)$$

Absorbance je bezrozměrná veličina lineárně závislá na látkové koncentraci absorbující látky [49]. Veličina vyjadřující frakci světla pohlceného v kyvetě poměrem intenzity světla I_0 , které vstupuje do kyvety a intenzity světla I , vystupujícího se nazývá transmitance. Vypočte se ze vztahu:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3)$$

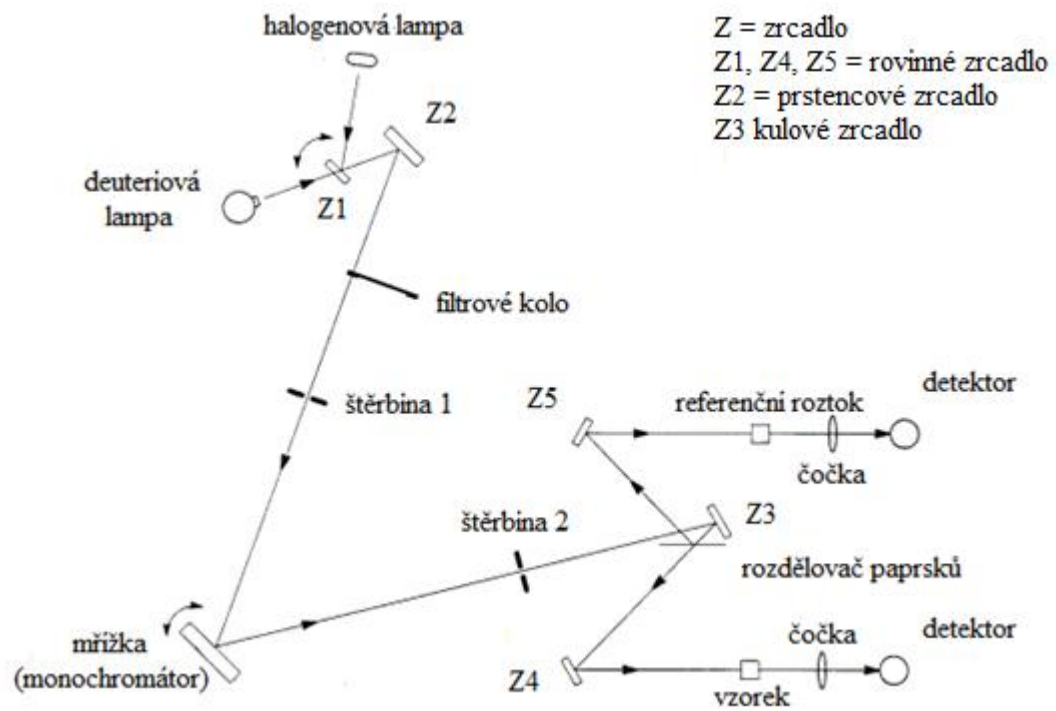
Transmitanci vyjadřujeme v procentech, jelikož však není přímo úměrná koncentraci absorbující látky, využívá se více absorbance [47].

4.1.2 Přístroje používané pro spektrofotometrické měření

Pro měření se využívá zařízení zvané spektrofotometr, který umožňuje nalézt závislost absorpce daného roztoku na vlnové délce záření a stanovovat koncentrace roztoků při vlnové délce s největší absorpcí. Spektrofotometr obsahuje zdroj monochromatického světla, kde je možné nastavit vlnovou délku a fotodetektor. Lze odečítat propustnost či absorpci v závislosti na vlnové délce světla [48]. Spektrofotometry rozlišujeme dle způsobu měření na jednopaprskové, dvoupaprskové a tzv. typu Diod-Array-Detectors (DAD) [47]. Pro měření byl použit spektrofotometr Lambda 25, který je popsán v následující kapitole.

4.1.2.1 Spektrofotometr Lambda 25

Tento všestranný spektrofotometr pracující v ultrafialové a viditelné oblasti je dvojpaprskový a vše odrážející systém. Jeho jednotlivé optické komponenty jsou potaženy silikagelem pro dlouhou životnost. Jako monochromátor je použita holografická mřížka. Jsou zde dva zdroje záření, deuteriová lampa a halogenová lampa, zrcadlo Z1 na obrázku 4 odráží záření z halogenové žárovky na zrcadlo Z2. Současně zrcadlo Z1 blokuje záření deuteriové žárovky. Pro provoz v ultrafialové oblasti je umožněno záření deuteriové lampy na zrcadlo Z2 zvýšením zrcadla Z1. Záření ze zdroje světla se odráží od zrcadla Z2 prostřednictvím optického filtru na filtrové kolo, poháněné krokovým motorem. Z optického filtru záření prochází vstupní štěrbinou (štěrbinou 1) monochromátoru. Rotační poloha mřížky účinně vybere segment spektra odrážející tento segment přes výstupní štěrbinu (štěrbinu 2) na zrcadlo Z3. Tato štěrbinu omezuje spektrum segmentu na téměř monochromatický svazek záření. Od zrcadla Z3 je záření odráženo na tzv. rozdělovač, díky němuž 50 % záření směřuje na rovinné zrcadlo Z4 a dalších 50 % na rovinné zrcadlo Z5. Od zrcadla Z4 je radiační paprsek zaměřen na kyvetu se vzorkem a následně prochází vypouklou čočkou na fotodiody detektoru. Od zrcadla Z5 se paprsek odráží na referenční kyvetu a následně také projde vypouklou čočkou směrem na fotodiody detektoru [50].



Obrázek 6 Optická dráha spektrofotometru Lambda 25 [50]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo vypracovat postup extrakce polyfenolických látek z obilovin a jejich spektrofotometrické stanovení za využití Folin-Ciocalteueho metody. Spektrofotometricky byla změřena absorbance, z níž byla po provedené kalibraci odvozena koncentrace polyfenolů, vyjádřená jako ekvivalentní množství kyseliny gallové. Stanovení bylo prováděno u celkem 15 vzorků různých druhů rýže a pšenice. Pro extrakci těchto sloučenin z obilovin byly použity dvě směsi extrakčních rozpouštědel a dva různé extrakční časy a způsoby.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Použité chemikálie a pomůcky

6.1.1 Chemikálie

- Metanol (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma – Aldrich, Švýcarsko)
- Uhličitan sodný bezvodý (Lachema, Česká republika)
- Kyselina gallová monohydrát (Acros Organics, Belgie)
- Kyselina chlorovodíková 37% (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, Česká republika)
- Destilovaná voda

6.1.2 Použité přístroje a pomůcky

- Elektrický mlýnek (Waldner Biotech, Rakousko)
- Analytická váha (Adam, AFA – 210 LC, Schoeller instruments, Česká republika)
- Třepačka Hettich
- Ultrazvuková lázeň PS 04000A (Notus – Powersonic s.r.o., Slovenská republika)
- Odstředivka EBA 20, Hettich Zentrifugen (Tuttlingen, Německo)
- Mikropipeta mechanická Proline 100-1000 μ l (Biohit, Finsko)
- UV/VIS Spektrofotometr Lambda 25 (Perkin Elmer, USA)
- Filtrační papír (Filtrak No. 390)
- Mikrofiltry 0,45 μ m (Cronus Syringe Filter, 13 mm; 0,45 μ m; Chromservis s.r.o.)
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

6.2 Analyzované vzorky

Výrobci jednotlivých vzorků budou prezentováni u obhajoby diplomové práce.

6.2.1 Rýže černá natural

Černá natural rýže, balena po 200 g. Jako země původu je uvedena EU. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 7 Rýže černá natural



Obrázek 8 Celá zrna rýže černé natural

6.2.2 Khaw Dam černá rýže

Khaw Dam je černá neloupaná dlouhozrná rýže pocházející z Laosu. V zemi původu se rýže podává především na slavnostních příležitostech díky své zvláštní barvě. Textura je zrnitá a příchuť ořechová [51]. Balení 500 g. Energetická hodnota ve 100 g: 1520 kJ/359 kcal. Množství bílkovin je 9,0 g, sacharidů 75,0 g a tuků 2,5 g ve 100 g.



Obrázek 9 Khaw Dam černá rýže



Obrázek 10 Khaw Dam černá rýže – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.3 Rýže červená natural

500 g balení červené rýže natural, země původu je Řecko. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 11 Rýže červená natural



Obrázek 12 Rýže červená natural – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.4 Rýže červená

Rýže je balena v množství 500 g. Výrobek nese označení bioprodukt, je tedy produktem ekologického zemědělství. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 13 Rýže červená [52]



Obrázek 14 Rýže červená – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.5 Jasmínová rýže z Thajska červená

Jedná se bio jasmínovou červenou rýží v 500 g balení. Rýže pochází z Thajska a je tzv. fair trade produktem. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 15 Jasmínová rýže z Thajska červená



Obrázek 16 Jasmínová rýže z Thajska červená – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.6 Jasmínová rýže z Thajska hnědá

Jedná se opět o fair trade produkt. Tato bio jasmínová hnědá rýže pochází také z Thajska. Balení obsahuje 500 g. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 17 Jasmínová rýže z Thajska hnědá



Obrázek 18 Jasmínová rýže z Thajska hnědá – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.7 Lila Reis

Jedno balení rýže obsahuje 500 g. 80 % tvoří bílá rýže a 20 % fialová rýže. Bývá také označována jako sladká rýže, po uvaření je zcela fialová a lepkavá. Původem je z Japonska. Energetická hodnota ve 100 g je 1461 kJ/344 kcal. Bílkoviny jsou obsaženy v množství 6,8 g, sacharidy 77,8 g a tuky 0,6 g ve 100 g [53].



Obrázek 19 Lila Reis [53]



Obrázek 20 Lila Reis – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.8 Rýže basmati natural

Rýže je balena po 500 g. Zemí původu rýže je Řecko, jedná se o odrůdu vysokohorské rýže, která se nerozvaňuje. Nutriční hodnoty nejsou uvedeny na obalu.



Obrázek 21 Rýže basmati natural



Obrázek 22 Rýže basmati natural – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.9 Rýže dlouhozrná

Dlouhozrná rýže české společnosti je distribuována v balení 480 g. Energetická hodnota výrobku ve 100 g činí 1496 kJ/357 kcal. Živiny jsou obsaženy v množství: bílkoviny 6,7 g, sacharidy 80,4 g a tuky 0,4 g na 100 g.



Obrázek 23 Rýže dlouhozrná



Obrázek 24 Mletá zrna rýže dlouhozrné

6.2.10 Bio mléčná rýže

Bio kulatozrná loupaná rýže, jež je k dostání v množství 500 g. Rýže snadno vstřebává tekutinu, proto je vhodná pro přípravu mléčné rýže, rýžových nákypů a jiných sladkých pokrmů [54]. Nutriční hodnota rýže ve 100 g: 1397 kJ/334 kcal, bílkoviny 6,7 g, sacharidy 80,4 g a tuky 0,4 g.



Obrázek 25 Bio mléčná rýže [54]



Obrázek 26 Bio mléčná rýže – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.11 Bio červená pšenice

Jedná se o červenou pšenici jarní, která pochází z kontrolovaného ekologického zemědělství z jižní Moravy. Hmotnost balení je 500 g. Energetická hodnota bio pšenice na 100 g činí: 1385 kJ/331 kcal. Obsah jednotlivých živin je ve 100 g je: bílkoviny 10,4 g, sacharidy 74,2 g, tuky 1,6 g, vláknina 12,5 g a sodík 2 mg.



Obrázek 27 Bio červená pšenice [55]



Obrázek 28 Bio červená pšenice – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.12 Pšenice ozimá bio

Pšenice ozimá bio je produktem ekologického zemědělství, množství v balení je 1 kg. Energetická hodnota na 100 g pšenice činí 1199 kJ/285 kcal. Množství bílkovin je 12 g, sacharidů 57 g a tuků 1,9 g [56].



Obrázek 29 Pšenice ozimá bio



Obrázek 30 Celá zrna pšenice ozimé bio

6.2.13 Pšenice špalda

Tato pšenice špalda pochází z České republiky. Balení výrobku je 1 kg, pšenici je nutno vařit 1,5 hod.



Obrázek 31 Pšenice špalda



Obrázek 32 Celá zrna pšenice špaldy

6.2.14 Grünkern

Grünkern je balen v množství 300 g, jedná se o bio produkt. Energetická hodnota na 100 g výrobku: 1382 kJ/329 kcal. Ve 100 g je obsaženo 18,3 g bílkovin, 82,5 g sacharidů a 3 g tuků.



Obrázek 33 Grünkern



Obrázek 34 Grünkern – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.2.15 Kamut zrno bio

Bio kamut české společnosti je produktem ekologického zemědělství. Balení obsahuje 500 g. Energetická hodnota činí 1411 kJ/337 kcal ve 100 g. Bílkoviny jsou obsaženy v množství 14,2 g, sacharidy 70,4 g a tuky 2,2 g. Obsah vlákniny je 9,1 g ve 100 g [57].



Obrázek 35 Kamut zrno bio



Obrázek 36 Kamut zrno bio – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)

6.3 Příprava vzorků

Od každého vzorku byly použity tři balení, následnou kvartací byla odebrána část, která sloužila následně k chemické analýze. Vzorky použité pro stanovení byly ze všeho nejdříve podrobeny mletí. Bylo tak docíleno rozmělnění na menší částice a zároveň homogenizace. Mletí bylo provedeno na elektrickém obilném mlýnku Waldner Biotech na konzistenci hladké mouky. Namleté obiloviny byly skladovány za nepřístupu vzduchu a světla v tmavých plastových PP dózách, a to nejdéle 14 dní při laboratorní teplotě.

6.4 Extrakce vzorků

Po mletí byly vzorky podrobeny extrakci. Extrakční rozpouštědla byla použita pouze dvě, a to metanol p.a. a metanol ve směsi s vodou a kyselinou chlorovodíkovou (80:18:2 = metanol:voda:kyselina chlorovodíková). Jelikož však u obou typů rozpouštědel

byla extrakce prováděna po dvě různé doby a dvěma způsoby, vznikají celkem čtyři způsoby extrakcí, které byly testovány. Z jednoho druhu rýže či pšenice byl každý způsob extrakce vždy proveden dvakrát až třikrát vedle sebe, vznikly tedy dva až tři extrakty z jednoho druhu vzorku.

6.4.1 Extrakce metanolem

Jednou z možností extrakce vzorků za použití samotného metanolu je extrakce probíhající pouze 1 hod za použití ultrazvukové lázně o teplotě 40 °C. Po navážení 5 g mletého vzorku s přesností na 0,1 mg byl tento zalit metanolem (10 – 25 ml), extrakční tmavá skleněná nádoba byla uzavřena a uložena do ultrazvukové lázně. Po uplynutí jedné hodiny byla nádoba z lázně vyjmuta a směs vždy zchlazena před tím, než byla dále použita k analýze.

Druhým způsobem byla extrakce metanolem na třepačce po dobu 24 hod při laboratorní teplotě. 5 g naváženého mletého vzorku bylo opět smíseno s adekvátním množstvím metanolu (10 – 25 ml) a tmavá skleněná nádoba byla uzavřena. Poté probíhala 24 hod extrakce za nepřístupu světla. Zde je extrakční doba delší, neboť není použit ultrazvuk, jenž proces urychluje, jako v prvním případě.

6.4.2 Extrakce směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové

Extrakční směs obsahovala jednotlivé složky, metanol, vodu a kyselinu chlorovodíkovou, v poměru 80:18:2 (metanol:voda:kyselina chlorovodíková). Jednou z variant bylo opět extrahování po dobu 1 hod v ultrazvukové lázni za teploty 40 °C. 5 g mletého vzorku bylo naváženo, s přesností na 0,1 mg, smíseno s 10 či 25 ml směsí, tmavá skleněná nádoba byla uzavřena a umístěna do ultrazvukové lázně. Po vyjmutí a zchlazení byl extrakt dále zpracováván.

24h extrakce probíhala stejným způsobem jako u metanolu. Uzavřená tmavá skleněná nádoba obsahující vzorek smíšený se směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové byla umístěna na třepačce.



Obrázek 37 Ultrazvuková lázeň

6.5 Kalibrační přímka pro následné stanovení polyfenolů

Kalibrační přímka byla měřena stejně jako vzorky, jen bylo místo nich použito standardu o daných koncentracích, absorbance byla měřena po 1 hod. Jako standard byla použita kyselina gallová. Z ní a metanolu byl připraven nejprve zásobní roztok o koncentraci kyseliny gallové 4000 mg.l^{-1} . Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny jednotlivé roztoky kalibrační řady o koncentracích 50, 100, 200, 400, 600 a 800 mg.l^{-1} .

Do 10 ml odměrné baňky bylo napipetováno vždy 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, k němuž bylo přidáno 0,1 ml standardu o dané koncentraci a 2 – 3 ml destilované vody. Po 5 min bylo přidáno 1,5 ml 20% roztoku uhličitanu sodného, vše bylo doplněno destilovanou vodou po rysku odměrné baňky a směs byla promíchána. Stejným způsobem byl připraven slepý vzorek (blank), u něhož bylo postupováno stejně, jen bylo vynecháno 0,1 ml standardu. Absorbance byla měřena po 1 hod při vlnové délce 765 nm.

Ze změřených hodnot byla zhotovena kalibrační přímka, na jejíž ose x byla koncentrace kyseliny gallové v mg.l^{-1} a na ose y naměřená absorbance.

6.6 Postup spektrofotometrického stanovení polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou u vzorků netradičních obilovin

Poté co byly namleté vzorky vyextrahovány v metanolu nebo ve směsi metanol:voda:kyselina chlorovodíková, následovalo jejich odstředování. Extrakty byly kvantitativně převedeny do centrifugačních zkumavek a umístěny do odstředivky. Tento krok sloužil k odstranění zákalu, po jeho provedení se na dně zkumavky vytvořila sraženina a roztok byl čirý. Odstředování probíhalo vždy 10 – 20 min při $6000 \text{ ot. min}^{-1}$.



Obrázek 38 Odstředivka

Po odstředění byly extrakty přefiltrovány přes modrý filtrační papír do kádinek a byly tak získány čiré extrakty, které byly použity pro následné spektrofotometrické stanovení polyfenolů.



Obrázek 39 Filtrace extraktů

K samotnému stanovení bylo do 10 ml odměrné baňky nejprve napipetováno 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla. K němu bylo přidáno 0,1 ml extraktu a 2 – 3 ml destilované vody. Po uplynutí 5 min od smísení bylo přidáno 1,5 ml 20% roztoku uhličitanu sodného. Roztok byl opět promíchán a doplněn do objemu 10 ml. Stejným způsobem byl připraven slepý vzorek, jen bylo vynecháno 0,1 ml vzorku. Po uplynutí 30 min bylo provedeno měření absorbance na spektrofotometru Lambda 25. Každý extrakt byl měřen celkem třikrát, z těchto tří hodnot absorbance byl vypočítán průměr.



Obrázek 40 Spektrofotometr Lambda 25

Průměrná hodnota absorbance byla dosazena do rovnice regrese za hodnotu y a bylo vypočteno x , obsah polyfenolů ve vzorku vyjádřený jako ekvivalent kyseliny gallové. Hodnota byla následně vyjádřena jako obsah polyfenolů ve formě kyseliny gallové ve vzorku v g.kg^{-1} .

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Výsledky extrakce

7.1.1 Extrakce metanolem

Během extrakce metanolem byly vzorky vždy naváženy v množství 5 g s přesností na 0,1 mg. Množství metanolu, v němž byly vzorky extrahovány, se lišilo. Bylo zjištěno, že některé barevné vzorky rýže extrahované v 10 ml měly absorbanci vyšší než 1, byly tedy znovu extrahovány ve 25 ml metanolu, nebo by musel být extrakt ředěn. Jednalo se např. o červenou rýži natural či jasmínovou rýži z Thajska červenou. Obecně lze říci, že potencionálně vzorky obsahující více polyfenolických látek je lépe extrahovat do cca 20 – 25 ml metanolu, zatímco vzorky méně barevné pak do 10 – 15 ml metanolu. To je dáno i jejich termostabilitou. Při využití vakuové destilace při případném zakoncentrování vzorku by se musel brát ohled na bod varu metanolu, jistým schůdným řešením by mohla být vakuová destilace s případným chlazením vzorku.

Všechny extrakty byly po odstředění a následné filtraci čiré. U několika vzorků, jejichž extrakty byly získány 24 hod extrakcí, došlo k tvorbě zákalu po smísení extraktu, Folin-Ciocalteuova činidla a uhličitanu sodného, tedy ve výsledné směsi určené k měření. Jelikož absorbanci není možné měřit, pokud je roztok kalný, bylo nutné provést filtraci pomocí syringe filtru. Zákal se tvořil u rýže dlouhozrné, rýže červené a u grünkernu. U extraktů získaných po 1 hod se tvořil zákal ve výsledné směsi pouze u grünkernu, směs jej obsahující byla také zfiltrována pomocí syringe filtru. U zmiňovaných vzorků mohl být zákal způsoben vysrážením škrobu, či jeho parciálních hydrolyzátů, jistý vliv zde mohla hrát imbibice škrobu [19]. Další možností je taktéž sklizeň zrna v období konce mléčné zralosti, čili dříve, než byl škrob vyzrálý. U grünkernu je to samozřejmě ovlivněno nejen sklizní přímo v mléčné zralosti, ale samozřejmě i způsobem jeho přípravy.

7.1.2 Extrakce směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové

U využití extrakční směsi metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové pro extrakci bylo také naváženo 5 g vzorku s přesností na 0,1 mg, s výjimkou černé rýže Khaw Dam. Nejprve byla provedena extrakce 5 g tohoto vzorku ve 25 ml směsi, ale naměřená absorbance byla výrazně vyšší než 1. Proto bylo v tomto případě použito pro stanovení nižší navážky 2,5 g při zachování objemu extrakční směsi 25 ml. Tuto vyšší absorbanci vykazovala černá rýže

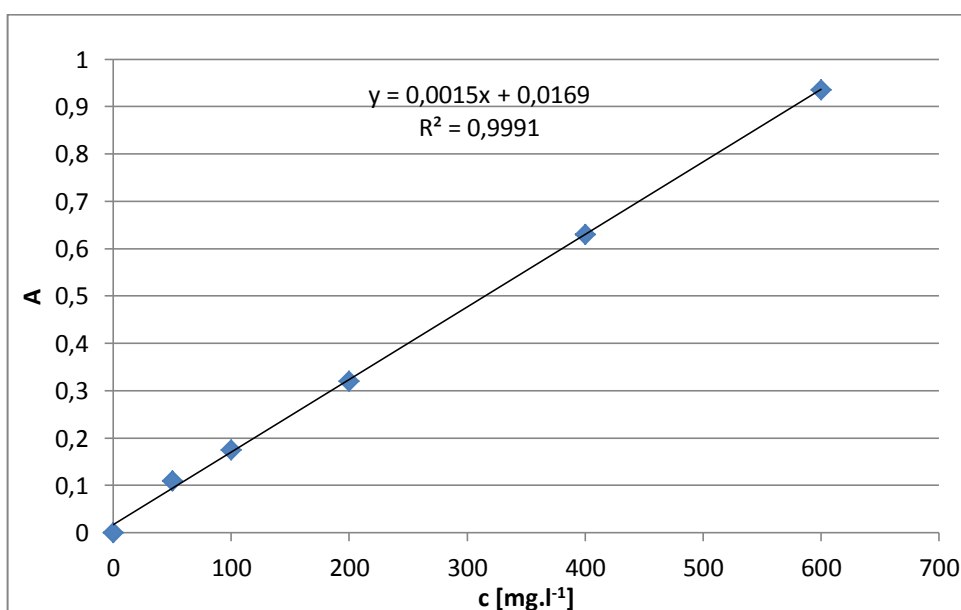
Khaw Dam pouze u extrakce 24 hod, proto u 1 hod extrakce v ultrazvuku je použita běžná navážka 5 g. Získané extrakty, které byly podrobeny odstředění a filtraci byly čiré, stejně tak nedošlo k tvorbě zákalu ani u výsledných směsí, určených k měření absorbance. Opět zde platí, že barevné vzorky a ty s potencionálním vyšším obsahem polyfenolů je lepší extrahovat ve 20 – 25 ml a nepigmentované vzorky v 10 – 15 ml směsi.

7.2 Výsledky kalibrační přímky

Průměrné hodnoty absorbancí pro každou koncentraci udává tabulka 3. Z hodnot v tabulce byla zhotovena kalibrační přímka. Hodnota spolehlivosti R^2 činila 0,9991 a rovnice lineární regrese má podobu: $y = 0,0015x + 0,0169$.

Tabulka 3 Průměrné naměřené hodnoty absorbance kyseliny gallové o různých koncentracích

c [mg.l ⁻¹]	Průměrná absorbance
0	0
50	0,110
100	0,175
200	0,320
400	0,630
600	0,935



Obrázek 41 Kalibrační přímka vyjadřující závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové

7.3 Výsledky spektrofotometrického stanovení polyfenolů

Pomocí spektrofotometru Lambda 25 byly měřeny absorbance vzorků, nejprve jsou uvedeny výsledky pro vzorky extrahované v metanolu a poté v extrakční směsi. První tabulka vázající se k danému typu extrakce obsahuje vždy naměřené absorbance, včetně jejich průměrné hodnoty. V druhé tabulce ke každému způsobu extrakce je uvedeno množství polyfenolů ve vzorcích vyjádřené ve formě kyseliny gallové v g.kg^{-1} .

7.3.1 Extrakce 24 hod metanolem

Tabulka 4 Naměřené absorbance extrakcí vzorků 24 hod v metanolu

Vzorek	Vz. č.	Navážka [g]	Objem metanolu [ml]	A ₁	A ₂	A ₃	ØA
Rýže černá natural	1	5,0018	10	0,870	0,884	0,888	0,881
	2	5,0092	10	0,843	0,844	0,848	0,845
Khaw Dam černá rýže	1	5,0018	25	0,601	0,595	0,596	0,598
	2	5,0003	25	0,540	0,541	0,540	0,541
Rýže červená natural	1	4,9964	10	0,612	0,613	0,614	0,613
	2	5,0114	10	0,611	0,610	0,612	0,611
Rýže červená	1	5,0057	10	0,685	0,688	0,689	0,687
	2	5,0012	10	0,702	0,7030	0,702	0,703
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	5,0031	25	0,602	0,605	0,606	0,604
	2	5,0010	25	0,576	0,575	0,577	0,576
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	5,0082	10	0,173	0,173	0,174	0,173
	2	5,0055	10	0,184	0,185	0,186	0,185
Lila Reis	1	5,0168	25	0,149	0,149	0,152	0,150
	2	5,0042	25	0,165	0,163	0,161	0,163
Rýže basmati natural	1	5,0004	25	0,087	0,089	0,087	0,088
	2	5,0066	25	0,075	0,075	0,074	0,075
Rýže dlouhozrná	1	5,0112	10	0,031	0,025	0,026	0,027
	2	5,0190	10	0,029	0,031	0,031	0,030
Bio mléčná rýže	1	5,0029	10	0,043	0,034	0,034	0,037
	2	5,0031	10	0,041	0,041	0,042	0,041
Bio červená pšenice	1	5,0207	10	0,370	0,368	0,366	0,368
	2	5,0189	10	0,384	0,384	0,383	0,384
Pšenice ozimá bio	1	5,0065	25	0,094	0,094	0,095	0,094
	2	5,0028	25	0,107	0,110	0,109	0,109
Pšenice špalda	1	5,0004	25	0,120	0,120	0,123	0,121
	2	5,0023	25	0,119	0,127	0,130	0,125
Grünkern	1	5,0048	10	0,422	0,418	0,418	0,419
	2	5,0078	10	0,463	0,465	0,467	0,465
Kamut zrno bio	1	4,9987	10	0,186	0,185	0,185	0,185
	2	4,9989	10	0,180	0,179	0,181	0,180

Tabulka 5 Hodnoty koncentrací polyfenolů – extrakce 24 hod metanolem

Vzorek	Číslo vzorku	ØA	Koncentrace polyfenolů ekv. GA [g.kg ⁻¹]	Průměrná hodnota koncentrace ± S.D. [g.kg ⁻¹]
Rýže černá natural	1	0,881	1,15	1,13 ± 0,02
	2	0,845	1,10	
Khaw Dam černá rýže	1	0,598	1,94	1,84 ± 0,10
	2	0,541	1,75	
Rýže červená natural	1	0,613	0,80	0,79 ± 0,00
	2	0,611	0,79	
Rýže červená	1	0,687	0,89	0,90 ± 0,01
	2	0,703	0,91	
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	0,604	1,96	1,91 ± 0,05
	2	0,576	1,86	
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	0,173	0,21	0,22 ± 0,01
	2	0,185	0,22	
Lila Reis	1	0,150	0,44	0,47 ± 0,02
	2	0,163	0,49	
Rýže basmati natural	1	0,088	0,24	0,21 ± 0,02
	2	0,075	0,19	
Rýže dlouhozrná	1	0,027	0,01	0,02 ± 0,00
	2	0,030	0,02	
Bio mléčná rýže	1	0,037	0,03	0,03 ± 0,00
	2	0,041	0,03	
Bio červená pšenice	1	0,368	0,47	0,48 ± 0,01
	2	0,384	0,49	
Pšenice ozimá bio	1	0,094	0,26	0,26 ± 0,00
	2	0,109	0,26	
Pšenice špalda	1	0,121	0,35	0,35 ± 0,00
	2	0,125	0,36	
Grünkern	1	0,419	0,54	0,57 ± 0,03
	2	0,465	0,60	
Kamut zrno bio	1	0,185	0,22	0,22 ± 0,00
	2	0,180	0,22	

ekv. GA – vyjádřeno v ekvivalentním množství kyseliny gallové

Nejvyšší koncentraci polyfenolů extrakcí vzorku metanolem po dobu 24 hod vykazovala jasmínová rýže z Thajska červená a to 1,91 g.kg⁻¹. O něco nižší obsah byl zjištěn u Khaw Dam černé rýže, kde byla průměrná hodnota 1,84 g.kg⁻¹. Výrazně nižší množství

obsahovala černá rýže natural, kde byly polyfenoly přítomny v množství $1,13 \text{ g.kg}^{-1}$, dále červená rýže s obsahem $0,90 \text{ g.kg}^{-1}$ a natural červená rýže $0,79 \text{ g.kg}^{-1}$. Lila Reis, kterou tvoří z 80 % bílá a z 20 % fialová rýže, obsahovala $0,47 \text{ g.kg}^{-1}$ polyfenolů. To je více než $0,22 \text{ g.kg}^{-1}$, které obsahovala jasmínová hnědá rýže a také více než $0,21 \text{ g.kg}^{-1}$, což bylo stanoveno u basmati natural rýže. Přestože u Lila Reis převládá bílá rýže, která je zbavena veškerých obalových vrstev a s nimi polyfenolů, vykazuje tento druh vyšší obsah polyfenolů oproti hnědé rýži, za což jsou zodpovědné přítomné antokyany dodávající fialové zbarvení. Bio mléčná rýže obsahovala $0,03 \text{ g.kg}^{-1}$ a zcela nejméně polyfenolů tímto způsobem extrakce bylo zjištěno u dlouhozrné rýže, $0,02 \text{ g.kg}^{-1}$. Poslední dva zmíněné druhy jsou bílé rýže, jejichž výrobní postup zahrnuje loupání a broušení, přičemž jsou zbaveny obalových vrstev včetně klíčku a protože v těchto částech je výskyt polyfenolických látek nejvyšší, obsahují jich nejméně.

Z druhů pšenic bylo nejvíce polyfenolů zjištěno u grünkernu $0,57 \text{ g.kg}^{-1}$. Výčet ostatních druhů je seřazen sestupně dle množství. Bio červená pšenice obsahovala $0,48 \text{ g.kg}^{-1}$, pšenice špalda $0,35 \text{ g.kg}^{-1}$, pšenice ozimá bio $0,26 \text{ g.kg}^{-1}$ a nejméně polyfenolů bylo stanoveno u bio kamutu, kde koncentrace činila $0,22 \text{ g.kg}^{-1}$.

Koncentrace vzorků, které byly extrahovány 24 hod v metanolu, jsou až na dva případy nižší v porovnání s koncentracemi, které byly získány po 1 hod extrakci v ultrazvukové lázni. Výjimkami jsou bio červená pšenice a grünkern, u kterých byl tímto způsobem stanoven vyšší obsah.

7.3.2 Extrakce 1 h metanolem v ultrazvuku

Tabulka 6 Naměřené absorbance extrakcí vzorků 1 hod v metanolu v ultrazvuku

Vzorek	Vz. č.	Navážka [g]	Objem metanolu [ml]	A ₁	A ₂	A ₃	ØA
Rýže černá natural	1	5,0069	10	0,970	0,973	0,974	0,972
	2	4,9999	10	0,897	0,906	0,908	0,904
Khaw Dam černá rýže	1	5,0096	25	0,666	0,670	0,671	0,669
	2	4,9985	25	0,616	0,616	0,617	0,616
Rýže červená natural	1	5,0056	25	0,483	0,482	0,483	0,483
	2	5,0041	25	0,429	0,429	0,428	0,428
Rýže červená	1	5,0032	25	0,401	0,401	0,401	0,401
	2	5,0094	25	0,396	0,395	0,397	0,396
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	5,0027	25	0,694	0,691	0,692	0,693
	2	5,0071	25	0,667	0,667	0,668	0,667
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	5,0074	10	0,228	0,228	0,228	0,228
	2	5,0075	10	0,227	0,228	0,228	0,228
Lila Reis	1	5,0044	10	0,433	0,428	0,427	0,401
	2	5,0005	10	0,354	0,353	0,351	0,351
Rýže basmati natural	1	4,9955	10	0,265	0,264	0,265	0,265
	2	5,0001	10	0,226	0,224	0,224	0,225
Rýže dlouhozrná	1	5,0014	25	0,075	0,070	0,071	0,072
	2	5,0133	25	0,033	0,033	0,033	0,033
Bio mléčná rýže	1	5,0092	10	0,049	0,054	0,071	0,058
	2	5,0034	10	0,072	0,070	0,069	0,070
Bio červená pšenice	1	5,0063	10	0,333	0,337	0,337	0,336
	2	5,0062	10	0,382	0,383	0,382	0,383
Pšenice ozimá bio	1	5,0069	25	0,129	0,127	0,129	0,128
	2	5,0069	25	0,140	0,138	0,138	0,139
Pšenice špalda	1	5,0003	25	0,148	0,144	0,144	0,145
	2	5,0002	25	0,131	0,129	0,130	0,130
Grünkern	1	5,0118	10	0,374	0,376	0,376	0,375
	2	5,0124	10	0,317	0,317	0,317	0,317
Kamut zrno bio	1	4,9942	10	0,320	0,320	0,321	0,320
	2	4,9994	10	0,317	0,316	0,316	0,316

Tabulka 7 Hodnoty koncentrací polyfenolů – extrakce 1 hod metanolem v ultrazvuku

Vzorek	Číslo vzorku	ØA	Koncentrace polyfenolů ekv. GA [g.kg ⁻¹]	Průměrná hodnota koncentrace ± S.D. [g.kg ⁻¹]
Rýže černá natural	1	0,972	1,27	1,23 ± 0,04
	2	0,904	1,18	
Khaw Dam černá rýže	1	0,669	2,17	2,08 ± 0,09
	2	0,616	2,00	
Rýže červená natural	1	0,483	1,55	1,46 ± 0,09
	2	0,428	1,37	
Rýže červená	1	0,401	1,28	1,27 ± 0,01
	2	0,396	1,26	
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	0,693	2,25	2,21 ± 0,04
	2	0,667	2,16	
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	0,228	0,28	0,28 ± 0,00
	2	0,228	0,28	
Lila Reis	1	0,401	0,51	0,48 ± 0,03
	2	0,351	0,45	
Rýže basmati natural	1	0,265	0,33	0,30 ± 0,03
	2	0,225	0,28	
Rýže dlouhozrná	1	0,072	0,18	0,12 ± 0,07
	2	0,033	0,05	
Bio mléčná rýže	1	0,058	0,06	0,06 ± 0,01
	2	0,070	0,07	
Bio červená pšenice	1	0,336	0,42	0,46 ± 0,03
	2	0,383	0,49	
Pšenice ozimá bio	1	0,128	0,37	0,39 ± 0,02
	2	0,139	0,41	
Pšenice špalda	1	0,145	0,43	0,40 ± 0,03
	2	0,130	0,38	
Grünkern	1	0,375	0,48	0,44 ± 0,04
	2	0,317	0,40	
Kamut zrno bio	1	0,320	0,40	0,40 ± 0,00
	2	0,316	0,40	

ekv. GA – vyjádřeno v ekvivalentním množství kyseliny gallové

Nejvyšší obsah polyfenolů byl opět stanoven u jasmínové červené rýže, množství činilo 2,21 g.kg⁻¹. Černá rýže Khaw Dam obsahovala 2,08 g.kg⁻¹ polyfenolů. Červená natural rýže obsahovala polyfenolické sloučeniny v množství 1,46 g.kg⁻¹ a červená rýže

1,27 g.kg⁻¹. Koncentrace u zmíněných druhů byly vyšší než u černé rýže natural, která obsahovala 1,23 g.kg⁻¹ polyfenolů. Tato množství jsou však stále poměrně výrazně vyšší než u předchozího způsobu extrakce.

Huang a Ng prováděli při stanovení celkového obsahu polyfenolů a flavonoidů extrakci tak, že 0,5 g vzorku bylo extrahováno ve 3 ml 80% metanolu. Po 20 min extrakce v ultrazvukové lázni při laboratorní teplotě, byl extrakt odstředován po dobu 5 min. Supernatant byl odebrán a zbylá usazenina byla stejným způsobem ještě dvakrát podrobena extrakci. Supernatanty získané třemi extrakcemi byly smíseny a použity k analýze. Stanovili koncentraci u dvou odrůd indické rýže červené a uvádí rozmezí 0,73 – 1,37 g.kg⁻¹. Měření bylo provedeno také u černé rýže, jedné japonské a jedné indické odrůdy. Rozmezí koncentrace polyfenolů činilo 0,91 – 1,78 g.kg⁻¹. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové. Vzorky byly extrahovány 80% metanolem po dobu 20 min v ultrazvuku a absorbance směsi byla měřena po 1 hod při 765 nm. Rozdílné hodnoty mohou být způsobeny např. kratší dobou extrakce či méně koncentrovaným metanolem [58]. Rýže Lila Reis obsahovala 0,48 g.kg⁻¹, basmati natural 0,30 g.kg⁻¹ a jasmínová rýže hnědá 0,28 g.kg⁻¹, tyto koncentrace nejsou již výrazněji vyšší, jako tomu bylo v případě červených druhů rýží, vzhledem k množství po extrakci probíhající 24 hod. Bio mléčná rýže obsahovala 0,06 g.kg⁻¹, méně než dlouhozrná 0,12 g.kg⁻¹. Huang a Ng měřili celkový obsah polyfenolů v 7 druzích japonské a indické bílé rýže a uvádí rozmezí 0,06 – 0,34 g.kg⁻¹. Vzorky byly opět extrahovány v 80% metanolu a absorbance směsi byla měřena po 1 hod při 765 nm [58]. Obecně jsou tedy polyfenolické látky v rýži metanolem lépe vyextrahovány po 1 hod v ultrazvukové lázni než po 24 hod na třepače.

Ragae et al. ve své studii stanovili obsah polyfenolických látek ve vzorcích, které byly extrahovány po dobu 30 min 80% metanolem. Absorbance byla měřena po 30 min při vlnové délce 725 nm. Koncentrace polyfenolů pro pšeničnou mouku je vyjádřena jako ekvivalent kyseliny gallové v rozmezí 0,50 – 0,56 g.kg⁻¹ [59]. U přítomných druhů pšenice bylo množství o něco nižší, nejvyšší obsah byl zjištěn u bio červené pšenice, 0,46 g.kg⁻¹, následoval grünkern s hodnotou 0,44 g.kg⁻¹, bio kamut obsahoval 0,40 g.kg⁻¹ polyfenolů, téměř stejně pšenice špalda 0,40 g.kg⁻¹ a nejnižší koncentraci 0,39 g.kg⁻¹ vykazovala pšenice ozimá bio.

7.3.3 Extrakce 24 hod směsí metanol:voda:kyselina chlorovodíková (80:18:2)

Tabulka 8 Naměřené absorbance extrakcí vzorků 24 hod extrakční směsí

Vzorek	Vz. č.	Navážka [g]	Objem ext. směsi [ml]	A ₁	A ₂	A ₃	ØA
Rýže černá natural	1	4,9957	25	0,728	0,724	0,729	0,727
	2	5,0027	25	0,677	0,676	0,679	0,678
Khaw Dam černá rýže	1	2,4999	25	0,567	0,565	0,566	0,566
	2	2,5006	25	0,566	0,567	0,569	0,567
Rýže červená natural	1	5,0067	25	0,496	0,495	0,496	0,496
	2	4,9988	25	0,496	0,498	0,495	0,496
Rýže červená	1	5,0010	25	0,608	0,608	0,609	0,608
	2	5,0037	25	0,578	0,582	0,584	0,581
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	5,0025	25	0,623	0,625	0,626	0,625
	2	5,0085	25	0,634	0,634	0,638	0,635
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	4,9954	10	0,340	0,301	0,304	0,315
	2	5,0072	10	0,327	0,325	0,326	0,326
Lila Reis	1	5,0011	10	0,604	0,604	0,608	0,605
	2	4,9972	10	0,585	0,585	0,586	0,585
Rýže basmati natural	1	4,9994	10	0,337	0,337	0,337	0,337
	2	5,0073	10	0,346	0,346	0,347	0,346
Rýže dlouhozrná	1	4,9993	10	0,166	0,179	0,164	0,170
	2	5,0060	10	0,207	0,208	0,207	0,207
Bio mléčná rýže	1	4,9978	10	0,158	0,150	0,153	0,154
	2	5,0040	10	0,146	0,131	0,132	0,136
Bio červená pšenice	1	5,0036	25	0,240	0,236	0,243	0,239
	2	5,0063	25	0,237	0,236	0,237	0,237
Pšenice ozimá bio	1	5,0024	25	0,130	0,130	0,132	0,131
	2	5,0012	25	0,141	0,139	0,141	0,140
Pšenice špalda	1	4,9990	25	0,186	0,182	0,186	0,185
	2	5,0063	25	0,189	0,182	0,184	0,185
Grünkern	1	5,0029	25	0,254	0,249	0,248	0,250
	2	4,9936	25	0,280	0,276	0,280	0,278
Kamut zrno bio	1	5,0022	25	0,222	0,215	0,227	0,221
	2	5,0004	25	0,232	0,225	0,226	0,228

Tabulka 9 Hodnoty koncentrací polyfenolů – extrakce 24 hod extrakční směsí

Vzorek	Číslo vzorku	ØA	Koncentrace polyfenolů ekv. GA [g.kg ⁻¹]	Průměrná hodnota koncentrace ± S.D. [g.kg ⁻¹]
Rýže černá natural	1	0,727	2,37	2,28 ± 0,08
	2	0,678	2,20	
Khaw Dam černá rýže	1	0,566	3,66	3,66 ± 0,00
	2	0,567	3,67	
Rýže červená natural	1	0,496	1,59	1,60 ± 0,00
	2	0,496	1,60	
Rýže červená	1	0,608	1,97	1,93 ± 0,05
	2	0,581	1,88	
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	0,625	2,02	2,04 ± 0,02
	2	0,635	2,06	
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	0,315	0,40	0,40 ± 0,00
	2	0,326	0,41	
Lila Reis	1	0,605	0,78	0,77 ± 0,01
	2	0,585	0,76	
Rýže basmati natural	1	0,337	0,43	0,43 ± 0,00
	2	0,346	0,44	
Rýže dlouhozrná	1	0,170	0,20	0,23 ± 0,02
	2	0,207	0,25	
Bio mléčná rýže	1	0,154	0,18	0,17 ± 0,01
	2	0,136	0,16	
Bio červená pšenice	1	0,239	0,74	0,74 ± 0,00
	2	0,237	0,73	
Pšenice ozimá bio	1	0,131	0,38	0,39 ± 0,02
	2	0,140	0,41	
Pšenice špalda	1	0,185	0,56	0,56 ± 0,00
	2	0,185	0,56	
Grünkern	1	0,250	0,78	0,82 ± 0,05
	2	0,278	0,87	
Kamut zrno bio	1	0,221	0,68	0,69 ± 0,01
	2	0,228	0,70	

ekv. GA – vyjádřeno v ekvivalentním množství kyseliny gallové

Po 24 hod extrakci ve směsi metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové byla nejvyšší koncentrace polyfenolů naměřena u černé rýže Khaw Dam, toto množství činilo 3,66 g.kg⁻¹. Pro tuto rýži bylo tímto způsobem extrakce naměřeno nejvyšší množství.

Přibližně o 1 g méně polyfenolů na kg vzorku bylo zjištěno u černé rýže natural, kde jich bylo přesně 2,28 g.kg⁻¹. Shen et al. stanovili koncentraci u celkem 6 druhů černé rýže a jako průměrný obsah je uvedeno 10,557 g.kg⁻¹, množství je vyjádřeno jako ekvivalent kyseliny gallové. Extrakce vzorků probíhala také 24 hod v metanolu obsahujícím 1 % kyseliny chlorovodíkové. Měření absorbance směsi však bylo provedeno po 2 hod [60]. Červené rýže vykazovaly nižší koncentraci polyfenolů než černé, nejvíce z nich jasmínová rýže červená, která obsahovala 2,04 g.kg⁻¹, dále červená rýže 1,93 g.kg⁻¹ a nejméně červená rýže natural, 1,60 g.kg⁻¹. Hodnota je opět nižší, pokud ji porovnáme s průměrnou hodnotou 4,701 g.kg⁻¹, kterou zjistili Shen et al., za podmínek stanovení uvedených výše [60]. Lila Reis obsahovala 0,77 g.kg⁻¹ polyfenolů, což bylo více, než bylo zjištěno u basmati natural rýže, kde bylo 0,43 g.kg⁻¹ a také u jasmínové rýže hnědé, která obsahovala 0,40 g.kg⁻¹. Touto extrakcí byly koncentrace polyfenolů u basmati a jasmínové hnědé rýže nejvyšší. Celkově nejnižší hodnota polyfenolů 24 hod extrakcí směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové byla zjištěna u bio mléčné rýže, toto množství činilo 0,17 g.kg⁻¹. Podobně nízká koncentrace byla opět naměřena u druhé nepigmentované rýže, dlouhozrné rýže, která obsahovala 0,23 g.kg⁻¹ polyfenolických sloučenin. Shen et al. ve své studii uvádí, kde bylo měřeno celkem 423 druhů bílé rýže jako průměrnou hodnotu celkového množství polyfenolů 1,518 g.kg⁻¹. Extrakce zde probíhala také 24 hod v metanolu s 1 % kyseliny chlorovodíkové a měření absorbance směsi bylo prováděno po 2 hod [58].

Z druhů pšenice vykazoval nejvyšší koncentraci polyfenolů grünkern a to 0,82 g.kg⁻¹, poté bio červená pšenice 0,74 g.kg⁻¹, bio kamut obsahoval 0,69 g.kg⁻¹ a pšenice špalda obsahovala 0,56 g.kg⁻¹. Nejméně polyfenolických sloučenin bylo zjištěno v pšenici ozimé bio, 0,39 g.kg⁻¹. Pro kamut, jako jediný druh pšenice, bylo touto extrakcí zjištěno nejvyšší množství polyfenolů.

7.3.4 Extrakce 1 hod směsí metanol:voda:kyselina chlorovodíková (80:18:2) v ultrazvuku

Tabulka 10 Naměřené absorbance extrakcí vzorků extrakční směsí v ultrazvuku

Vzorek	Vz. č.	Navážka [g]	Objem ext. směsi [ml]	A ₁	A ₂	A ₃	ØA
Rýže černá natural	1	5,0029	25	0,874	0,877	0,877	0,876
	2	4,9995	25	0,860	0,847	0,848	0,852
Khaw Dam černá rýže	1	5,0065	25	0,967	0,964	0,967	0,966
	2	4,9973	25	0,963	0,965	0,965	0,964
Rýže červená natural	1	4,9980	25	0,596	0,594	0,595	0,595
	2	5,0063	25	0,552	0,550	0,551	0,551
Rýže červená	1	5,0082	25	0,689	0,691	0,692	0,691
	2	5,0056	25	0,701	0,701	0,701	0,701
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	5,0002	25	0,875	0,858	0,860	0,864
	2	4,9961	25	0,863	0,865	0,866	0,865
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	4,9995	10	0,303	0,303	0,302	0,302
	2	5,0030	10	0,290	0,289	0,288	0,289
Lila Reis	1	4,9965	10	0,659	0,653	0,653	0,655
	2	4,9990	10	0,681	0,680	0,680	0,680
Rýže basmati natural	1	4,9989	10	0,331	0,325	0,323	0,326
	2	5,0035	10	0,349	0,345	0,350	0,348
Rýže dlouhozrná	1	4,9983	10	0,199	0,187	0,192	0,193
	2	4,9956	10	0,223	0,223	0,226	0,224
Bio mléčná rýže	1	4,9952	10	0,194	0,186	0,183	0,187
	2	4,9960	10	0,156	0,155	0,156	0,156
Bio červená pšenice	1	4,9963	25	0,263	0,253	0,286	0,268
	2	5,0082	25	0,235	0,254	0,235	0,241
Pšenice ozimá bio	1	5,0021	10	0,432	0,420	0,487	0,446
	2	5,0099	10	0,491	0,482	0,465	0,479
Pšenice špalda	1	5,0016	10	0,499	0,502	0,499	0,500
	2	5,0049	10	0,501	0,506	0,504	0,504
Grünkern	1	5,0017	25	0,243	0,244	0,246	0,244
	2	5,0030	25	0,294	0,292	0,289	0,291
Kamut zrno bio	1	4,9997	25	0,161	0,158	0,166	0,162
	2	5,0020	25	0,238	0,241	0,235	0,244

Tabulka 11 Hodnoty koncentrací polyfenolů – extrakce 1 hod extrakční směsí v ultrazvuku

Vzorek	Číslo vzorku	ØA	Koncentrace polyfenolů ekv. GA [g.kg ⁻¹]	Průměrná hodnota koncentrace ± S.D. [g.kg ⁻¹]
Rýže černá natural	1	0,876	2,86	2,82 ± 0,04
	2	0,852	2,78	
Khaw Dam černá rýže	1	0,966	3,16	3,16 ± 0,00
	2	0,964	3,16	
Rýže červená natural	1	0,595	1,93	1,85 ± 0,07
	2	0,551	1,78	
Rýže červená	1	0,691	2,24	2,26 ± 0,02
	2	0,701	2,28	
Jasmínová rýže z Thajska červená	1	0,864	2,82	2,83 ± 0,00
	2	0,865	2,83	
Jasmínová rýže z Thajska hnědá	1	0,302	0,38	0,37 ± 0,01
	2	0,289	0,36	
Lila Reis	1	0,655	0,85	0,87 ± 0,02
	2	0,680	0,88	
Rýže basmati natural	1	0,326	0,41	0,43 ± 0,01
	2	0,348	0,44	
Rýže dlouhozrná	1	0,193	0,23	0,25 ± 0,01
	2	0,224	0,26	
Bio mléčná rýže	1	0,187	0,23	0,21 ± 0,02
	2	0,156	0,19	
Bio červená pšenice	1	0,268	0,84	0,79 ± 0,05
	2	0,241	0,75	
Pšenice ozimá bio	1	0,446	0,57	0,59 ± 0,02
	2	0,479	0,62	
Pšenice špalda	1	0,500	0,64	0,65 ± 0,00
	2	0,504	0,65	
Grünkern	1	0,244	0,76	0,84 ± 0,08
	2	0,291	0,91	
Kamut zrno bio	1	0,162	0,48	0,62 ± 0,14
	2	0,244	0,76	

ekv. GA – vyjádřeno v ekvivalentním množství kyseliny gallové

Černá rýže Khaw Dam byla i po 1 hod extrakci směsí metanolu, vody a kyseliny chlorovodíkové vzorkem s nejvyšší koncentrací polyfenolů, která činila 3,16 g.kg⁻¹. Podobně vysoké hodnoty byly zjištěny u červené jasmínové rýže, což bylo 2,83 g.kg⁻¹

a u natural černé rýže $2,82 \text{ g.kg}^{-1}$. Nižší koncentraci vykazovala červená rýže $2,26 \text{ g.kg}^{-1}$ a natural červená rýže obsahovala $1,85 \text{ g.kg}^{-1}$. Ostatní rýže již obsahovaly méně než 1 g.kg^{-1} u rýže Lila Reis to bylo $0,87 \text{ g.kg}^{-1}$. Pro zmíněné rýže s výjimkou Khaw Dam, byla extrakce po dobu 1 hod v ultrazvukové lázni nejúčinnější, výsledkem byly nejvyšší koncentrace polyfenolů. Basmati rýže obsahovala $0,43 \text{ g.kg}^{-1}$ polyfenolických látek a jasmínová hnedá rýže $0,37 \text{ g.kg}^{-1}$. Nejnižší množství vykazovaly samozřejmě bílé rýže, dlouhozrnná obsahovala $0,25 \text{ g.kg}^{-1}$ a bio mléčná rýže $0,21 \text{ g.kg}^{-1}$. Koncentrace polyfenolů u bílých rýží však byly tímto způsobem extrakce opět nejvyšší.

Grünkern obsahoval $0,84 \text{ g.kg}^{-1}$ polyfenolů, nejvíce z druhů pšeníc. Hodnota je téměř dvojnásobná, pokud ji porovnáme s koncentrací, která byla získána po 1 hod extrakci pouze metanolem. O něco nižší obsah byl zjištěn u bio červené pšenice $0,79 \text{ g.kg}^{-1}$, pšenice špalda obsahovala $0,65 \text{ g.kg}^{-1}$, kamut obsahoval $0,62 \text{ g.kg}^{-1}$ a nejnižší koncentraci polyfenolů z pšeníc měla pšenice ozimá bio, $0,59 \text{ g.kg}^{-1}$. S výjimkou kamutu byly nejvyšší koncentrace polyfenolických sloučenin u analyzovaných druhů pšeníc stanoveny tímto způsobem extrakce.

ZÁVĚR

Použitím Folin-Ciocalteuovy metody byly u různých druhů rýže a pšenice stanoveny koncentrace polyfenolických látek, které jsou v cereáliích významnými nositeli nejen antioxidačního účinku. Bylo provedeno spektrofotometrické měření absorbance směsi se vzorky, které byly extrahovány čtyřmi způsoby, a po kalibraci byla stanovena koncentrace polyfenolů. Pro extrakci byl použit metanol a směs metanol:voda:kyselina chlorovodíková v poměru 80:18:2 a vzorky byly extrahovány vždy buď 1 hod v ultrazvukové lázni či 24 hod na třepačce.

Co se týče jednotlivých metod extrakce, nelze říci, že by byl pouze jeden způsob nejvhodnější pro všechny vzorky rýží a pšenic. Obecně se ale jeví jako vhodnější extrakční směs metanol:voda:kyselina chlorovodíková (80:18:2), neboť koncentrace polyfenolických látek všech vzorků extrahovaných touto směsí byly vyšší, než byly-li extrahovány pouze metanolem. U většiny vzorků byl vyšší obsah polyfenolů zjištěn po 1 hod extrakci v ultrazvukové lázni a pouze u některých po 24 hod na třepačce. Koncentrace získané extrakcí metanolem byly tedy vždy nižší ve srovnání s extrakční směsí, ale až na dva vzorky pšenic bylo získáno vyšších obsahů vždy po 1 hod extrakci metanolem v ultrazvukové lázni oproti 24 hod extrakci.

Stanovením Folin-Ciocalteuovou metodou bylo zjištěno, že pigmentované vzorky cereálií jsou bohatší na obsah polyfenolů. Zcela nejvíce jich obsahovaly barevné vzorky rýže, konkrétně u černé rýže Khaw Dam bylo obsaženo až $3,66 \text{ g.kg}^{-1}$, významné množství obsahovaly také červené rýže či rýže Lila Reis, která byla tvořena směsí fialové rýže s bílou. Dále bylo zjištěno, že bílé vzorky rýže, které jsou zcela zbaveny obalových vrstev, obsahují polyfenolů velmi málo, méně než vzorky pšenic. Z pšenic bylo nejvyšší množství polyfenolů zjištěno u grünkernu či u bio červené pšenice a nejméně obsahovala pšenice ozimá bio či zrno bio kamutu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] TOPPING, David. Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *Journal of Cereal Science* [online]. 2007, 3 (46). ISSN 0733-5210. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521007001178>
- [2] DENG, Gui-Fang et al. Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *Journal of Functional Foods* [online]. 2012, 4 (4). ISSN 1756-4646. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461200103X>
- [3] HRABĚ, Jan, Ignác HOZA a Otakar ROP. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: bakalářský stupeň*. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. ISBN 80-7318-372-2
- [4] SERNA-SALDIVAR, Sergio O. *Cereal Grains: Laboratory Reference and Procedures Manual*. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 978-1-4398-5565-2.
- [5] KOPÁČOVÁ, Olga. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007. ISBN 978-80-7271-184-0
- [6] HÖGY, Petra a Andreas FANGMEIER. Effects of elevated atmospheric CO₂ on grain quality of wheat. *Journal of Cereal Science* [online]. 2008, 3 (48). ISSN 0733-5210. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521008000428>
- [7] *Novel Food and Feed Safety SET 1: Safety Assessment of Transgenic Organisms OECD Consensus Documents Volumes 1 and 2: OECD Consensus Documents Volumes 1 and 2*. Paris: OECD Publishing, 2008, ISBN 92-64-02258-9
- [8] UCKO, Peter John and Geoffrey William DIMBLEBY. *The Domestication and Exploitation of Plants and Animals*. New Brunswick: Transaction Publishers, 2007. ISBN 978-0-202-36169-7
- [9] Obrázek – *Triticum aestivum* (pšenice setá). *Biolib.cz* [online]. © 1999-2013 [cit. 2013-03-10]. Dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/image/id34821/>

- [10] SCHOBER, Tilman J., Scott R. BEAN a Manfred KUHN. Gluten proteins from spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) cultivars: A rheological and size-exclusion high-performance liquid chromatography study. *Journal of Cereal Science* [online]. 2006, 2 (44). ISSN 0733-5210. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521006000798>
- [11] MUÑOZ-INSA, Alicia et al. Malting process optimization of spelt (*Triticum spelta* L.) for the brewing proces. *LWT – Food Science and Technology* [online]. 2013, 1 (50). ISSN 0023-6438. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812002769>
- [12] *Triticum spelta*. *Botanik im Bild* [online]. 2009-02-14 [cit. 2013-03-10]. Dostupné z: <http://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Triticum-spelta.htm>
- [13] SUKOVÁ, Irena. *Zařízení na loupání špaldy* [online]. 2010-05-12 [cit. 20.3.2013] Dostupné z: <http://agronavigator.cz/default.asp?ids=156&ch=13&typ=1&val=101027>
- [14] PUUMALAINEN, Tuija, Heli NYKOPP a Hely TUORILA. Old Product in a New Context: Importance of the Type of Dish for the Acceptance of Grünkern, a Spelt-Based Traditional Cereal. *LWT – Food Science and Technology* [online]. 2002, 6, (35). ISSN 0023-6438. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643802909102>
- [15] BERÁNKOVÁ, Jana. *Staronový kamut je velmi výživný* [online]. 2009-03-22 [cit. 20.3.2013]. Dostupné z: <http://agronavigator.cz/default.asp?ids=104&ch=1&typ=1&val=89344>
- [16] *Triticum polonicum*. *Botanik im Bild* [online]. 2009-02-14 [cit. 2013-03-12]. Dostupné z: <http://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Triticum-polonicum.htm>
- [17] KALOUMENOS, Nikolaos S. et al. Red rice (*Oryza sativa*) cross-resistance to imidazolinone herbicides used in resistant rice cultivars grown in northern Greece. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 2013, ISSN 0048-3575. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357513000229>

- [18] SHIVRAIN, Vinod K. et al. Diversity of weedy red rice (*Oryza sativa* L.) in Arkansas, U.S.A. in relation to weed management. *Crop Protection* [online]. 2010, 7 (29). ISSN 0261-2194. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219410000347>
- [19] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. 1. vydání. Tábor: OSSIS, 1999, ISBN 80-902391-3-7
- [20] SOMPONG, R. et al. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry* [online]. 2011, 1 (124). ISSN 0308-8146. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610006989>
- [21] *Oryza sativa*. *Biopix.com* [online]. 2013-08 [cit. 2013-03-12]. Dostupné z:
http://www.biopix.com/oryza-sativa_photo-86016.aspx
- [22] PŘÍHODA, Josef, Pavel SKŘIVAN a Marie HRUŠKOVÁ. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2004. ISBN 80-7080-530-7
- [23] FRANCIS, Frederick J. *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology: Volume 1*. 2. vydání. New York: John Wiley & Sons, 1999, ISBN 0-471-19255-4
- [24] DEMAN, John M. *Principles of Food Chemistry*. 3. vydání. Gaithersburg: Springer, 1999. ISBN 0-8342-1234-X
- [25] SHEWRY, Peter R. Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science* [online]. 2007, 3 (46). ISSN 0733-5210. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073352100700118X>
- [26] KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie – Překlad*. 4. vydání. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0
- [27] BURANOV, Anvar U. a Giuseppe MAZZA. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products* [online]. 2008, 3 (28). ISSN 0926-6690. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669008000630#>
- [28] HOUSTON, D. F. a G. O. KOHLER. *Nutritional properties of Rice*. Washington, D. C.: National academy of Sciences, 1970.
- [29] BARTHOLE, Guillaume et al. Controlling lipid accumulation in cereal grains. *Plant Science* [online]. 2012, (185-186). ISSN 0168-9452. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945211002676>

- [30] KITTA, Kazumi et al. Variations in lipid content and fatty acid composition of major non-glutinous rice cultivars in Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2005, 4 (18). ISSN 0889-1575. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157504001668>
- [31] MOHAMED, Abdellatif et al. Phospholipids and wheat gluten blends: interaction and kinetics. *Journal of Cereal Science* [online]. 2005, 3 (41). ISSN 0733-5210. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521004000918>
- [32] NÉRON, Stéphane et al. Separation and quantification by high-performance liquid chromatography with light scattering detection of the main wheat flour phospholipids during dough mixing in the presence of phospholipase. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, 1 (1047). ISSN 0021-9673. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196730401074X>
- [33] LIU, Lei et al. Phospholipids in rice: Significance in grain quality and health benefits: A review. *Food Chemistry* [online]. 2013, 1-4 (139). ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613000150>
- [34] FARDET, Antöony, Edmond ROCK a Christian RÉMÉSY. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *Journal of Cereal Science* [online]. 2008, 2 (48). ISSN 0733-5210. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521008000209>
- [35] MUÑOZ, Ociel et al. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet Study. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2005, 11 (43). ISSN 0278-6915. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691505001511>
- [36] NDOLO, Victoria U. a Trust BETA. Distribution of carotenoids in endosperm, germ, and aleurone fractions of cereal grain kernels. *Food Chemistry* [online]. 2013, 1-4 (139). ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613000344>
- [37] LEVER, Michael a Sandy SLOW. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. *Clinical Biochemistry* [online]. 2010, 9 (43). ISSN 0009-9120. Dostupné z:

- <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009912010001037>
- [38] MA GARCÍA-ESTEPA, Rosa, Eduardo GUERRA-HERNÁNDEZ a Belén GARCÍA-VILLANOVA. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food Research International* [online]. 1999, 3 (32). ISSN 0963-9969. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996999000927>
- [39] SPIGNO, Giorgia, Lorenza TRAMELLI a Dante M. DE FAVERI. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* [online]. 2007, 1 (81). ISSN 0260-8774. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877406006649>
- [40] HOLEČEK, Václav. Oxidační stress u nádorových onemocnění. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2010, 18 (39) Dostupné z:
<http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2010/2010-4/2010-4-225-Holecek.pdf>
- [41] HOPPS, Eugenia et al. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* [online]. 2010, 1 (20). ISSN 0939-4753. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939475309001409>
- [42] NACZK, Marian a Fereidoon SHAHIDI. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2006, 5 (41). ISSN 0731-7085. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708506003062>
- [43] HEGDE, Muralidhar L. et al. Challenges Associated with Metal Chelation Therapy in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2009, 3 (17). ISSN 1875-8908. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2931820/>
- [44] DYKES, Linda a Lloyd W. ROONEY. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World* [online]. 2007, 3 (52). ISSN 0146-6283. Dostupné z:
<http://www.nulifemarket.com/media/files/CFWPhenolicCompoundsCerealGrainsTheirHealthBenefits.pdf>

- [45] CICCIO, Nunzia et al. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal*. [online]. 2009, 1 (91). ISSN 0026-265X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X08001070>
- [46] Folin-Ciocalteu's phenol reagent. *Sigma-aldrich.com* [online]. © 2013 [cit. 2013-03-29]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Datasheet/6/47641dat./Par.0001.File.tmp/47641dat.pdf>
- [47] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga Valentová. *Laboratorní techniky biochemie*. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2006. ISBN 80-7080-586-2
- [48] ROSINA, Jozef, Hana KOLÁŘOVÁ a Jiří STANEK. *Biofyzika pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2006. ISBN 80-247-1383-7
- [49] VOLKA, Karel, Marcela TKADLECOVÁ a Kamil ZÁRUBA. *Příklady z analytické chemie pro bakaláře*. 2. vydání. Praha: VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-743-9
- [50] Naše přístroje: UV/Vis spektrofotometr Lambda 25. *vtupup.cz* [online]. © 2012 [cit. 2013-03-15]. Dostupné z: http://www.vtupup.cz/common/manual/LF_umikrob_PerkinElmer_Lambda25_/manual_EN.pdf
- [51] Khaw Dam – Schwarzer Reis. *Gepa-shop.de* [online]. [cit. 2013-03-29]. Dostupné z: <http://www.gepa-shop.de//index.php/mID/1.9.2/aID/6ace249ee8711f06401222b105155351/detail/on/lan/de>
- [52] Rýže červená Biolinie. *Bio-eko-logicky.cz* [online]. [cit. 2013-03-29]. Dostupné z: <http://www.bio-eko-logicky.cz/ryze-cervena-903001.html>
- [53] Lila Reis. *Gepa-shop.de* [online]. [cit. 2013-03-30]. Dostupné z: <http://www.gepa-shop.de/index.php/mID/1.9.2/aID/2e7250aaf65bddd000eef7aefe1e171f/detail/on/lan/de>
- [54] Bio rýže mléčná bílá 500 g. *Biokvalita.cz* [online]. [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.biokvalita.cz/Biopotraviny/Obilniny-Ryze-Vlacky/Ryze/Bio-ryze-MLECNA-bila-500g>

- [55] Bio červená pšenice z Jižní Moravy 500 g. *Biokvalita.cz* [online]. [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.biokvalita.cz/Biopotraviny/Obilniny-Ryze-Vlocky/Bio-CERVENA-PSENICE-z-Jizni-Moravy-500g>
- [56] Pšenice ozimá zrno 1 kg bio. *Countrylife.cz* [online]. © 1992 – 2012 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/psenice-ozima-zrno-1-kg-bio-country-life>
- [57] Kamut (R) zrno 500 g bio. *Countrylife.cz* [online]. © 1992 – 2012 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.countrylife.cz/kamut-r-zrno-500-g-bio-country-life>
- [58] HUANG, Shao-Hua a Lean-Teik, NG. Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2012, 1-2 (26). ISSN 0889-1575. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157512000506?np=y>
- [59] RAGAEI, Sanaa, El-Sayed M. ABDEL-AAL a Maher NOAMAN. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry* [online]. 2006, 1 (98). ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605004632?np=y>
- [60] SHEN, Yun et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science* [online]. 2009, 1 (49). ISSN 0733-5210. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521008001331?np=y#tblfn1>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MK	Mastné kyseliny.
NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfát.
UV	Ultraviolet (ultrafialové).
UV-VIS	Ultraviolet-visible (ultrafialové viditelné)
S.D.	Standard deviation (směrodatná odchylka)
ekv. GA	Ekvivalentní množství kyseliny gallové

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Morfologická skladba obilného zrna	13
Obrázek 2 Pšenice obecná (<i>Triticum aestivum</i>)	14
Obrázek 3 Pšenice špalda (<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>spelta</i>)	15
Obrázek 4 Kamut (<i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>polonicum</i>)	16
Obrázek 5 Rýže setá (<i>Oryza sativa</i>)	17
Obrázek 6 Optická dráha spektrofotometru Lambda 25	35
Obrázek 7 Rýže černá natural	39
Obrázek 8 Celá zrna rýže černé natural	39
Obrázek 9 Khaw Dam černá rýže	40
Obrázek 10 Khaw Dam černá rýže – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	40
Obrázek 11 Rýže červená natural	40
Obrázek 12 Rýže červená natural – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	41
Obrázek 13 Rýže červená	41
Obrázek 14 Rýže červená – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	41
Obrázek 15 Jasmínová rýže z Thajska červená	42
Obrázek 16 Jasmínová rýže z Thajska červená – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	42
Obrázek 17 Jasmínová rýže z Thajska hnědá	43
Obrázek 18 Jasmínová rýže z Thajska hnědá – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	43
Obrázek 19 Lila Reis	44
Obrázek 20 Lila Reis – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	44
Obrázek 21 Rýže basmati natural	44
Obrázek 22 Rýže basmati natural – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	45
Obrázek 23 Rýže dlouhozrná	45
Obrázek 24 Mletá zrna rýže dlouhozrné	45
Obrázek 25 Bio mléčná rýže	46
Obrázek 26 Bio mléčná rýže – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	46
Obrázek 27 Bio červená pšenice	47
Obrázek 28 Bio červená pšenice – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	47
Obrázek 29 Pšenice ozimá bio	47
Obrázek 30 Celá zrna pšenice ozimé bio	48

Obrázek 31 Pšenice špalda	48
Obrázek 32 Celá zrna pšenice špaldy	48
Obrázek 33 Grünkern	49
Obrázek 34 Grünkern – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo).....	49
Obrázek 35 Kamut zrno bio.....	50
Obrázek 36 Kamut zrno bio – celá zrna (nalevo) a mletá zrna (napravo)	50
Obrázek 37 Ultrazvuková lázeň.....	52
Obrázek 38 Odstředivka	53
Obrázek 39 Filtrace extraktů.....	53
Obrázek 40 Spektrofotometr Lambda 25.....	54
Obrázek 46 Kalibrační přímka vyjadřující závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové.....	56

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Množství esenciálních aminokyselin obsažená v pšenici a rýži v g.100 g ⁻¹ bílkovin.....	19
Tabulka 2 Potravinové zdroje polyfenolů.....	30
Tabulka 3 Průměrné naměřené hodnoty absorpance kyseliny gallové o různých koncentracích.....	56
Tabulka 4 Naměřené absorpance extrakcí vzorků 24 hod v metanolu.....	58
Tabulka 5 Hodnoty koncentrací polyfenolů - extrakce 24 hod metanolem.....	59
Tabulka 6 Naměřené absorpance extrakcí vzorků 1 hod v metanolu v ultrazvuku.....	61
Tabulka 7 Hodnoty koncentrací polyfenolů - extrakce 1 hod metanolem v ultrazvuku.....	62
Tabulka 8 Naměřené absorpance extrakcí vzorků 24 hod extrakční směsí.....	64
Tabulka 9 Hodnoty koncentrací polyfenolů - extrakce 24 hod extrakční směsí.....	65
Tabulka 10 Naměřené absorpance extrakcí vzorků extrakční směsí v ultrazvuku.....	67
Tabulka 11 Hodnoty koncentrací polyfenolů - extrakce 1 hod extrakční směsí v ultrazvuku.....	68

