

Možnosti využití ABTS metody v oblasti cereálních technologií

Gabriela Kuřová

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Gabriela KUFOVÁ**

Osobní číslo: **T08336**

Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Možnost využití ABTS metody v oblasti cereálních technologií**

Zásady pro vypracování:

1. Charakterizace a princip ABTS metody pro stanovení antioxidační aktivity.
2. Další možnosti stanovení antioxidační aktivity v potravinách.
3. Využití ABTS metody v oblasti potravinářství, cereálií a cereálních technologií.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] KUČEROVÁ, J. Technologie cereálií, Mendelova zemědělnická a lesnická univerzita v Brně, Brno 2004.

[2] PRUGAR, J. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí, VÚPS, Praha 2008.

[3] SERPEN, A., GOKMEN, V., PELLEGRINI, N., FOGLIANO, V. Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products, Journal Of Cereal Science, 2008.

[4] RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Biology & Medicine, 1999.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 12. dubna 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



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

Příjmení a jméno: KUFOVÁ GABRIELA

Obor: CHEMIE A TECHNOLOGIE
POTRAVIN

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 16. 5. 2011

Kufová

²⁾ 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 nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

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

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

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

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

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

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

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

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku 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 přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá cereáliemi, jejich složením a nejvýznamnějšími obilovinami. Dále je pozornost věnována možnostem stanovení jejich antioxidační aktivity se zaměřením na metodu ABTS, uvedeno je i stanovení antioxidační aktivity v oblasti cereálních a potravinářských technologií.

Klíčová slova: cereálie, antioxidační aktivita, ABTS

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with cereals, their structure and the best known kinds of cereals. It is focused mainly on their antioxidant activity, especially the ABTS method. It also indicates the appropriate antioxidant activity in the field of cereal and food industry technologies.

Keywords: cereals, antioxidant activity, ABTS

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce paní Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné rady a trpělivost při kompletaci mé bakalářské práce. Také děkuji své rodině a přátelům za podporu při studiu.

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

Ve Zlíně

.....

podpis studenta

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| ÚVOD | 10 |
| I TEORETICKÁ ČÁST | 11 |
| 1 CEREÁLIE | 12 |
| 1.1 SLOŽENÍ A ANATOMICKÁ STAVBA OBILKY | 12 |
| 1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OBILNÉHO ZRNA | 13 |
| 1.2.1 Významné antioxidanty obilného zrna..... | 14 |
| 1.2.1.1 Flavonoidy | 15 |
| 1.2.1.2 Vitamin E..... | 15 |
| 1.2.1.3 Vitamin C..... | 15 |
| 1.2.1.4 β -karoten | 15 |
| 1.3 VÝZNAMNÉ OBILOVINY | 15 |
| 1.3.1 Pšenice..... | 16 |
| 1.3.2 Ječmen..... | 17 |
| 1.3.3 Oves..... | 17 |
| 1.3.4 Kukuřice | 18 |
| 1.3.5 Rýže..... | 19 |
| 1.3.6 Pohanka | 19 |
| 2 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA | 20 |
| 2.1 ANTIOXIDANTY | 20 |
| 2.2 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA | 20 |
| 2.3 NEJČASTĚJŠÍ METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY..... | 21 |
| 2.3.1 Metody založené na eliminaci radikálů..... | 22 |
| 2.3.1.1 Metoda ABTS | 22 |
| 2.3.1.2 Metoda DPPH | 23 |
| 2.3.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek..... | 23 |
| 2.3.3 Chemické metody..... | 23 |
| 2.3.3.1 Metoda FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power) | 23 |
| 2.3.3.2 Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) | 24 |
| 3 METODA ABTS | 25 |
| 4 VYUŽITÍ METODY ABTS V OBLASTI CEREÁLNÍCH TECHNOLOGIÍ | 27 |
| 4.1 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY OBILNÝCH PRODUKTŮ | 27 |
| 4.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY JEČMENE, PROSA, ŽITA A ČIROKU | 29 |
| 4.3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA V RÝŽOVÉM ZRNU A JEJÍ VZTAH K BARVĚ, VELIKOSTI A HMOTNOSTI ZRNA | 30 |
| 4.4 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY RÝŽOVÝCH OTRUB | 31 |
| 4.5 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY PŠEŇIČNÝCH KLÍČKŮ | 33 |
| 4.6 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY V KUKUŘICI..... | 34 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5 | VYUŽITÍ METODY ABTS V POTRAVINÁŘSKÉ OBLASTI..... | 35 |
| 5.1 | ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA NĚKOLIKA DRUHŮ KÁV | 35 |
| 5.2 | ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA KAKAOVÝCH VÝROBKŮ | 36 |
| 5.3 | STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VÍN | 37 |
| 5.4 | CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA CHLEBA..... | 38 |
| 5.5 | STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VE VYBRANÝCH OVOCNÝCH SEMENECH..... | 39 |
| | ZÁVĚR | 40 |
| | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 41 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK..... | 45 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ | 46 |
| | SEZNAM TABULEK..... | 47 |

ÚVOD

Obiloviny jsou rostliny, které ve svých semenech obsahují důležité živiny. Už v dávné minulosti lidé vnímali jejich pozitivní účinek na organismus. Dnes představují pro větší část lidstva základní a nejdůležitější potravinu, která je zdrojem sacharidů, bílkovin, minerálních látek, vitaminů a také vlákniny. Obilná zrna jsou konzumována přímo nebo mleta na mouku, většinou se používají celá zrna. Po odstranění vnějších vrstev získáme jemnou mouku, která ovšem nemá tak pozitivní vliv na naše zdraví. Právě proto je doporučováno konzumovat výrobky obsahující celá zrna, klíčky a otruby, také müsli a ovesné vločky. Obiloviny by měly tvořit více než 50 % celého jídelníčku, a to v co nejvíce v přirozené podobě.

Mezi nejznámější obiloviny patří pšenice, žito, oves a ječmen, které jsou zpracovávány především na mouku. V dnešní době si můžeme vybírat z nejrůznějších druhů cereálních výrobků. Do popředí se dostávají také pseudocereálie jako jsou pohanka, amarant. Tyto jsou označovány jako nepravé obiloviny, nahrazují a doplňují sortiment běžných obilovin. Jelikož neobsahují lepek, používají se také jako součást racionální výživy a léčebných diet. Cereálie jsou významnými antioxidanty a chrání tělo před vnějšími vlivy. Antioxidační aktivitu lze stanovit několika metodami. Nejčastěji se jedná o přímou reakci s radikály, zhášení nebo o reakci s přechodnými kovy.

Bakalářská práce je zaměřena na popis metody ABTS v oblasti cereálních a potravinářských technologií. Tato metoda testuje schopnost vzorku či látek zhášet kation-radikál $ABTS^{*+}$. Zhášení radikálu $ABTS^{*+}$ antioxidanty se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra $ABTS^{*+}$ a poté je měřena absorbance.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CEREÁLIE

Cereálie neboli obilniny doprovázejí naši společnost už od nepaměti. Patří botanicky mezi traviny (latinsky *Gramineae*). Mezi nejznámější a nejvyužívanější patří pšenice, žito, ječmen, oves, rýže, kukuřice, proso a další. Víceleté trávy se pro pěstování neprosadily [1].

Mezi cereálie řadíme také pohanku z čeledi rdesnovité (*Polygonaceae*) a z nových plodin také Merlík čilský a laskavec. Tyto cereálie řadíme do zvláštní skupiny, která se nazývá pseudocereálie. To jsou plodiny, které nepatří botanicky do čeledi lipnicovitých (*Potaceae*) jako obiloviny. Pěstují se, využívají a zpracovávají se však podobným způsobem.

Vhodně zpracované obiloviny jsou v celosvětovém měřítku nejvýznamnějším přínosem energie ve formě sacharidů. Kromě sacharidů jsou však zdrojem mnoha dalších životně důležitých látek, které jsou v jiných potravinách obsaženy třeba i ve vyšších koncentracích, ale spotřebou se obilovinám nevyrovnají [2].

Celková výše sklizně obilovin v ČR v roce 2010 byla 7 038,2 tis. tun. Je řazena mezi průměrné sklizně (devátá nejvyšší sklizeň od roku 1990). I přesto produkce obilovin překrývala ve všech základních obilovinách domácí poptávku. Na domácím trhu se v loňském roce objevily přebytky převážně krmných obilovin. Loňské přebytky obilovin v ČR (na rozdíl od jiných ročníků) neovlivňují cenový pád jednotlivých obilných druhů, ale vzhledem k situaci na světových a evropských trzích míří cena obilovin vzhůru [3].

1.1 Složení a anatomická stavba obilky

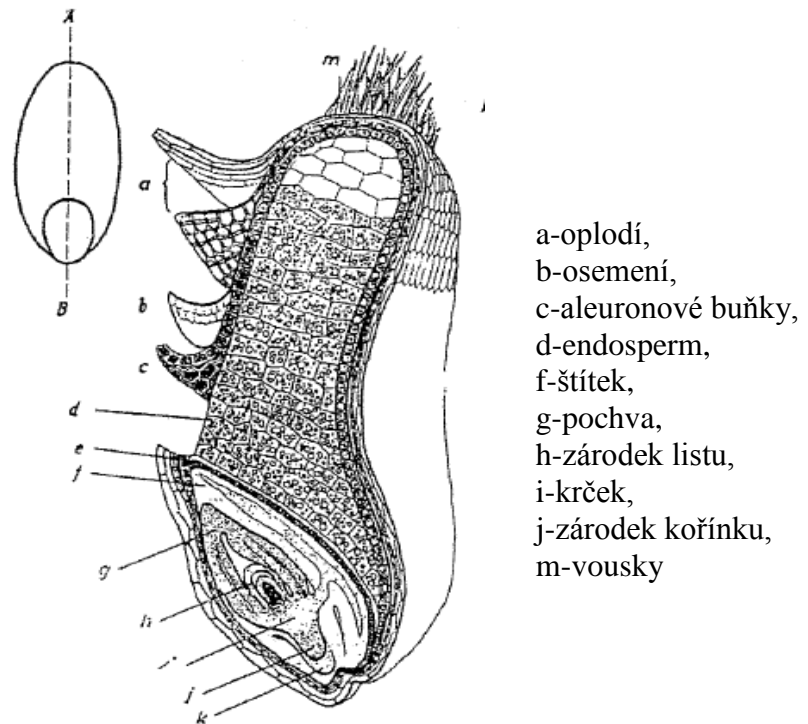
Základní části každé obilky jsou endosperm, klíček a obalové vrstvy. Vlivem vnitřních a hlavně vnějších faktorů jako je druh, vlastnosti půdy, hnojení a klimatické podmínky, je velice ovlivňován hmotnostní podíl obilky.

Endosperm zaujímá největší hmotnostní podíl. Je v něm uložen především škrob a bílkoviny. Od obalových vrstev je oddělen řadou aleuronových buněk, které jsou bohaté na bílkoviny, minerální látky, vitaminy a tuky. Endosperm tvoří největší zastoupení ve finálním výrobku a zajišťuje výživu zárodku.

Klíček obsahuje mnoho živin, potřebných pro vyklíčení nové rostliny. V obilce však zaujímá nejmenší hmotnostní podíl, především u pšenice. Kromě jednoduchých cukrů obsahuje klíček také bílkoviny, aminokyseliny, vitaminy rozpustné ve vodě a velké

množství vitamínu E. Aby se zabránilo žluklé chuti, musí být klíček při výrobě odstraňován, kvůli značnému množství tuku, který obsahuje.

Obalové vrstvy jsou tvořeny několika vrstvami, které chrání před mechanickým poškozením a vysycháním. Obalové vrstvy se skládají z oplodí a osemení [4].



Obrázek 1 Anatomická stavba obilného zrna [4]

1.2 Chemické složení obilného zrna

Chemické složení není u každého zrna přesně shodné. Složení je ovlivněno druhem obiloviny, odrůdou, pěstitelskými a klimatickými podmínkami. Obsah vody je většinou v rozmezí 12 – 15 %, procentuální zbytek tvoří sušina, jejíž hlavní součástí je škrob. Endosperm tvoří z 55 – 69 % škrob, dále polysacharidy, bílkoviny, tuky, minerální látky aj. V endospermu jsou obsaženy základní bílkoviny, gliadiny a gluteniny, jejich obsah se pohybuje kolem 10 %. Ve vodě a v solných roztocích jsou nerozpustné a rozpouštějí se hlavně v etanolu. Jejich vlastností je tvorba lepku, proto jsou důležité pro pekařskou kvalitu pšenice. Tyto bílkoviny udržují tvar a kyprost pečiva. Zásobní bílkoviny jsou nejvíce soustředěny na krajích endospermu, směrem ke středu zrna je množství bílkovin menší. Díky tomuto jsou rozdělovány mouky, které jsou semlety ze středních částí endospermu a z obvodových částí endospermu. Mouky ze středních částí jsou bělejší, mají

méně lepkových bílkovin a více škrobu. Mouky obvodových částí jsou tmavší, obsahují mnohem více lepkových bílkovin. Podobně je tomu i s obsahem tuku. Jeho soustředění je vyšší na obvodu než uvnitř obilky. Endosperm obsahuje také albuminy a globuliny [5].

Tabulka 1 Chemické složení obilovin [%][4]

| | voda | škrob | bílkoviny | tuky | celulóza | popeloviny |
|----------|------|-------|-----------|------|----------|------------|
| Pšenice | 14,6 | 65,3 | 12,4 | 1,7 | 2,7 | 1,8 |
| Žito | 15,3 | 62,0 | 11,4 | 1,7 | 2,0 | 1,8 |
| Ječmen | 13,8 | 66,0 | 10,5 | 2,1 | 4,8 | 2,7 |
| Oves | 12,0 | 54,5 | 11,7 | 6,0 | 10,8 | 3,0 |
| Kukuřice | 10,5 | 69,0 | 10,0 | 4,8 | 2,8 | 1,7 |
| Proso | 12,5 | 61,1 | 10,6 | 3,9 | 8,1 | 2,8 |

Klíček obsahuje od 0,5 – 5 % tuku ve vztahu k celé obilce v závislosti na druhu obilovin. Samotný klíček obsahuje 10 – 15 % tuku. Nejvíce jsou zde zastoupeny kyselina palmitová a stearová. U ovsa je to také kyselina eruková. Především z klíčku pšenice se získává kvalitní olej. V klíčku se také nalézají bílkoviny, jednoduché cukry, minerální látky a vitamin E. V klíčku není obsažen škrob [6].

1.2.1 Významné antioxidanty obilného zrna

Obiloviny obsahují několik typů sloučenin, které jsou schopné minimalizovat škodlivé účinky oxidačních reakcí. Patří mezi ně např. tokoferoly, flavonoidy, vitamin C, které jsou přítomny v klíčku a β -karoten přítomný v obalových vrstvách. Zrna obsahují významnou koncentraci antioxidantních látek, které by mohly významně přispět i ke snížení oxidačního stresu, pokud jsou tyto antioxidanty přítomné v aktivních formách [7].

1.2.1.1 Flavonoidy

Flavonoidy se nacházejí v oplodí zrna všech cereálií. Největší zastoupení různých druhů flavonoidů je v čiroku. Flavonoidy jsou sloučeniny složené z C6-C3-C6 skeletu, který je tvořen ze dvou aromatických kruhů spojených tří uhlíkovým řetězcem, někdy se nazývá jako flavonový skelet. Patří k nim katechiny, antokyanidiny, leukoantokyadiny, flavonoly, flavanony. Přírodní flavonoidy mohou významným způsobem působit při prevenci chorob majících svůj původ v oxidačním poškození biologických struktur. Mezi tato onemocnění patří ateroskleróza a kardiovaskulární onemocnění [8,9].

1.2.1.2 Vitamin E

Vitamin E se nachází v klíčku obilného zrna a představují ho veškeré tokoferoly a deriváty tokotrienolů, z nichž nejúčinnější je α -tokotrienol. Jsou to hlavní lipofilní antioxidační látky, které chrání buněčné membrány před oxidačním působením. Spolupodílí se na prevenci aterosklerózy. Je prokázáno snížení rizika kardiovaskulárních chorob. Vitamin E chrání ukládání tuků v období vegetačního klidu a klíčení [10,11].

1.2.1.3 Vitamin C

Vitamin C nacházející se v klíčku obilovin se vyskytuje ve dvou aktivních formách, a to jako kyselina askorbová a dehydroaskorbová, které vytvářejí reverzibilní oxidačně-redukční systém. Podílí se na resorpci železa z trávicího traktu, má antioxidační vlastnosti a obnovuje oxidovaný tokoferol a jeho aktivní, redukovanou formu [10].

1.2.1.4 β -karoten

Nebo také provitamin A se nachází v obalových vrstvách. Rafinované moučné výrobky mají proto mnohem nižší antioxidační aktivitu než produkty celozrnných obilovin [12].

1.3 Významné obiloviny

Mlýnský průmysl zpracovává ve specializovaných provozech obiloviny a zrniny, kterými jsou mimo nejvýznamnější pšenice a žito, také ječmen, oves a další cereálie, které se využívají k lidské výživě [5].

1.3.1 Pšenice

Pšenice tvrdá (*Triticum durum*) je považována za obilovinu především pro výrobu těstovin, používá se také k výrobě bulguru, kuskusu, pufovaných cereálií, snídaňových cereálií, dezertů či různých druhů speciálních chlebů. Tvrdá pšenice se od dalších druhů pšenice liší v řadě ukazatelů. Vykazuje vyšší objemovou hmotnost a hmotnost tisíce zrn, zrna jsou v porovnání s pšenicí obecnou (*Triticum aestivum*) větší, jsou jantarově zbarvená, mají mnohem tvrdší endosperm a vyšší obsah bílkovin (minimálně 14 %). Těstoviny vyrobené z mouky získané semletím tvrdé pšenice (semoliny) mají vynikající vařivé vlastnosti, nejsou lepivé a po uvaření si uchovávají původní tvar. Mouka z tvrdé pšenice má ale řadu předností i pro výrobu chleba. Chléb z této mouky má delší trvanlivost než odpovídající tradiční výrobek a mouka se může rovněž používat k výrobě speciálních druhů chleba, včetně výrobků pro osoby s glutenovou (lepkovou) intolerancí. Od dvacátých let minulého století byla uskutečněna řada studií zaměřená na využití pšenice tvrdé pro výrobu chleba, která by rozšířila možnosti jejího využití a zvýšila podíl mouky z tvrdé pšenice na trhu. V předchozích výzkumech byla používána konvenční mouka z tvrdé pšenice (se slabým lepkem) a výsledky obecně naznačovaly, že tato mouka není pro výrobu chleba vhodná. V některých studiích byla zaznamenána lepší schopnost udržení kvality chleba z pšenice durum.

V roce 2010 došlo ke snížení výroby pšenice a na tomto se podílil především meziroční pokles průměrového hektarového výnosu ozimí pšenice, ale také pokles osevních ploch. Přesto pšenice i nadále zůstává na našem trhu s obilovinami zcela dominantní plodinou, která tvoří 60,1 % nabídky všech obilovin [3,13].



Obrázek 2 Pšenice ozimá - květenství, začátek tvorby zrna [3]

1.3.2 Ječmen

Ječmen se zpracovává hlavně na kroupy, krupky, ječnou mouku, ječnou krupici a ječné vločky. Tyto výrobky byly významnou složkou potravy. V současné době význam těchto výrobků poklesl, ale je snaha zvýšit zájem o jejich konzum pro jejich obsah β -glukanů (rozpuštěná složka vlákniny). Odhad celkové sklizně za rok 2010 je na úrovni 1617,5 tis. tun. Z celkového sklizeného množství je 497,4 tis. tun (tj. 30,8 %) ječmene ozimého a 1120,1 tis. tun (tj. 69,2 %) ječmene jarního. Celková výroba ječmene opětovně poklesla proti roku 2009 o 385,5 tis. tun. Na významném snížení produkce má podíl jak nízká výroba ozimého ječmene, tak také výrazný propad produkce u jarního ječmene [3,5].



Obrázek 3 Ječmen jarní [3]

1.3.3 Oves

Oves má ve srovnání s ostatními obilovinami nejvyšší obsah tuku (až do 7 %) s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin, dále vysoký obsah bílkovin, minerálních látek. Oves obsahuje sedm esenciálních aminokyselin z devíti. Zpracovává se na ovesné vločky, ovesné vločky drcené s ovesnou moukou. Produkce za rok 2010 je na výši 148,2 tis. tun. Tento údaj je ve srovnání se sklizní roku 2009 nižší o 17,8 tis. tun. Po mírném navýšení ovesa v roce 2009 dochází v roce 2010 opět k jejímu poklesu, a to cca na úroveň roku 2005 [3,5].



Obrázek 4 Oves bezpluchý [14]

1.3.4 Kukuřice

Pro mlýnské zpracování a následně pro lidskou výživu je žádána kukuřice s vysokým obsahem bílkovin. Pro mlýnské zpracování je důležitým technologickým ukazatelem sklovitost. Endosperm kukuřice má rohovité povrchové vrstvy, které obsahují hodně bílkovin, vnitřní vrstvy jsou moučnaté. Poměr sklovité a moučnaté části zrna ovlivňuje výtěžnost krupic. Zrno kukuřice má klíček, který obsahuje až 35 % tuku a je potřeba ho před vlastním mletím odstranit. Z kukuřičných klíčků se lisuje jakostní olej a zbylé pokrutiny nebo extrahované šroty se využívají jako bílkovinné krmivo. Dále se kukuřice zpracovává mletím na kukuřičnou krupici, méně na mouku. Podle odhadu ČSÚ (Český statistický úřad) byla v roce 2010 snížena produkce kukuřice o 17,9% na 730,6 tis. tun. V dlouhodobém srovnání se přesto tato sklizeň stane třetí nejvyšší sklizní kukuřice na zrno v ČR [3,5].



Obrázek 5 Kukuřice [3]

1.3.5 Rýže

Rýže jsou zrna získávaná z kulturní rostliny rýže seté (*Oryza sativa*) a jejich odrůd. Obchodně se rýže nerozlišuje podle odrůd, ale podle tvaru a velikosti zrna. Jsou rozlišovány tyto druhy: bílá- white (oloupaný, obroušený a leštěný endosperm rýžového zrna) či červená brown, red, cargo (jen oloupaný nebo ještě částečně obroušený endosperm s podobalovými vrstvami), zlomková a poškozená paddy (zlomky bílých zrn, částečně obroušované), parboiled speciální tradičním postupem upravená a pak oloupaná a obroušená zrna. Podle tvaru a délky zrna se rozlišuje rýže na dlouhozrnnou délka průměrně 6 mm, poměr délky a šířky je zpravidla více než 3, středně zrnou délka mezi 5,2 – 6 mm, poměr délky a šířky zrna je nižší než 3 a kulatozrnnou, kde délka je menší než 5,2 mm, poměr délky a šířky zrna je méně než 2 [5].

1.3.6 Pohanka

V současné době představuje pohanka atraktivní plodinu pro své nutriční a diabetické vlastnosti. Vzhledem k velmi příznivému složení - bílkoviny, sacharidy, tuky, vláknina i minerální látky, které se nachází ve vhodném poměru, má pozitivní vliv na lidský organizmus, posiluje imunitní systém. Loupaná pohanka je lehce stravitelná, vhodná k diabetickým účelům, zvláště při cévních obtížích, zvyšuje pružnost cévních stěn, reguluje srážlivost krve a obsah cholesterolu. Obsahuje rutin, který je považován za významný antiaterosklerotický faktor. Je vhodná pro bezlepkovou dietu, doporučuje se i u vředových onemocnění [3].

2 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

2.1 Antioxidanty

Za poslední desetiletí se zvyšuje množství poznatků a úroveň vědomostí o úloze volných radikálů u živých organismů. Tyto radikály působí na biologicky významné sloučeniny, a to hlavně na lipidy, bílkoviny a nukleové kyseliny. Pozměňují jejich strukturu, a tím dochází k modifikaci jejich funkce. Reakce, které jsou iniciovány radikály, vedou ke změnám ve struktuře buňky, k poškození celých tkání, orgánů a důležitých funkcí v organismu. Významnou roli při ochraně před volnými radikály hraje prevence, tedy redukce příčin jejich vzniku. Jelikož reparativní procesy v organismu nejsou schopny plně eliminovat poškození molekul, je jednou z možností na ochranu organismu před vlivem volných radikálů působení antioxidantů. Antioxidanty prodlužují trvanlivost potravin, které chrání před oxidací, redukují vzniklé hydroperoxy, váží do komplexů katalyticky působící kovy a eliminují přítomný kyslík. Mnoho látek přírodního původu, které se do lidského organismu dostávají spolu s potravou, mají antioxidační účinky.

Antioxidanty jsou molekuly, které jsou-li přítomny i v malých koncentracích, chrání organismus. Mohou zabraňovat, eventuálně omezovat, oxidační destrukci tkání a buněk. Klinické a epidemiologické studie prokazují souvztažnost mezi antioxidační aktivitou látek přijímaných v potravě a prevencí některých onemocnění, jako jsou například kardiovaskulární choroby, neurologické poruchy či procesy stárnutí. Mezi antioxidačně nejaktivnější látky v potravinách patří jednoduché fenoly a furany, složené fenolové látky (např. lignany), flavonoidy včetně katechinů a antokyaninů, alkylsulfidy, indoly, a také některé vitaminy a karotenoidy [15,16].

2.2 Antioxidační aktivita

Z výše uvedených důvodů vzrůstá zájem stanovit antioxidační aktivitu různých látek, především rostlinného původu. Antioxidační aktivita je definována jako schopnost antioxidantu inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin (např. zabraňovat peroxidaci lipidů). Je vhodné rozlišovat dva pojmy, a to antioxidační kapacita a reaktivita. Antioxidační kapacita poskytuje informaci o délce trvání antioxidačního účinku, reaktivita antioxidantu. V oblasti chemické analýzy a biologického hodnocení jakosti rostlinných produktů byly v posledních letech vypracovány četné metody, které umožňují stanovit tzv. celkovou antioxidační aktivitu vzorku (TAC, Total Antioxidant Capacity).

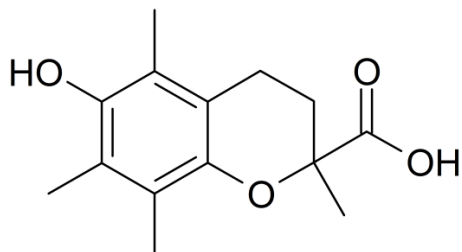
Pro vzájemné porovnávání antioxidačních účinků různých směsí byl některými autory zejména v souvislosti s analýzou potravinových vzorků zaveden pojem celková antioxidační aktivita (TAA, Total Antioxidant Activity). TAA je parametrem, který kvantifikuje kapacitu vzorku biologického materiálu eliminovat radikály. Antioxidační aktivitu látek lze měřit metodami chemickými a fyzikálními. Metody chemické mohou být založeny na použití činidel poskytující s volnými kyslíkovými radikály barevné produkty, jejichž vzniku brání ve vzorku obsažené antioxidanty. Pro měření intenzity zbarvení se používá především spektrofotometrická metoda. Rozdíl v hodnotách absorbancí měřeného a slepého vzorku pak udává obsah látek s antioxidačními účinky. Je nutno podotknout, že srovnání hodnot poskytovaných jednotlivými metodami je velmi nesnadné, neboť jak antioxidantů, tak reaktivních látek způsobujících oxidační změny je celá řada. Fyzikální metody nesledují bezprostředně chemickou reakci nebo změny obsahu jednotlivých látek. Namísto toho sledují změny fyzikálních vlastností, které tyto procesy provázejí [17, 18,19,20].

2.3 Nejčastější metody stanovení antioxidační aktivity

Existuje velký počet metod používaných pro stanovení antioxidační aktivity. Rozličnost metod vyplývá ze skutečnosti, že nízkomolekulární antioxidanty mohou působit různými mechanismy. Nejčastěji se jedná o přímou reakci s radikály, zhášení nebo o reakci s přechodnými kovy. Přesnější chemické vymezení mechanismu účinku je však často problematické. Proto jsou na různých principech založeny také postupy hodnotící míru antioxidačního působení. Obecně jsou kategorizovány do dvou skupin. První skupinou jsou metody hodnotící schopnost eliminovat radikály a druhou skupinou jsou metody posuzující redoxní vlastnosti látek. Chemické metody mohou být založeny na použití činidel, které poskytují s volnými kyslíkovými radikály barevné produkty, jejichž vzniku brání ve vzorku obsažené antioxidanty. Intenzita zbarvení se většinou měří spektrofotometricky [15].

Nejčastěji používanou metodou je TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Jedná se o metodu, která vyjadřuje antioxidační kapacitu vzorku ekvivalentní určitému množství standardu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-dikarboxylová kyselina). TEAC je většinou definována jako milimolární koncentrace Troloxu odpovídající antioxidační aktivitě testované látky o koncentraci $1 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ pro čisté látky. Pro směsné

vzorky se jedná o látkové množství Troloxu, které odpovídá aktivitě 1 g nebo 1 ml vzorku. Metoda je použitelná pro měření čistých látek, vodných roztoků i nápojů [21].



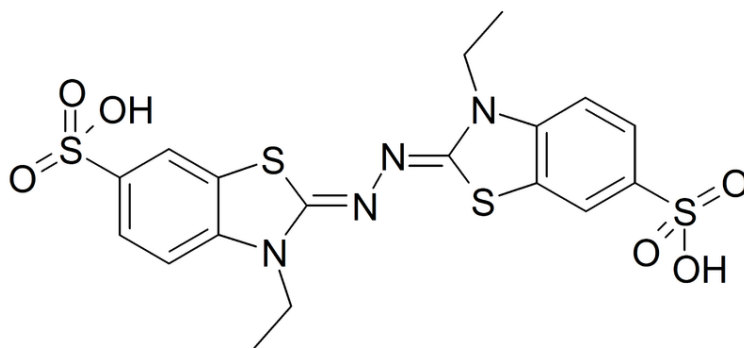
Trolox

2.3.1 Metody založené na eliminaci radikálů

Princip této metody spočívá v hodnocení schopnosti vzorku vychytávat volné radikály. Radikály mohou být v reakční směsi vytvářeny nebo jsou do reakční směsi přidávány. Z chemického hlediska jsou to radikály kyslíkové, např. hydroxyl, superoxidový anion-radikál. Z hlediska syntetického pak syntetické stabilní radikály, a to DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) a ABTS. Zvláštní skupinou jsou pak metody testující schopnost inhibovat nebo zpomalovat lipidovou peroxidaci [15].

2.3.1.1 Metoda ABTS

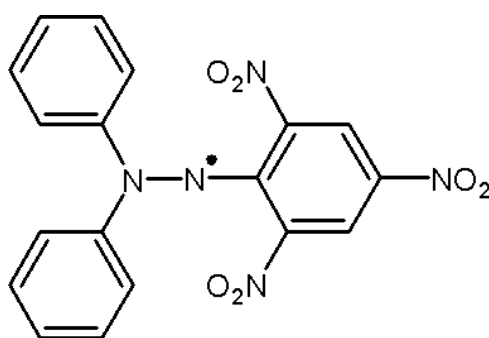
Je jednou ze základních a nejpoužívanějších metod pro stanovení celkové antioxidační aktivity TAA. Tato metoda testuje schopnost látek nebo vzorku zhaset kation-radikál $ABTS^{+}$ (2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)) [15].



ABTS

2.3.1.2 Metoda DPPH

Metoda používající DPPH je pokládána za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. DPPH test je založen na schopnosti stabilního volného radikálu 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH test je při reakci s donory vodíku selektivnější než ABTS⁺. U většiny testů se využívá sloučenina DPPH, která je v metanolovém roztoku v barevné radikálové formě DPPH[•] a vykazuje silnou absorpci v UV/VIS spektru. Redukce DPPH antioxidantem nebo radikálem se projevuje odbarvením roztoku, které se měří spektrofotometricky [15,17].



DPPH

2.3.2 Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek

Jako redukční činidla mohou být charakterizovány neenzymové antioxidanty, které reagují s oxidanty, redukuje je a tím je aktivují. Z tohoto pohledu je možno antioxidační aktivitu posuzovat na základě redukční schopnosti látky [15].

2.3.3 Chemické metody

2.3.3.1 Metoda FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power)

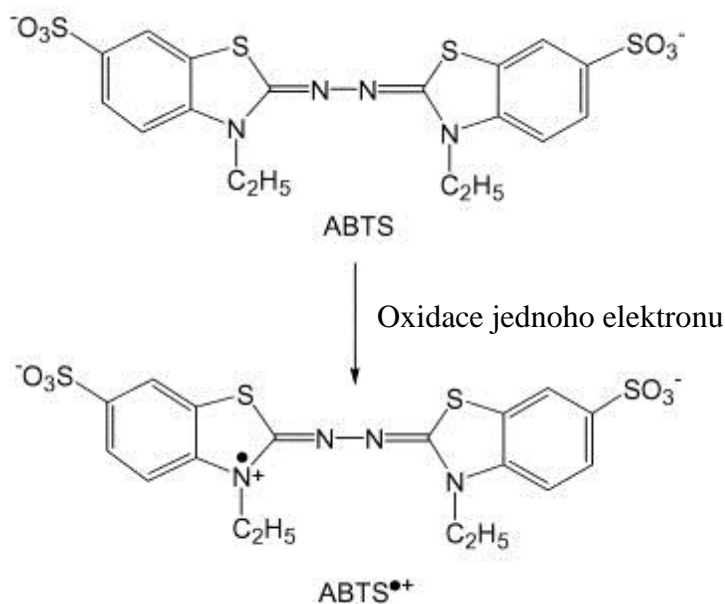
Metoda FRAP je založena na redukci železitého komplexu TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazin) s hexokyanatanem draselným nebo chloridem železitým, které jsou téměř bezbarvé a po redukci, eventuálně po reakci s dalším činidlem vytváří barevné, modře zbarvené železnaté komplexy, kterými může být např. berlínská modř. Tyto komplexy jsou měřitelné spektrofotometricky. Jako standard lze použít roztok kyseliny gallové, epikatechinu nebo troloxu. Výsledky se vyjadřují ekvivalentním množstvím standardu, odpovídajícího 1 g nebo 1 ml vzorku se stejnou redukční aktivitou [17,20].

2.3.3.2 Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Metoda ORAC spočívá ve vytvoření peroxylového radikálu β -fykoeritrinu, který se kvantitativně stanovuje fluorimetricky, a to jeho oxidací činidlem ABAP (2,2'-azobis-2-metyl-propionamidin). Radikál je určován kvantitativně fluorimetricky a hodnotí se rychlost úbytku signálu po přidání testovaného vzorku. Hodnotí se rychlost úbytku fluorescence po přidání testovaného vzorku [16,20].

3 METODA ABTS

2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina) neboli ABTS je chemická sloučenina, sloužící pro stanovení celkové antioxidační aktivity. Bezbarvá molekula ABTS je převáděna na modro-zelený radikál $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)) oxidací jednoho elektronu.



Obrázek 6 Oxidace ABTS na $ABTS^{\bullet+}$ [22]

Test ABTS je velmi podobný metodě DPPH v tom, že obě metody používají silně zbarvené stabilní radikální směsi. Na rozdíl od metody DPPH, v níž je radikálová forma DPPH již vytvořena a komerčně k dispozici, musí být ABTS oxidované do své radikální podoby kationtu na začátku každé zkoušky. Toto je obvykle dosaženo inkubací ABTS s metmyoglobinem a peroxidem vodíku. Reakce jsou pak prováděny podobným způsobem jako v testu DPPH v tom, že schopnost zkušebních materiálů k navození odbarvení z kationtů ABTS se měří spektrofotometricky. ABTS má výhodu oproti ostatním antioxidačním systémům, že je snadno rozpustný v organických a vodných rozpouštědlech [23].

Metoda ABTS testuje schopnost vzorku či látek zhaset kation-radikál $ABTS^{\bullet+}$. Je také mnohdy prohlašována za metodu TEAC, vzhledem k tomu, že výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky Troloxu. Zhasení radikálu $ABTS^{\bullet+}$ antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku, se sleduje

spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra $ABTS^{*+}$. Absorbance se nejčastěji měří při 734 nm. V reakční směsi se kation-radikál $ABTS^{*+}$ generuje oxidací ABTS.

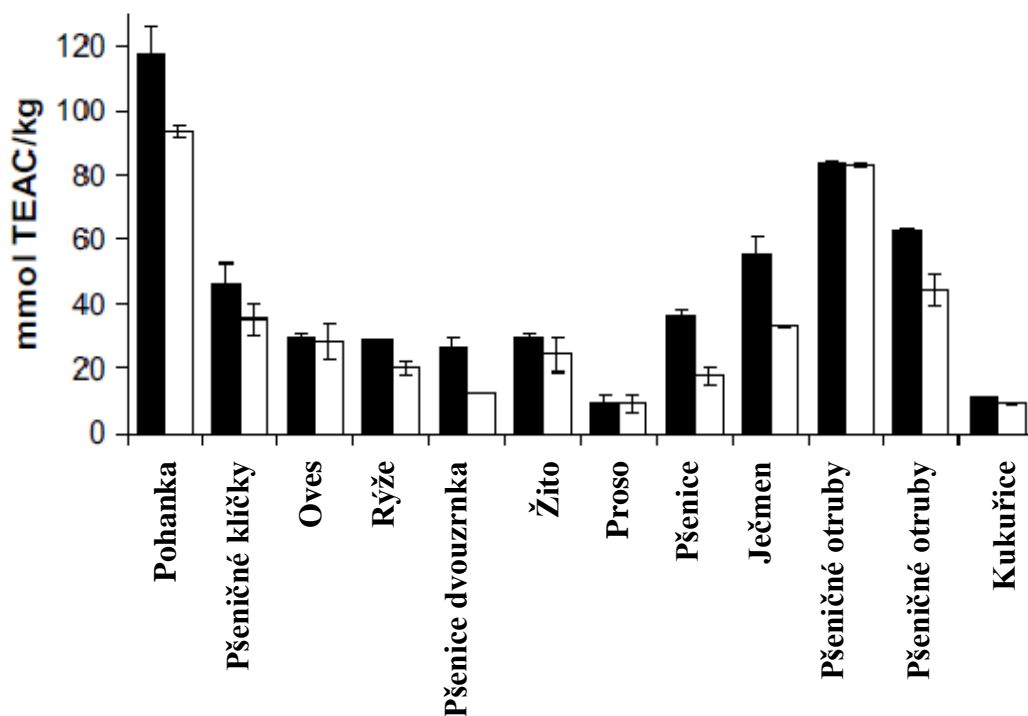
Jsou také i možnosti chemické oxidace ABTS, např. peroxidisíranem draselným nebo oxidem manganičitým. Při vlastním experimentálním měření se užívají dva postupy. U prvního pokusu se antioxidant přidává do reakční směsi, ve které byl již vytvořen radikál $ABTS^{*+}$. U druhého postupu je antioxidant v reakční směsi přítomen při generování radikálu $ABTS^{*+}$. Častěji se užívá uspořádání, při němž se antioxidant přidává k radikálu $ABTS^{*+}$ již vyprodukovanému pomocí *peroxidázy*. Stanovení celkové antioxidační aktivity je možno provádět i komerčně vyráběnými sety (např. Randox Laboratories Ltd.). Používá se i sériově vyrobených mikrotitračních destiček. Pro spektrofotometrickou metodu stanovení celkové antioxidační aktivity s ABTS jsou popsány aplikace měření v hydrofilním i lipofilním prostředí. Metoda stanovení TAA vzorků pomocí ABTS je jednoduchá, rychlá v provedení a má široké uplatnění, od hodnocení antioxidační aktivity látek různého původu a také pro směsné vzorky [21].

4 VYUŽITÍ METODY ABTS V OBLASTI CEREÁLNÍCH TECHNOLOGIÍ

4.1 Stanovení antioxidační aktivity obilných produktů

Epidemiologické studie ukazují, že spotřeba obilných produktů se vztahuje ke snížení celkové úmrtnosti, ischemické choroby srdeční, diabetu a výskytu rakoviny. Tyto přínosy pro zdraví jsou částečně připsány k širokému spektru chemopreventivních látek, tzv. fytochemikálií, včetně antioxidantů, které jsou v obilných produktech hojně zastoupeny. Obilná zrna obsahují v tuku rozpustné antioxidanty, jako jsou např. tokoly, karotenoidy a ve vodě rozpustné antioxidanty, jejichž zástupci jsou fenolové kyseliny a flavonoidy. V poslední době je velký zájem o stanovení antioxidační kapacity potravin, kvůli prevenci degenerativních onemocnění. Stanovení celkové antioxidační aktivity je docela komplikované vzhledem k široké škále polaritů použitých extrakčních rozpouštědel a také skutečnosti, že většina antioxidantů je kovalentně vázána na buněčnou stěnu. Nejvyužívanějšími rozpouštědly je voda, etanol, metanol a aceton a jsou používány samostatně nebo v kombinaci pro dosažení maximalizace výnosu. Byly vybrány obilné vzorky, podle jejich největšího využití v lidské stravě. Zrna byla získána z lokálních trhů a byla použita loupaná zrna ovsa, prosa, pšenice dvouzrnky a ječmene a poté nahá zrna rýže, žita, pšenice a kukuřice. Navíc byly použity dvě frakce otrub tvrdé pšenice. Vzorky byly pomlety a prosety k získání velkých, středních a malých částecek. Pro stanovení celkové antioxidační kapacity produktů z obilovin byly použity dva postupy. Prvním postupem bylo přímé měření celkové antioxidační kapacity z různých vzorků obilovin. Pro měření přímým postupem bylo použito 10 mg mletého vzorku obiloviny a vzorek byl převeden do zkumavky. Ke vzorku bylo poté přidáno 6 ml ABTS^{•+}. Došlo k rozpuštění ve 100% etanolu nebo ve směsi etanol:voda v poměru 50:50, byl také testován vliv rozpouštědla na měření antioxidační aktivity. Zkumavka byla protřepána na třepačce k usnadnění reakcí mezi částicemi a ABTS^{•+}. Absorbance byla měřena při 734 nm, a to přesně po 6, 15, 30 a 60 min. Za účelem zjištění vlivu různých rozpouštědel byly vzorky postupně extrahovány vodou, etanolem, metanolem. Po alkalické hydrolýze bylo pH směsi upraveno na 3,5, a to přidáním 3 mol.dm⁻³ kyseliny citronové. Vzorek byl rozpuštěn ve směsi metanol:voda v poměru 50:50 a ponechán ve tmě při teplotě 4 °C. 100 ml extraktu bylo smícháno s 1,7 ml ABTS^{•+} a rozpuštěno ve 100% etanolu. Směs byla promíchána a měření absorbance bylo provedeno přesně po 6 min při 734 nm [24,25,26].

Nejvyšší antioxidační aktivita byla zaznamenána u dvou vzorků pšenice a otrub. Naproti tomu proso a kukuřice měly nejnižší hodnoty antioxidační aktivity ze všech analyzovaných produktů. Přímé měření přímou metodou ABTS vykazovalo 4 – 5krát nižší hodnoty než koncentrace naměřené po hydrolýze. Bylo zjištěno, že rozpouštědlo používané k ředění roztoku ABTS by mohlo hrát zásadní roli v přímém měření TAC obilovin. Dále bylo zjišťováno, zda celková plocha pevného vzorku má vliv na reakci a její rychlost při měření antioxidační aktivity. Byly zkoumány tři zlomky obilovin o různé velikosti částic, a to malé, střední a velké, které byly získány mletím obilí. Žádný významný vliv velikosti částic na naměřené antioxidační aktivitě obilovin nebyl pozorován [24].



Obrázek 7 Porovnání hodnot antioxidační aktivity

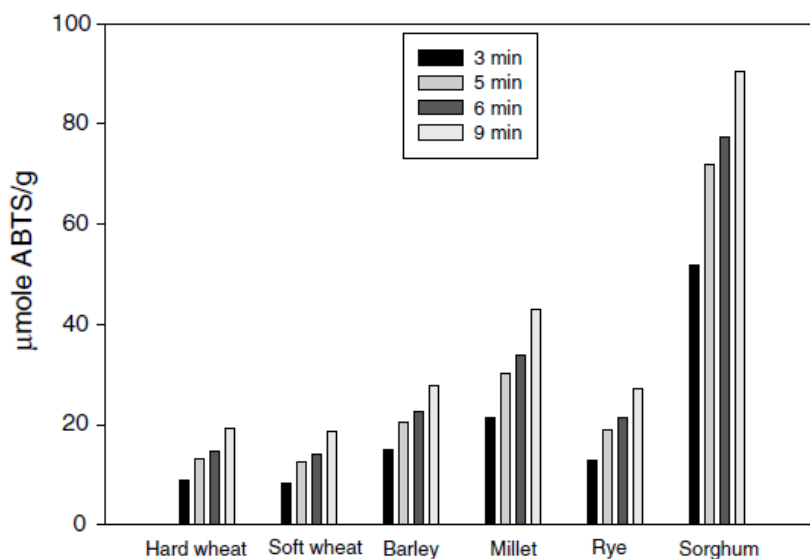
Antioxidační aktivita měřená po přímém zpracování - černé sloupce, antioxidační aktivita měřená v extraktech - bílé sloupce [24]

4.2 Stanovení antioxidační aktivity ječmene, prosa, žita a čiroku

Celozrnné výrobky jsou vhodné pro zdravou stravu a jsou uznávaným zdrojem vlákniny a antioxidačních látek. Antioxidační účinky byly hodnoceny u čtyř obilovin, a to ječmene, prosa, žita a čiroku. Tyto cereálie byly přizpůsobeny pěstitelským podmínkám ve Spojených arabských emirátech (SAE). Ve vývoji a zavádění těchto plodin do SAE je potřeba vyhodnotit jejich nutriční kvalitu. Tato studie byla zaměřena na porovnání antioxidační aktivity celých zrn s pšeničnou moukou. Čirok (*Sorghum bicolor*) měl mimořádně vysokou antioxidační aktivitu, následně proso (*Pennisetum glaucum*) a ječmen (*Hordeum vulgare*). Antioxidační vlastnosti těchto tří zrn byly srovnatelné s butylhydroxytoluenem. Nutriční údaje naznačují, že vybraná zrna, především ječmene a čiroku, jsou opravdu nutričně bohaté složky potravin.

5 g rozemletého zrna bylo smícháno s 50 ml 80% metanolu. Směs byla propláchnuta proudem dusíku a důkladně promíchána na třepačce po dobu 30 min. Poté byla směs odstředěna, propláchnuta proudem dusíku a uložena v chladničce až do analýzy.

Byla měřena kapacita radikálového kationtu ABTS^{•+}. Trolox byl v testu používán jako standard. Antioxidační aktivita byla vypočtena jako $\mu\text{mol ABTS}$ na g vzorku v různých časových intervalech. Celá analýza byla provedena ve třech vyhotoveních a údaj byl hlášen jako průměr těchto stanovení. Test ABTS je založen na tvorbě ABTS^{•+} tím, že reaguje s ABTS metmyoglobinem a peroxidem vodíku při 37 °C. ABTS^{•+} má relativně stabilní modro-zelenou barvu, která je měřena při 600 nm. V přítomnosti antioxidantu troloxu nebo potenciálních antioxidantů v materiálu extraktů byla produkce barvy do určité míry potlačena měrnou koncentrací antioxidantů.



Obrázek 8 Porovnání antioxidační aktivity (míry schopnosti zhášení radikálu ABTS) u pšeničné mouky a testovaných cereálií

hard wheat (tvrdá pšenice), soft wheat (pšenice), barley (ječmen), millet (proso), rye (žito), sorghum (čirok)

Zrno čiroku mělo nejvyšší kapacitu zhášení $ABTS^{*+}$, následovalo proso a ječmen. Celozrnné žitné a pšeničné mouky prokázaly relativně nízké zhášení kationtu $ABTS^{*+}$ [27].

4.3 Antioxidační aktivita v rýžovém zrně a její vztah k barvě, velikosti a hmotnosti zrna

Rýže je základní potravinou, která je konzumována téměř polovinou obyvatelstva na světě. Nutriční kvalita rýže získala větší pozornost v rozvojových zemích, kde nízká spotřeba rýže může vést k nedostatku důležitých vitaminů, minerálů a ostatních složek obsažených v rýžovém zrně. Frézováním hnědé rýže se odstraní otruby, které jsou bohaté na bílkoviny, vlákninu, oleje, minerální látky, vitaminy a další fytochemikálie. To vede ke ztrátě většiny nutričních složek. Při studování genotypů rýže Goffmanem a Bergmanem bylo zjištěno, že barva otrub byla vysoce významná v souvislosti s obsahem fenolických látek v otrubách. V obilných zrnech lze široce identifikovat a charakterizovat antokyany se skupinou načervenalých až fialových ve vodě rozpustných flavonoidů, které jsou primárními pigmenty v červených a černých zrnech. Fenolické sloučeniny jsou známé jako antioxidanty spolu s dalšími fotochemikáliemi jako jsou karotenoidy, tokoly, oryzanoly atd. Cílem této studie bylo stanovit celkové fenoly, flavonoidy a antioxidační kapacitu

a analyzovat jejich vztahy k barvě, velikosti a hmotnosti zrna, jelikož tyto výsledky mohou být důležité pro šlechtitele rýže.

Pro tuto studii bylo použito celkem 481 druhů rýže. Z toho 423 druhů bílé rýže, 52 červené a 6 druhů rýže černé. Zrna rýže byla sušena vzduchem a skladována při pokojové teplotě po dobu tří měsíců. Celková antioxidační kapacita z extraktů rýže byla stanovena spektrofotometricky pomocí ABTS testu. 3,9 ml roztoku ABTS o absorbanci 0,700 bylo přidáno do 0,1 ml extraktů a řádně promícháno. Reakční směs byla uchovávána po dobu 6 minut při pokojové teplotě a poté byla okamžitě změřena absorbance při 734 nm.

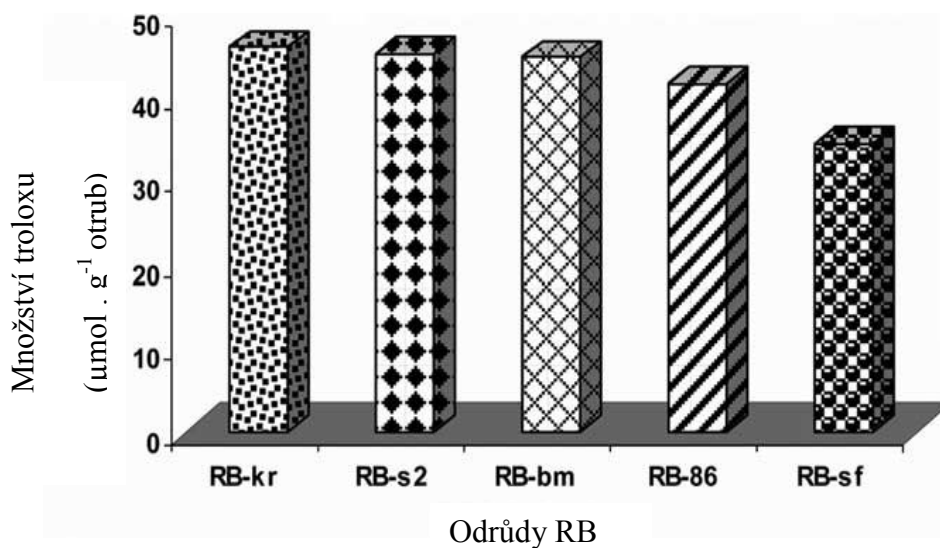
Byly naměřeny hodnoty v rozmezí 0,012 – 5,533 mmol·dm⁻³ TEAC z celkového množství vzorků rýže. U bílé rýže byly hodnoty ABTS 0,196 mmol·dm⁻³ TEAC v rozmezí 0,012 – 0,413 mmol·dm⁻³ TEAC. U rýže červené to bylo průměrně 1,705 mmol·dm⁻³ TEAC, v rozmezí mezi 0,291 až 2,963 mmol·dm⁻³ TEAC. U šesti vzorků černé rýže byla průměrná antioxidační kapacita 4,484 mmol·dm⁻³ TEAC. Obsah fenolických látek byl pozitivní s antioxidační kapacitou mezi všemi druhy rýže. Bylo prokázáno, že co se týče antioxidační aktivity, nebyla projevna žádná závislost na délce zrna ani na jeho hmotnosti. Na výsledné hodnotě antioxidační kapacity zrna se podílely nejen fenolické sloučeniny, ale i další fotochemikálie, jako jsou karotenoidy a tokoly. Antioxidační kapacita se liší především u bílé rýže, proto je úsilí o pěstování nutričně kvalitnější rýže. Tato studie ukázala širokou rozmanitost v obsahu fenolů, flavonoidů a antioxidační kapacity v celém rýžovém zrnu a proto tyto údaje poskytují příležitost k dalšímu zvýšení jejich obsahu, a to zejména v bílé rýži [28,29].

4.4 Stanovení antioxidační aktivity rýžových otrub

Rýžové otruby jsou jedním z nejrozšířenějších produktů, které jsou bohatým zdrojem vitaminů a minerálů. Běžně jsou používány pro lidskou výživu, ale jsou také přidávány do krmiv pro zvířata. Výzkumy prováděné v posledních dvou desetiletích ukazují, že rýžové otruby obsahují unikátní komplex přirozeně se vyskytujících antioxidantů. Současný výzkum ukázal, že mohou obsahovat až 100 různých antioxidantů a mezi nejsilnější z nich patří tokoferoly, tokotrienoly a oryzanol. Antioxidační sloučeniny z rýžových otrub nebo rýžového oleje jsou charakteristické pro zlepšení skladovatelnosti potravin a mají mnoho zdravotních výhod jako je např. snížení hladiny cholesterolu. Oryzanol se využívá k léčbě nervové nerovnováhy a při poruchách u menopauzy. Surový rýžový olej může obsahovat až 62 % oryzanolu. Bylo provedeno stanovování antioxidační

aktivity u pěti odrůd rýžových otrub. Byly použity tyto odrůdy rýže: Super (RB-kr), Super 2000 (RB-S2), Super Basmati (RB-bm), Super-386 (RB-86) a Super jemné (RB-sf). Tato studie popisuje antioxidační aktivitu různých odrůd rýžových otrub, jakožto i stanovení jejich hlavních složek zodpovědných za antioxidační aktivitu. Stanovení antioxidační aktivity bylo prováděno metodami ABTS a DPPH. Bylo taktéž provedeno stanovení hlavních složek rýžových otrub, tokoferolů, tokotrienolů a oryzanolu pomocí reverzní HPLC.

Vzorky byly uchovány ve vzduchotěsných obalech a skladovány v chladničce při teplotě 4 °C. Stabilizace rýžových otrub byla provedena na základě metody Malekian *et al.* 100 g každého vzorku bylo zabaleno do polyetylenového vaku a sušeno v mikrovlnné troubě po dobu 3 min při teplotě 120 °C. Vzorek byl ochlazen na pokojovou teplotu a celý postup byl opakován třikrát pro zajištění optimální stability. Poté byly vzorky uchovávány týden při 4 °C až do provedení analýzy. Extrakce vzorků byla provedena na základě metody podle Zua *et al.* 5 g vzorku bylo extrahováno 25 ml 80% metanolu po dobu 3 hodin v elektrické třepačce při pokojové teplotě. Vzorky byly dále dvakrát extrahovány 20 ml 80% metanolu obsahujícího 0,15 % HCl. Extrakty byly zfiltrány přes membránové filtry a odpařeny do sucha za sníženého tlaku. Extrakty byly uloženy v mrazáku při teplotě -18 °C. Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda ABTS podle Re *et al.* Byl připraven vodný roztok ABTS^{•+} s přísadkou oxidačního činidla oxidu manganičitého. Pro odstranění přebytku oxidu manganičitého byl roztok zfiltrován membránovým filtrem. Do extraktů byl přidán fosfátový pufr o pH 7,4, aby naměřená absorbance při vlnové délce 734 nm činila 0,700 (± 0,200). Do extraktů bylo přidáno 5 ml roztoku ABTS^{•+}. Absorbance byla měřena po 10 minutách od promíchání proti slepému roztoku obsahujícího pouze fosfátový pufr. Antioxidační aktivita extraktů z otrub byla vyjádřena jako ekvivalentní množství Troloxu vztaženého na 1 g extraktu [30,31,32,33].



Obrázek 9 Stanovení antioxidační aktivity pomocí ABTS [30]

Nejvyšší antioxidační aktivita byla pozorována u odrůdy RB-kr, dále následovala RB-s2, RB-BM, RB-86 a nejnižší antioxidační aktivitu vykazovala odrůda RB-sf. Díky obsahu silných antioxidantů jsou tyto cereálie doporučovány jako prevence kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny [30].

4.5 Stanovení antioxidační aktivity pšeničných klíčků

Extrakty bohaté na antioxidanty byly získány z pšenice pomocí různých rozpouštědel včetně vody, etanolu, metanolu, vodného roztoku metanolu a etanolu. Odtučněné pšeničné klíčky obsahují mnoho nutričních složek, jako jsou bílkoviny, sacharidy, komplex vitamínu B, minerální látky apod. Antioxidační aktivita byla měřena radikálovým testem ATBS. Radikál ABTS byl vytvořen oxidací ABTS s peroxosíranem draselným. Radikálový kationt ABTS byl připraven smícháním 5 ml ABTS s 88 μ l peroxosíranu draselného a směs byla inkubována ve tmě při pokojové teplotě po dobu 12 – 16 hod. Poté byl roztok zředěn roztokem fosfátového pufru, dokud absorbance při 734 nm nebyla $0,70 \pm 0,02$. Roztok byl ponechán ve tmě po dobu 30 min před jeho použitím. Posléze bylo 150 μ l každého vzorku smícháno s 2,85 ml roztoku obsahujícího ABTS a směs byla důkladně protřepána a nechána stát 10 min při pokojové teplotě. Absorbance reakční směsi byla měřena při 734 nm. Schopnost zhášení radikálového kationtu ABTS byl vypočten v % dle vzorce:

$$\frac{\text{kontrolní ABTS} - \text{vzorek ABTS}}{\text{kontrolní ABTS}} \cdot 100 \quad (1)$$

Vodný roztok ukázal nejnižší schopnost zhášet radikál ABTS. Výtažky při nízkých koncentracích 5,0 a 7,5 mg.ml⁻¹ měly schopnost zhášet radikálový kationt ABTS v pořadí: 100% etanolvý extrakt > 30% etanolvý extrakt > 50% etanolvý extrakt a vodný extrakt. V jiných koncentracích byl rozdíl mezi činnostmi extraktů nevýrazný, kromě vodného roztoku. Výnosy z vodného extraktu a extraktu etanolu jsou přijatelné, i přestože antioxidační aktivita vodného extraktu byla nízká. Pšeničné klíčky mohou sloužit jako dobrý zdroj antioxidantů a nutraceutik [33,34,35].

4.6 Stanovení antioxidační aktivity v kukuřici

V této studii byla zjišťována antioxidační aktivita u 18 různých, většinou pigmentovaných, fenotypů mexické kukuřice. Získaná jádra kukuřičného klasu byla sušena na slunci, aby jejich obsah vody byl 20 %. Všechny vzorky byly potom rozmělněny do podoby celozrnné mouky, důkladně promíchány a uloženy při 20 °C po dobu delší než dva dny před analýzou. 5 ml roztoku ABTS⁺⁺ bylo smícháno s 88 ml peroxidisíranem draselným a ponecháno ve tmě po dobu 6 – 12 hod do vytvoření tmavě zeleného roztoku. Roztok se poté zředil metanolem do absorbance 0,70 při 734 nm. Výtažek kukuřičného zrna byl smíchán s 1 ml ABTS⁺⁺ a po 10 min byla měřena absorbance při 734 nm. Nejvyšší schopnost zhášet ABTS⁺⁺ měly fialové, černé a červené fenotypy. Schopnost žlutého fenotypu kukuřice byla 89,4 % [36,37,38].

5 VYUŽITÍ METODY ABTS V POTRAVINÁŘSKÉ OBLASTI

5.1 Antioxidační aktivita několika druhů káv

Káva patří mezi nejoblíbenější nápoje na světě a až 75 % pravidelně spotřebovaných nealkoholických nápojů tvoří právě káva. Kávovník patří do rodu *Coffea* čeledi *Rubiaceae*, je to stále zelená dřevina. Nejznámější druhy jsou *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Další známé druhy jsou *Coffea exelsa* a *Coffea liberica*. Ve složení zelené kávy dominují sacharidy, včetně polysacharidů (celulóza, glukomanany), disacharidů (sacharóza) a monosacharidů (glukóza, galaktóza, arabinóza, fruktóza, manóza, manitol, xylóza a ribóza). Také jsou zde obsaženy lipidy (ze 75 % triglyceridy), dále steroly, mastné kyseliny (linolová, lenolenová, olejová, palmitová, stearová) a cyklické diterpeny. Káva obsahuje několik druhů xantinů jako je kofein, teobromin a teofylin. V kávových zrnech nalezneme také draslík, hořčík, vápník, fosfor, síru, chrom, zinek, měď, nikl a železo. Obsah fenolických látek se pohybuje v množství od 200 do 550 mg na jeden šálek kávy. Procesem pražení však dochází k hlubokým změnám v chemickém složení a biologické aktivitě kávy v důsledku vzniku sloučenin odvozených od Maillardových reakcí a organické sloučeniny, které vznikají při pyrolýze. Ke změnám sloučenin síry dochází oxidací a tepelnou degradací [39,40].

Káva zvyšuje žaludeční sekreci a tvorbu moči, může také snižovat sérové koncentrace kyseliny močové a snižuje riziko vzniku žlučových kamenů, vzniku astma a různých alergických reakcí. Hlavní využití kávy bylo použití pro obsah kofeinu a tedy pro snížení ospalosti a únavy, pro zlepšení výkonu a vnímání. V poslední době se zvyšuje zájem o kávu především díky její antioxidační aktivitě. Cílem této studie bylo vyhodnotit činnost volných radikálů a antioxidační kapacitu u 14 druhů káv. Antioxidační kapacita byla zkoumána u kávy Arabica a Robusta získaných z 12 různých míst původu (Uganda, Papua, Jamajka, Etiopie, Keňa, dvě oblasti Portorika, Nikuragua, Kolumbie, Vietnam, Brazílie a Guatemala) a poté dvě kávy bez kofeinu z Kolumbie a Brazílie. Kávy byly připraveny třemi běžně používanými způsoby, a to espresso, italská káva a filtrovaná káva. Výsledky byly vyhodnoceny a porovnány s antioxidačními normami a obsahem fenolických látek, které byly popsány v kávě.

Měření celkové antioxidační aktivity TEAC bylo měřeno testem ABTS^{•+}. Byla použita činidla 2,5 mmol·dm⁻³ ABAP a 20 mmol·dm⁻³ ABTS²⁻ v roztoku fosfátového pufru (PBS) obsahujícího 100 mmol·dm⁻³ fosfátu a 150 mmol·dm⁻³ NaCl, pH bylo 7,4. Vše bylo

inkubováno při 60 °C po dobu 12 min, chráněno před světlem a skladováno při pokojové teplotě. Absorbance byla měřena při 734 nm a kontrolována s ABTS^{•-}, její výsledky musely být v rozmezí 0,35 – 0,45. Antioxidační aktivity analyzovaných vzorků, které se skládaly ze 40 µl směsi a 1960 µl radikálového roztoku, byly měřeny při 734 nm a úbytek absorbance byl proměřen po 6 min. Naměřené hodnoty prokázaly, že kávy bez obsahu kofeinu mají nižší hodnoty antioxidační aktivity než kávy s kofeinem. Nicméně, všechny vzorky kávy analyzované po 24 hod vykazovaly vyšší TEAC hodnoty, než vzorky kávy měřené po 6 min. Dále bylo zjištěno, že filtrovaná a italská káva analyzovaná po 6 min vykazovala vyšší TEAC než káva espresso. Když byly vzorky kávy analyzovány po 24 hod, rozdíly mezi třemi typy kávových nápojů se zvýšily v sestupném pořadí filtrovaná káva poté italská a espresso. Hlavním důvodem změn u speciálně upravovaných káv je ztráta asi 10 – 20 % antioxidační aktivity během ošetření parou. Hodnota TEAC podle antioxidační kapacity po 6 min byla stanovena v sestupném pořadí dle vzorků káv dle původu takto: Vietnam, Uganda, Nikaragua, Kolumbie, Brazílie, Portoriko, Guatemala, Keňa, Papua a u káv bez kofeinu: Kolumbie, Etiopie, Jamajka a Brazílie. Všechny sledované kávy jsou dobrými antioxidanty bez ohledu na jejich cenu, původ a způsob úpravy, jakým se vaří [40].

5.2 Antioxidační aktivita kakaových výrobků

Čokoládové a kakaové rozpustné potravinářské prášky jsou zdrojem antioxidantů. Přírodní rostlinné antioxidanty jsou běžnými sloučeninami, které mají potenciální zdravotní výhody. Kakao obsahuje celou řadu antioxidantů, rozpustné fenolické sloučeniny, nerozpustné polymerní fenoly. Pro tuto studii byly použity obchodní rozpustné kakaové prášky a čokolády, které jsou široce konzumovány ve Španělsku. Byly použity tmavé a mléčné čokolády s 52% a 34% obsahem kaka. Čokoláda a kakaová hmota byly před použitím pomlety a prosety do určité velikosti. 1 g vzorku byl smíchán se 40 ml okyseleného metanolu smíchaného s vodou v poměru 50:50 o pH 2,0. Posléze byly vzorky důkladně promíchány a ponechány po dobu 1 hod při pokojové teplotě. Po uplynutí daného času byl separát oddělen a k němu znovu přidáno 40 ml roztoku vody v acetonu v poměru 30:70 a bylo protřepáno. Výtažky byly použity pro stanovení antioxidační aktivity. Radikálový kationt ABTS^{•+} byl produkován reakcí ABTS s 10 ml 2,45 mmol.dm⁻³ síranu draselného a směs byla ponechána ve tmě při pokojové teplotě po dobu 12 – 16 hod před použitím. ABTS^{•+} byl zředěn s metanolem na absorbanci 0,70 ± 0,02 při 730 nm. Po

přidání 0,1 ml vzorku k 3,9 ml zředěného ABTS^{•+} byla každých 20 s měřena absorbance na spektrofotometru. Reakce byla sledována po dobu 6 min.

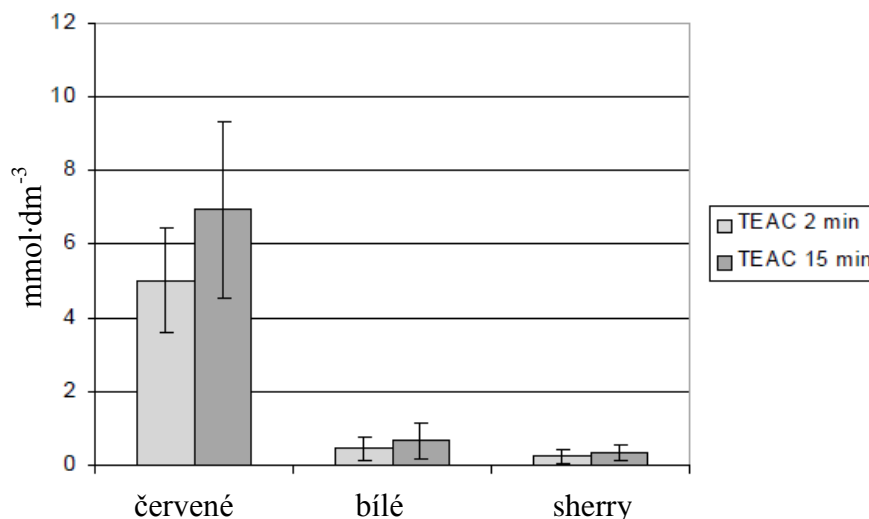
Ve zmiňované studii byly použity tři metody pro stanovení antioxidační aktivity: FRAP, ABTS a DPPH. Kakao je hlavní složka kakaových výrobků pro stanovování antioxidační aktivity. Přítomnost mléka v mléčné čokoládě částečně odpovídá za to, že obsah antioxidační aktivity je až o 50 % nižší než u hořké čokolády. Stejně tak to bylo v případě kakaových prášků. Antioxidační aktivita po rozpuštění v mléce byla o 35 % nižší než po rozpuštění ve vodě.

Průměrná spotřeba kakaových výrobků je 8,6 g na osobu na den. Z toho tvoří 75 % čokoláda a 25 % rozpustné kakaové prášky. Tyto údaje jsou reprezentativní na vnitrostátní úrovni, ale spotřeba čokolády není obyvatelstvem rovnoměrně spotřebovávána. Mnoho studií uvádí, že příjmem flavonoidů z kakaa se předchází chronickým chorobám a především kardiovaskulárním onemocněním [41].

5.3 Stanovení antioxidační aktivity vín

Víno je obecně známo, pro svůj ochranný proces organismu proti kardiovaskulárním a degenerativním onemocněním. Některé z účinků vína přímo souvisí s jejich schopností zhášet volné radikály, tato schopnost závisí na jejich chemické struktuře. Nejčastější metoda pro zjištění antioxidační aktivity je ABTS, test radikálním kationtem ABTS^{•+}. Tento test používá pro nápoje a potravina, ale také v biologických tekutinách. Bylo zkoumáno 42 druhů vín z různých ročníků a původů zakoupených v supermarketech. Vzorků bílého vína bylo 17, Sherry 9 a červeného 16. Vzorky byly otevřeny, chráněny před sluncem a skladovány při teplotě 4 °C. Analýza vzorků byla provedena během několika dnů. Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí ABTS^{•+} metody popsané Cenem *et al.* pro ovocné šťávy. Radikál vznikl reakcí mezi 1,5 mmol·dm⁻³ ABTS, 15 μl peroxidu vodíku a 0,25 mmol·dm⁻³ *peroxidázy* v 50 mmol·dm⁻³ glycin-HCl pufru o pH 4,5. Ke 100 μl byly přidány 2 ml ABTS^{•+} a absorbance byla měřena při 414 nm po uplynutí 2, 6, 10 a 15 min. Pro každý vzorek vína bylo připraveno 5 – 6 různých ředění. Vzorky byly připraveny ve vodném roztoku etanolu a analyzovány. Všechna měření byla provedena ve dvou stanoveních. Víno je komplexní směs fenolických sloučenin s rozmanitými chemickými strukturami, které dávají vínu zvláštní vlastnosti. Hodnoty TEAC odrážejí relativní schopnost zhášet radikální kationt ABTS^{•+} v porovnání s Troloxem. Červená vína prokázala vysokou antioxidační aktivitu s hodnotami TEAC

až 10krát vyššími než u bílého a Sherry vína. To souvisí s vyšším obsahem fenolických látek v červeném vínu. Žádné významné rozdíly mezi bílými víny a víny Sherry nebyly pozorovány. Srovnáním TEAC s jinými potravinami při využití metody ABTS jsou podle literatury takové, že jedna sklenka červeného vína (125 ml) má stejné antioxidační vlastnosti jako 212 ml hroznové šťávy, 190 ml pomerančové šťávy, 225 ml černého čaje, 286 g čerstvého špenátu nebo 926 g rajčat [42].



Obrázek 10 Průměrné TEAC hodnoty pro červená, bílá a Sherry vína [42]

5.4 Celková antioxidační aktivita chleba

Během pečení chleba dochází k různým chemickým změnám ve složení a také vlastností, což vede ke změnám nutričních hodnot konečného výrobku. Maillardovy reakce se přímo podílejí na těchto změnách, produkují nově vytvořené sloučeniny a na druhou stranu zlepšují organoleptické vlastnosti chleba jako je vzhled a chuť. Mezi nejzajímavější biologické aktivity spojené s těmito vzniklými sloučeninami jsou jejich antioxidační vlastnosti. Ostatní komponenty jako jsou fenolické sloučeniny, tokoly a vláknina, které jsou obsaženy v chlebové mouce, mohou také přispět k celkové antioxidační aktivitě. Byly analyzovány vzorky chlebů z pšenice a pšeničných otrub, které už byly předpečené, aby mohlo dojít, pouze ke konečnému pečení v domácnosti v horkovzdušných sušárnách. Vzorky byly dopékány při 200 °C po dobu 0, 12, 20 a 30 min. Chleby pečené po dobu 20 min byly vybrány i pro studium vlivu stravitelnosti chleba pomocí *pepsinu* a *pankreatinu*. Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno metodou ABTS, která byla provedena dle H.R. Andradeho. ABTS^{•+} byl produkován smícháním 7 mmol·dm⁻³

zásobního roztoku ABTS s $2,4 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ peroxodisíranu draselného a směs byla ponechána ve tmě a pokojové teplotě po dobu 12 – 16 hod před použitím. Stabilní roztok ABTS^{*+} se zředil směsí etanol:voda v poměru 50:50, aby absorbance při 730 nm byla $0,70 \pm 0,02$. Po přidání 100 ml vzorku k 1 ml zředěného ABTS^{*+} byly absorbance odečítány po 20 min. Pro kalibraci přístroje byly použity vodné roztoky Troloxu. Je známo, že *pepsin* hydrolyzuje pšeničný lepek a dochází tedy ke vzniku různých peptidů s vysokým stupněm antioxidační aktivity. Antioxidační aktivita se však nijak výrazně neměnila působením *pankreatinu* a žlučových solí, což potvrzuje zásadní úlohu *pepsinu* v uvolňování antioxidantů [43,44].

5.5 Stanovení antioxidační aktivity ve vybraných ovocných semenech

Antioxidanty v ovoci a zelenině chrání tělo před poškozením volnými radikály. Proto se považuje za důležité, aby byl zvýšen příjem antioxidantů v lidské stravě. Jedním ze způsobů dosažení tohoto cíle je obohacování potravin antioxidanty. Některé syntetické antioxidanty však vykazují toxicitu a vyžadují vysoké výrobní náklady. Většinou mají daleko nižší účinnost než antioxidanty přírodní. Antioxidační aktivita byla identifikována v semenech citrusů, hroznů, manga, řepky, slunečnice, sezamu, sněného semínka a včelího bobu. Ovocná semena jsou obecně známa pro svou antioxidační aktivitu. Pro toto stanovení byly použity následující druhy ovoce: avokádo (*Persea americana* Mill.), jackfruit neboli chlebovník (*Artocarpus hetetophyllus* Lam.), longan (*Dimocarpus longan* Lour.), mango (*Mangifera indica* L.) a tamarind (*Tamarindus indica* L.). Jedlé části semen z těchto pěti druhů vybraného ovoce byly sušeny mrazem při $-50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hod. Poté byly smíchány s roztokem etanolu:vody v poměru 50:50 a zahřívány na vodní lázni při $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu jedné hodiny. Extrakty byly posléze zfiltrvány a všechny filtráty se měřily metodou ABTS. Zásobní roztok byl připraven reakcí $7 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ABTS s $2,45 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ peroxosíranem draselným. Směs s kationtem ABTS^{*+} byla zředěna etanolem, aby absorbance měřitelná při 414 nm byla 0,5 – 1. $10 - 40 \text{ }\mu\text{l}$ vzorku bylo smícháno se 3 ml činidla ABTS^{*+} . Absorbance byla měřena ihned po promíchání a po 90 min. Celková antioxidační kapacita byla vypočtena ze vztahu k reaktivitě kyseliny askorbové. Jádro manga vykazovalo nejvyšší antioxidační činnost [45].

ZÁVĚR

Cereálie neboli obilniny doprovázejí naši společnost už od nepaměti. Jsou to vyšlechtěné jednoleté trávy řadící se botanicky mezi čeleď *Gramineae*. Vhodně zpracované obiloviny jsou v celosvětovém měřítku nejvýznamnějším přínosem energie ve formě sacharidů. Kromě sacharidů jsou však zdrojem mnoha dalších životně důležitých látek, které jsou v jiných potravinách obsaženy třeba i ve vyšších koncentracích, ale spotřebou se obilovinám nevyrovnají.

Obiloviny obsahují několik typů sloučenin, které jsou schopné minimalizovat škodlivé účinky oxidačních reakcí a mají významnou roli při ochraně před volnými radikály. Studie prokazují souvztažnost mezi antioxidační aktivitou látek přijímaných v potravě a prevencí některých onemocnění, jako jsou například kardiovaskulární choroby, neurologické poruchy či procesy stárnutí.

Existuje velký počet metod používaných pro stanovení antioxidační aktivity. Rozličnost metod vyplývá ze skutečnosti, že nízkomolekulární antioxidanty mohou působit různými mechanismy. Nejčastěji se jedná o přímou reakci s radikály, zhášení, nebo o reakci s přechodnými kovy.

Bakalářská práce se zabývá metodou ABTS a jejím využitím v oblasti cereálních a potravinářských technologií. ABTS je chemická sloučenina, sloužící pro stanovení celkové antioxidační aktivity, kdy bezbarvá molekula ABTS je převáděna na modro-zelený radikál $ABTS^{*+}$ oxidací jednoho elektronu. Metoda ABTS testuje schopnost vzorku či látek zhášet kation-radikál $ABTS^{*+}$ a toto zhášení se sleduje spektrofotometricky na základě změn absorpčního spektra $ABTS^{*+}$. Absorbance se nejčastěji měří při 734 nm. Jsou také i možnosti chemické oxidace ABTS, např. peroxidisíranem draselným nebo oxidem manganičitým.

Bakalářská práce slouží jako podklad pro následnou diplomovou práci, která se bude věnovat izolaci antioxidačních látek z obilovin a cereálních výrobků a jejímu následnému stanovení.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 2004, ISBN 80-7080-530-7
- [2] PRUGAR, J. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*, Praha: VÚPS, 2008, ISBN 978-80-86576-28-2
- [3] *Situační a výhledová zpráva obiloviny*, Ministerstvo zemědělství České republiky, Praha 2010, ISBN 978-80-7084-907-1 dostupné na:
<http://eagri.cz/public/web/file/93956/OBILOVINY_12_2010.pdf>
- [4] HRABĚ, J., HOZA, I., ROP, O. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. 1. vyd., Zlín: UTB, 2005, ISBN 80-7318-172-2
- [5] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*. Brno: MZLU 2004, ISBN 978-80-7157-811-6
- [6] BENDA, V., BABŮREK, I., ŽDÁSKÝ, J. *Biologie II, nauka o potravinářských technologiích*, Praha: VŠCHT, 2002
- [7] BAUBLIS, A. J. Potential of Wheat – Based Breakfast Cereals as a Source of Dietary Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 2000, vol. 19, no. 3., 3085 – 3115
- [8] VELÍŠEK, J., CEJPEK, K. *Biosynthesis of Food Components*. 1. vyd., Tábor: Ossis, 2008, ISBN 978-80-86659-12-1
- [9] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*, 2. vyd., Praha: Academia, 2006, ISBN 978-80-200-0600-4
- [10] SVAČINA, Š. a kol. *Klinická dietologie*, Praha: Grada publishing a.s., 2008, ISBN 8024722569
- [11] BRINCH-PEDERSEN, H., BORG, S., TAURIS, B., HOLM, B. Molecular Genetic Approaches to Increasing Mineral Availability and Vitamin Content in Cereals. *Journal of Cereal Science*, 2007, vol. 46, iss. 3, 308 – 326
- [12] FERDET, A., ROCK, E., REMES, CH. Is the *In vitro* Antioxidant Potential of Whole-grain Cereals and Cereal Products Well Reflected *in vivo*? *Journal of Cereal Science*, 2008, vol. 48, 258 – 276
- [13] KOPÁČOVÁ, O. *Výzkum pšenice durum*. Agronavigátor [online] 15.12.2004 [cit.2010-11-05]. Dostupné na:
<<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=154&ch=13&typ=1&val=31478>>

- [14] MOUDRÝ, J. *Bezpluchý oves: Realizační výstup resortního úkolu "Intenzifikace výroby v pohraničních oblastech Jihočeského a Západočeského kraje"*. Praha: Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, 1992.
- [15] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*, 2004, č. 98, 174 – 179
- [16] SUKOVÁ, I. *Antioxidační aktivita potravin*. Agronavigátor [online]. 26. 11. 2004 [cit. 2011-02-18] Dostupné na:
<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=161&ch=13&typ=1&val=31119>
- [17] ULC, M., LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSAK, M., DVOŘÁK, P., HORÁČKOVÁ, V. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chemické listy*, 2007, č. 101, 584 – 591
- [18] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L., HOLČAPEK, M. *Analýza antioxidantů v chmelu a pivu* [online]. 2007 [cit. 2011-02-18] Dostupné na:
<http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Fidler.pdf>
- [19] KARABÍN, M., DOSTÁLEK, P., HOFTA, P. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chemické listy*, 2006, č. 100, 184–189
- [20] ZLOCH, Z., ČELAKOVSKY, J., AUJEYDSKA, A. *Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu*, Plzeň: Ústav hygieny Lékařské fakulty UK, 2004
- [21] MARTINKOVA, Z. *Stanovení antioxidační aktivity fenolických látek v pivu* Bakalářská práce [online] 2009 [cit. 2011-02-18] Dostupné na:
<http://dspace.upce.cz/handle/10195/34585>
- [22] LEE, CH., YOON, J. UV Direct Photolysis of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) in Aqueous Solution: Kinetics and Mechanism. *Journal of photochemistry and photobiology*, 2008, Vol. 197, Iss. 2-3, 232 – 238
- [23] DAYAN, N. *Skin Aging Handbook - An Integrated Approach to Biochemistry and Product Development*. William Andrew Publishing, 2008, ISBN 978-0-8155-1979-9
- [24] SERPEN, A., GÖKMEN, V., PELLEGRINI, N., FOGLIANO, V. Direct Measurement of the Total Antioxidant Capacity of Cereal Products. *Journal of Cereals Science*, 2008, vol. 28, iss. 2, 816 – 820

- [25] TRUSWEL, A. Cereal Grains and coronary heart disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, vol. 56, 1 – 14
- [26] SERPEN, A., CAPUANO, E., FOGLIANO, V., GÖKMEN, V. A New Procedure to Measure the Antioxidant Activity of Insoluble Food Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, vol. 55, 7676 – 7681
- [27] RAGAEI, S., ABDEL-AAL, E. M., NOAMAN, M. Antioxidant Activity and Nutrient Composition of Selected Cereals for Food Use. *Food Chemistry*, 2006, vol. 98, 32 – 38
- [28] SHEN, Y., JIN, L., XIAO, P., BAO, J. Total Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Capacity in Five Grain and their Relations to Grain Colour, Size and Weight. *Journal of Cereal Science*, 2009, vol. 49, 106 – 111
- [29] Goffman, F.D., Bergman, C.J. Rice Kernel Phenolic Content and its Relationship with Antiradical Efficiency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2004, vol. 84, 1235 – 1240
- [30] IQBAL, S., BHANGER, M. I., ANWAR, F. Antioxidant Properties and Components of Some Commercially Available Varieties of Rice Bran in Pakistan *Food Chemistry*, 2005, vol. 93, 265 – 272
- [31] MELEKIAN, F., RAO, R., PRINYAWIWATKUL, W., MARSHALL, W. E., WINDRAUSER, M., AHMENDA, M. Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality, and Nutrient Losses in Rice Bran During Storage, *Bulletin*, 2000, vol. 870, 1 – 68
- [32] ZUO, Y., CHEN, H., DENG, Y. Simultaneous Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acids in Green, Oolong, Black and Puerh Teas Using HPLC with a Photodiode Array Detector. *Talanta*, 2002, vol. 57, 307 – 316
- [33] RE, R., PELLEGRINI, N., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolourisation Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, 1231 – 1237
- [34] ZHU, K., LIAN, C., GUO, X., PENG, W., ZHOU, H. Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of Various Extracts from Defatted Wheat Germ. *Food Chemistry*, 2011, vol. 126, 1122 – 1126
- [35] RATMAN, D., ANKOLA, D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D., KUMAR, R. Role of Antioxidants in Prophylaxis and Therapy: A Pharmaceutical Perspective. *Journal of Controlled Release*, 2006, vol. 113, 189 – 207

- [36] LOPEZ-MARTINEZ, L., OLIART-ROS, R., VALERIO-ALFADO, G., LEE, CH., PARKIN, L., GARCIA, H. Antioxidant Activity, Phenolic Compounds and Anthocyanins Content of Eighteen Strains of Mexican Maize. *LWT - Food Science and Technology*, 2009, vol. 42, 1187 – 1192
- [37] PARRA, D., SERNA, S., LIU, R. Effect of Processing on the Phytochemical profiles and Antioxidant Activity of Corn for Production of Masa, Tortilla and Tortilla Chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, vol. 55, 4177 – 4183
- [38] HUANG, D., PRIOR, R. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, 1841 – 1856.
- [39] Pössl M. *Káva jako životní styl*. Praha: Grada publishing a.s., 2010, ISBN 80-2472-822-2
- [40] PARRAS, P., MARTINEY-TOME, M., JIMENEZ, A. M., MURCIA, M. A. Antioxidant Capacity of Coffees of Several Origins Brewed Following Three Different Procedures. *Food chemistry*, 2007, vol. 102, 582 – 592
- [41] TABERNERO, M., SERRANO, J., SAURA-CALIXTO, F. The Antioxidant Capacity of Cocoa Products: Contribution to the Spanish Diet. *International Journal of Food Science and Technology*, 2006, vol. 41, 28 – 32
- [42] VILLANO, D., FERNANDEZ-PACHON, M. S., TRONCASO, A. M., GARCIA-PARRILLA, M. The Antioxidant Activity of Wines Determined By the ABTS^{•+} Method: Influence of Sample Dilution and Time. *Talanta*, 2004, vol. 64, 501 – 509
- [43] RUFIAN-HENARAS, J.A., DELGADO-ANDRADE, C. Effect of Digestive Process on Maillard Reaction Indexes and Antioxidant Properties of Breakfast Cereals. *Food Research International*, 2009, vol. 4, 394 – 400
- [44] DELGADO-ANDRADE, C., CONDRE-AGUILERA, J.A., HARO, A., PASTORIZA DE LA CUEVA, S., RUFIAN-HENARES, J.A. A Combined Procedure to Evaluate the Global Antioxidant Response of Bread. *Journal of Cereal Science*, 2010, vol. 52, 239 – 246
- [45] SOONG, Y., BARLOW, P. J. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Fruit Seeds. *Food Chemistry*, 2004, vol. 88, 411 – 417

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

| | |
|-------------------|--|
| ABAP | 2,2'-azobis-2-metyl-propionamidin |
| ABTS | 2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina) |
| ABTS ⁺ | 2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydro-benzotiazol-6-sulfonát) |
| DPPH | 2,2-difenyl-1-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl |
| FRAP | Ferric Reduction Antioxidant Power (metoda založená na redukci železitého komplexu) |
| ORAC | Oxygen Radical Absorbance Capacity (metoda, kdy dochází k vytvoření peroxylového radikálu β -fykoeritru) |
| SAE | Spojené arabské emiráty |
| TAA | Total antioxidant activity (celková antioxidační aktivita) |
| TEAC | Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (metoda, která vyjadřuje antioxidační kapacitu vzorku ekvivalentní určitému množství standardu Troloxu) |
| TEC | Total antioxidant capacity (celková antioxidační kapacita) |
| TPTZ | 2,4,6-tripyridyl-S-triazin |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 Anatomická stavba obilného zrna | 13 |
| Obrázek 2 Pšenice ozimá - květenství, začátek tvorby zrna..... | 16 |
| Obrázek 3 Ječmen jarní..... | 17 |
| Obrázek 4 Oves bezpluchý | 18 |
| Obrázek 5 Kukuřice | 18 |
| Obrázek 6 Oxidace ABTS na ABTS ⁺ | 25 |
| Obrázek 7 Porovnání hodnot antioxidační aktivity | 28 |
| Obrázek 8 Porovnání antioxidační aktivity (míry schopnosti zhášení radikálu ABTS) u pšeničné mouky a testovaných cereálií | 30 |
| Obrázek 9 Stanovení antioxidační aktivity pomocí ABTS..... | 33 |
| Obrázek 10 Průměrné TEAC hodnoty pro červená, bílá a Sherry vína..... | 38 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| Tabulka 1 Chemické složení obilovin [%] | 14 |
|---|----|