

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



***In vitro* trávení pšenice a pšeničných výrobků a jeho vliv
na obsah karotenoidů**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Kateřina Mysíková

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.

Konzultanti: Ing. Veronika Jarošová, Ing. Luboš Paznocht, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „*In vitro* trávení pšenice a pšeničných výrobků a jeho vliv na obsah karotenoidů“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, věcné připomínky, dobré rady a vřelý přístup při zpracování práce. Dále bych ráda poděkovala konzultantům Ing. Lubošovi Paznochtovi, Ph.D. a Ing. Veronice Jarošové za pomoc a velkou ochotu při zpracování praktické části diplomové práce a provedení samotného experimentu.

***In vitro* trávení pšenice a pšeničných výrobků a jeho vliv na obsah karotenoidů**

Souhrn

Pšenice je významným zemědělským produktem a značnou měrou přispívá k zajištění nutričních potřeb člověka. Představuje významný zdroj energie v podobě sacharidů, bílkovin, vlákniny, vitaminů zejména skupiny E a B, minerálních látek a také biologicky aktivních látek jako jsou například karotenoidy a antokyany, jež jsou silnými antioxidanty. Jejich antioxidační aktivita spočívá ve schopnosti zhaset volné radikály a bránit tak vzniku a rozvoji oxidačního stresu. Během trávení dochází ke změnám v obsahu antioxidantů z původní matrice, doposud však není známo, k jakým a jak velké ztráty během trávení mohou být.

V této práci bylo použito deset odrůd pšenic s různou barevností zrn, a to standardní červené zrna, dále zrna se žlutým endospermem, purpurovým perikarpem a v neposlední řadě s modrou aleuronovou vrstvou. Zrna byla tepelně zpracována vařením ve vroucí vodě po dobu 30 minut. Celkový obsah karotenoidů byl stanoven v syrových i tepelně zpracovaných zrnech. Identifikace karotenoidů probíhala porovnáním jejich retenčních časů a absorpčních spekter se zakoupenými standardy a následná kvantifikace byla provedena metodou externí kalibrace. Tepelně upravená zrna byla následně trávena pomocí *in vitro* statického modelu trávení. Po intestinální fázi byly vzorky zamrazeny na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, lyofylizovány po dobu 100 hodin v temnu a analyzovány pomocí HPLC.

V syrovém pšeničném znu byl identifikován a kvantifikován lutein a jeho estery, zeaxantin a β -karoten. Dominantním karotenoidem byl shledán lutein, který představoval až 62 % z celkového obsahu karotenoidů. Nejvyšším obsahem karotenoidů se v průměru vyznačovaly odrůdy pšenice se žlutým endospermem ($3,57\text{ }\mu\text{g/g}$), naopak nejméně karotenoidů bylo průměrně nalezeno v pšenicích s modrým aleuronem ($0,85\text{ }\mu\text{g/g}$). Pšenice s purpurovým perikarpem ($1,32\text{ }\mu\text{g/g}$) dosáhly srovnatelných či vyšších obsahů karotenoidů než tradiční pšenice s červenými zrny ($0,89\text{ }\mu\text{g/g}$). Po tepelné úpravě celkový obsah karotenoidů poklesl o 27,3 %, přičemž nejvíce stabilní se zdál být zeaxantin, který poklesl pouze o 7,7 % oproti luteinu, který poklesl o 26,3 %. β -karoten byl stanoven pouze u odrůdy Konini ($0,081\text{ }\mu\text{g/g}$), naopak v odrůdách Citrus a Bona Vita byl pod limitem kvantifikace a v ostatních odrůdách nebyl detekován. Následnou simulací trávení došlo k poklesu celkového obsahu karotenoidů o 40 %. Nejmenší ztráty vykazovaly pšenice se žlutým endospermem (v průměru pokles na $1,41\text{ }\mu\text{g/g}$), naopak v pšenicích s červeným zrnem došlo k poklesu v průměru na $0,47\text{ }\mu\text{g/g}$. Co se týče karotenoidů došlo k celkovému poklesu zeaxantinu na 68,3 %, luteinu na 73,7 %, esterů luteinu na 53,4 % a β -karoten již nebyl detekován.

Bylo zjištěno, že karotenoidy jsou schopné odolat trávení v lidském těle a zůstat tak nadále využitelné pro lidský organismus, nicméně jejich biologická dostupnost je ovlivněna mnoha faktory, přičemž nejvýznamnější se zdá být tepelné zpracování.

Klíčová slova: *In vitro* model trávicí soustavy; karotenoidy; pečivo; pšenice; trávicí soustava člověka

***In vitro* digestion of wheat and its effect on carotenoid content**

Summary

Wheat is an important agricultural product and contributes significantly to the nutritional needs of humans. It is an important source of energy in the form of carbohydrates, proteins, fiber, vitamins, especially vitamins E and B, minerals and also biologically active substances such as carotenoids and anthocyanins, which are powerful antioxidants. Their antioxidant activity consists in their ability to catch up free radicals and thus prevent the formation and development of oxidative stress. During digestion there are changes in the content of antioxidants from the original matrix, but it is not yet known what and how much losses during digestion can be.

In this work ten wheat varieties with different grain colors were used, namely standard red grains, grains with yellow endosperm, purple pericarp and last but not least with blue aleurone layer. The grains were heat treated by boiling in boiling water for 30 minutes. The total carotenoid content was determined in raw and heat treated grains. The identification of carotenoids was carried out by comparing their retention times and absorption spectra with purchased standards and subsequent quantification was performed by an external calibration method. The heat treated grains were subsequently digested using an *in vitro* static digestion model. After the intestinal phase, the samples were frozen at -80 ° C, lyophilized for 100 hours in the dark and analyzed by HPLC.

In raw wheat grain, lutein and its esters, zeaxanthin and β -carotene were identified and quantified. The dominant carotenoid was found to be lutein, which represented up to 62% of the total carotenoid content. The highest content of carotenoids was on average characterized by varieties of wheat with yellow endosperm (3.57 $\mu\text{g/g}$), while the least carotenoids were found on average in blue aleurone (0.85 $\mu\text{g/g}$) wheat. Purple pericarp wheat (1.32 $\mu\text{g/g}$) achieved comparable or higher carotenoid content than traditional red grain wheat (0.89 $\mu\text{g/g}$). After heat treatment, the total carotenoid content decreased by 27.3%, with zeaxanthin appearing to be most stable, which decreased only by 7.7% compared to lutein, which decreased by 26.3%. β -carotene was determined only in the Konini variety (0.081 $\mu\text{g/g}$), whereas it was below the limit of quantification in the Citrus and Bona Vita varieties and was not detected in the other varieties. The subsequent digestion simulation resulted in a 40% decrease in the total carotenoid content. Yellow endosperm wheat showed the lowest losses (on average 1.41 $\mu\text{g/g}$), whereas in red grain wheat it decreased to 0.47 $\mu\text{g/g}$ on average. For carotenoids, there was an overall decrease in zeaxanthin to 68.3%, lutein to 73.7%, lutein esters to 53.4%, and β -carotene was no longer detected.

Carotenoids have been found to be able to resist digestion in the human body and thus remain useful for the human body, but their bioavailability is influenced by many factors, with heat treatment appearing to be the most important.

Keywords: Carotenoids; human digestive system; *in vitro* model of the digestive system; pastry; wheat

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	2
	2.1 Vědecká hypotéza.....	2
	2.2 Cíl práce.....	2
3	Literární rešerše	3
	3.1 Obiloviny.....	3
	3.2 Obilné zrno	3
	3.3 Významné druhy obilovin	5
	3.4 Pšenice.....	5
	3.5 Sacharidy	10
	3.6 Metabolismus sacharidů.....	12
	3.7 Fytochemikálie	13
	3.8 Karotenoidy	15
	3.9 Lidské trávení.....	25
4	Metodika a materiál	28
	4.1 Materiál.....	28
	4.2 Metodika	29
5	Výsledky	33
	5.1 Identifikace a kvantifikace karotenoidů	33
	5.2 Stanovení obsahu karotenoidů v syrovém zrně	34
	5.3 Stanovení obsahu karotenoidů ve vařeném pšeničném zrně	34
	5.4 Stanovení obsahu karotenoidů v trávenině	35
6	Diskuze	38
7	Závěr.....	45
8	Literatura	46
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	56
10	Seznam obrázků a tabulek.....	57

1 Úvod

Pšenice je nejstarší kulturní plodina a v současnosti v celosvětovém měřítku nejdůležitější potravinový zdroj. Je nejvíce využívanou obilovinou pro výrobu mouky a následně celé řady potravin jako je například chléb, pečivo nebo těstoviny. Pro minimálně třetinu světové populace představuje základní zdroj potravy a její pěstování je spjato s rozvojem moderní civilizace (Farre et al. 2015; Boukid et al. 2018). Je cenným zdrojem mnoha látek, a to zejména sacharidů, bílkovin, vlákniny, vitaminů, minerálů, karotenoidů a dalších významných biologicky aktivních látek (Andersson et al. 2014). Běžně pěstované odrůdy pšenice mají červenou barvu zrna, nicméně jsou zde i genotypy s geneticky podmíněným netradičním zbarvením zrna. Tyto barevné odrůdy pšenice jsou navíc bohaté na přírodní pigmenty, jako jsou karotenoidy a antokyany, které jsou významnými antioxidanty s příznivým vlivem na zdraví člověka (Lachman et al. 2017).

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty, které jsou syntetizovány v plastidech rostlin a v některých dalších fotosyntetických organismech, jako jsou řasy, bakterie a houby. Lidé a většina zvířat je neschopni syntetizovat a proto musí být získány z různých zdrojů potravy (Farre et al. 2015). V lidské výživě představují nejdůležitější zdroj provitaminů A. Hlavní význam nejen karotenoidů, ale i antokyanů a dalších fenolických látek spočívá v antioxidantních vlastnostech a pro člověka, jakožto konzumenta, přináší mnohé zdravotní benefity. V organismu antioxidanty účinně působí proti rozvoji oxidačního stresu a následnému poškození mnohých biomolekul jako například nukleových kyselin, proteinů nebo lipidů buněčných membrán. Toto poškození je považováno za jednu z hlavních příčin rozvoje civilizačních onemocnění, jako jsou nádorová, kardiovaskulární či jiná onemocnění spojená se stárnutím organismu. V této souvislosti roste zájem odborné, ale i laické veřejnosti o nutričně hodnotné potraviny. (Amorim et al. 2014; Kruger et al. 2016)

Biologická dostupnost karotenoidů v lidském těle závisí zejména na trávení a následném uvolnění z potravinové matrice, formování smíšené tukové micely ve střevním lumenu, a nakonec na absorpci karotenoidů střevními buňkami sliznice. Vstřebatelnost uvolněných karotenoidů z potravinové matrice je v trávicím traktu člověka relativně nízká, nicméně míra a rychlost jejich vstřebávání může být ovlivněna a obvykle zvýšena nejen předchozím kulinárním zpracováním, ale také dalšími faktory, jako například přítomností potravinové matrice a tuku. Charakteristická struktura dává karotenoidům nejen zdraví prospěšné účinky, ale díky ní jsou také nestabilní vůči světlu a kyslíku (Nagao 2014). Degradace karotenoidů závisí na působení mnoha vnějších faktorů, jako je například vysoká teplota, extrémní hodnoty pH, přítomnost kyslíku, UV světlo a také působení vnitřních faktorů například enzymatické aktivity. K hlavním změnám ve složení a obsahu karotenoidů, ke kterým dochází v potravinách během jejich zpracování a tepelné úpravě je oxidační rozklad a geometrická izomerace. Biologická dostupnost nejen karotenoidů ale i dalších funkčních složek potravin ve stravě je obecně jedním z klíčových faktorů ovlivňujících jejich skutečnou biologickou účinnost (Hidalgo et al. 2010).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Vědecká hypotéza

Karotenoidy obsažené v pšeničném zrně mají schopnost odolat trávení v lidském trávicím traktu, přesto zůstávají nadále využitelná lidským organismem.

2.2 Cíl práce

Cílem práce je pomocí *in vitro* modelu trávení stanovit množství nezměněných karotenoidů využitelných lidským organismem.

3 Literární rešerše

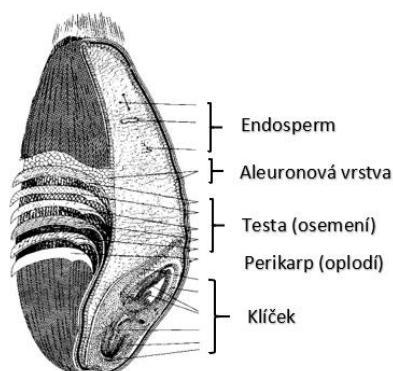
3.1 Obiloviny

Obiloviny představují celosvětově nejvýznamnější část denního kalorického příjmu v lidské potravě. Začátky pěstování obilovin sahají až 10 tisíc let před naším letopočtem, kdy tehdejší civilizace sídlící na území jihozápadní a Malé Asie, Mezopotámie, Egypta a indiánských oblastí znala divoce rostoucí traviny, z kterých se postupným šlechtěním vyvinuly různé druhy obilovin. (Kumar & Prabhasankar 2014). Mezi tři hlavní pěstované obiloviny patří pšenice (*Triticum aestivum* L.), kukuřice (*Zea mays* L.) a rýže (*Zea mays* L.), které společně představují až 75 % světové produkce obilovin. Obiloviny jsou významné nejen díky svým nutričním vlastnostem, ale také díky obsahu bioaktivních látek, jako jsou například fenolové sloučeniny. Tyto látky jsou dávány do souvislosti se snížením oxidačního stresu a tím mohou sloužit jako prevence u řady onemocnění včetně chronických onemocnění (Kumar & Prabhasankar 2014; Hung 2016).

Botanicky jsou řazeny do čeledi lipnicovitých a patří převážně mezi jednoleté rostliny, ale mohou růst i více let. Mají dlouhé, tenké stonky a svazčitý kořenový systém. Díky stejnému původu se jednotlivé rostliny z velké části podobají a mají také podobnou strukturu (Sarwar et al. 2013). Mezi jejich významné vlastnosti a výhody pro pěstování patří odolnost vůči působení pesticidů, možnost dlouhodobého skladování a tím umožnění vytvářet značné zásoby (Evans & Wardlaw 2017).

3.2 Obilné zrno

Obilné zrno, a především jeho skladba, je významná při hodnocení, skladování či zpracování a skládá se z obalových vrstev, endospermu a klíčku (obr. 1). Jednotlivé části se u zrna liší svými vlastnostmi, funkcemi, objemem a hmotností. Jejich složení je závislé zejména na klimatických podmínkách, množství živin v půdě nebo na pěstované odrůdě (Boukid et al. 2018).



Obrázek 1: Stavba obilného zrna (Boukid et al., 2018).

Obalové vrstvy (*ektosperm*) tvoří 8–12,5 % z hmotnosti zrna a jejich funkce spočívá v ochraně klíčku a endospermu před vysycháním a mechanickým poškozením. Skládají se z pokožky, oplodí a osemení a jsou tak především hlavním zdrojem vlákniny a minerálních látek. Nejsvrchnější vrstvou je pokožka (*epidermis*), tvořena nerozpustnými látkami, které obilku chrání nejen před mechanickým poškozením, ale i před účinky vody a škodlivých látek.

Další vrstvou je *testa* nebo-li osemení, což je hydrofobní tkáň bohatá na lignin, charakterizovaná přítomností lipidových sloučenin jako jsou alkylresorcinoly přítomné v kutikule na povrchu této tkáně. A jako poslední *perikarp* nebo-li oplodí, který leží v nejbližších vrstvách a je složen ze tří vrstev, které při mletí zrna přechází do otrub: *epikarpem*, *mesokarpem* a *endokarpem* (Prückler et al. 2014; Boukid et al. 2018).

Od *ektospermu* je aleuronovou vrstvou oddělen *endosperm*, který tvoří největší část obilky (80–85 %). Obsahuje zejména škrob a bílkoviny a bývá vymlet do pšeničných mouk (Colgrave et al. 2015). Oddělující aleuronová vrstva je tvořena živými buňkami, které oklopují bioaktivní sloučeniny a obsahuje zejména vitaminy, minerální látky, protoplasmatické bílkoviny a tuky (Hemery et al. 2007; Boukid et al. 2018).

Nejmenší částí zrna (3 %) je klíček (*embryo*), který představuje cenný zdroj tuků, bílkovin, jednoduchých cukrů, enzymů a vitaminů rozpustných v tucích zejména skupiny E a B. Nicméně při mlýnském zpracování je odstraňován, protože je na vzduchu velmi nestabilní a z důvodu vysokého obsahu tuku může způsobit žluknutí (Yu et al. 2015).

Z chemického hlediska se obilné zrno skládá z vody a sušiny (tab. 1). Maximální obsah vody je stanoven, dle vyhlášky č. 18/2020 Sb. o požadavcích na mlýnské obilné produkty, těstoviny, pekařské a cukrářské výrobky a těsta, na maximálně 15 %. Sušina je tvořena ze 75 % sacharidy, z 10–15 % bílkovinami a z 2 % lipidy. Obiloviny se považují za významný zdroj energie díky převaze obsahu sacharidů (Šrámková & Agricultural 2017). Sacharidy mají v obilném zrně zásobní a stavební funkci. K zásobním polysacharidům patří především škrob, naopak stavební polysacharidy zastupuje celulóza, lignin a hemicelulóza, které se vyskytují zejména v buněčných stěnách (Shewry et al. 2013).

Tabulka 1: Látkové složení v jednotlivých částech obilného zrna (%) (Šrámková & Agricultural 2017).

	Škrob	Bílkoviny	Lipidy	Celková vláknina
<i>Oplodí a osemení</i>	-	6,9	0,8	50,9
<i>Aleuronová vrstva</i>	-	31,7	9,1	11,9
<i>Endosperm</i>	80,4	12,6	1,6	0,6
<i>Klíček</i>	-	34,0	27,6	2,4

Bílkoviny v obilném zrně jsou tvořeny zejména glutatovou kyselinou ve formě glutaminu a prolineem, limitující aminokyselinou představuje lyzin. Další významnou složkou v obilném zrně je lepek složený z gliadinu a gluteninu. Má rozhodující vliv při tvorbě těsta, předurčuje pekařské vlastnosti a jeho kvalita je charakterizována tažností, pružností a bobtnavostí ve slabém roztoku kyseliny mléčné (Kawakatsu & Takaiwa 2010; Ma et al. 2019). Tuky se v obilném zrně vyskytují v minimální koncentraci, a to především v klíčku. Z 80 % jsou tvořeny nenasycenými mastnými kyselinami, především linolovou (50 %) a olejovou kyselinou (30 %). Tyto mastné kyseliny přispívají ke snížení cholesterolu v krvi a snižují riziko kardiovaskulárních chorob. Mezi obiloviny s nižším obsahem tuků patří pšenice, ječmen, rýže a čirok. V neposlední řadě nemůžeme zapomenout na výskyt karotenoidů, fosfolipidů, sterolů a v tucích rozpustných vitaminů (Kawakatsu & Takaiwa 2010; Bernstein et al. 2013).

3.3 Významné druhy obilovin

Mezi nejčastěji pěstované obiloviny patří pšenice, ječmen, oves, žito, kukuřice, rýže, proso a čirok (Kumar et al. 2017). Světové zemědělské produkci dominují tři obiloviny, a to pšenice, kukuřice a rýže s ročními výnosy více než 2 miliardy tun. Nicméně pšenice má nejširší celosvětovou distribuci v oblastech mírného pásu od Skandinávie po Argentinu, ve vyšších nadmořských výškách a tropech. Kromě toho je také nejdůležitější obilovinou lidské výživy (Shewry et al. 2013).

3.4 Pšenice

Pšenice obecná, latinsky *Triticum aestivum L.* je u nás, ale i celosvětově nejpěstovanější obilovinou. Její použití je prakticky univerzální a je nejvhodnější a nejdůležitější pro řadu potravinářských výrobků. Z důvodu obsahu a kvality lepku má vynikající pekařské vlastnosti. Například pšeničná mouka se používá k výrobě chleba, sušenek, cukrářských výrobků, nudlí nebo také k výrobě seitanu, což je potravina vyrobená z pšeničného lepku. Ve velkém se používá i jako krmná obilovina a je dobře využitelná také pro další průmyslové zpracování, jako je například výroba škrobu a lihu. Mezi její další klady je plasticita, prošlechtěnost, variabilita odrůd a výnosové schopnosti (Shewry et al. 2013; Evans & Wardlaw 2017; Kumar et al. 2017).

3.4.1 Historie pěstování

Začátky pěstování pšenice úzce souvisí s přechodem od lovu zvěře a sběru bobulí a kořínků ke vzniku polnohospodářství v 8.–10. tisíciletí před naším letopočtem v rámci „neolitické revoluce“. První pěstovanou formou pšenice byla diploidní pšenice jednozrnka s genomem AA a tetraploidní pšenice dvouzrnka s genomem AABB. Záznamy ukazují, že první formy pocházejí z jihovýchodní části Turecka (Evans & Wardlaw 2017). Pěstování pšenice se dále rozšířilo na Blízký východ, kde se asi před 9 000 lety pěstovala první hexaploidní forma pšenice, a to pšenice špaldová. Nicméně během posledních 2 století byly tyto uvedené druhy téměř úplně nahrazeny pšenicí setou s vyšším výnosem a bez mlácení. V současné době převládá produkce pšenice tvrdé, která dosahuje přibližně 5 % celosvětové produkce pšenice (Longin & Carle 2016).

Na druhou stranu se v posledních letech spotřebitelé poptávají po pšenici špaldové, a to zejména v Německu. Jedním z důvodů je, že pekárenské výrobky nebo jiné výrobky z nich vyrobené jsou obecně vnímány jako „zdravé“ alternativy těm, které jsou vyrobeny z klasické pšeničné mouky (Longin & Carle 2016).

3.4.2 Současnost

V rámci Evropské unie (EU) má pšenice druhé postavení hned po rýži jako nejdůležitější potravinářská plodina. V letech 2013/2014 země v Evropské unii vypěstovaly přes 143 milionů metrických tun pšenice, což je ve srovnání asi o 15 % více než Čína, o 35 % více než Indie a o 60 % více než USA (Spojené státy americké). Největšími producenty pšenice v rámci EU je Francie a Německo, které sklízí přibližně 17 % celkové sklizně EU. Za 10 let se produkce

zvýšila v rámci EU o 23 %, zatímco v USA přibližně jen o 8 %. Evropská unie v současné době vyváží až 15 % své sklizně a toto číslo každoročně roste. Jedna třetina sklizně připadá na lidskou potravu a přibližně dvě třetiny sklizně na krmivo pro hospodářská zvířata a další (Fones & Gurr 2015).

V České republice se osevní plochy a celková sklizeň pšenice každoročně zvyšovaly až do roku 2018, kdy došlo k mírnému poklesu. Nicméně v roce 2019 se odhaduje celková sklizeň obilovin až o 9,8 % vyšší (tab. 2) (ČSÚ, 2019).

Tabulka 2: Osevní plochy, celková sklizeň a výnos dle Českého statistického úřadu (2019).

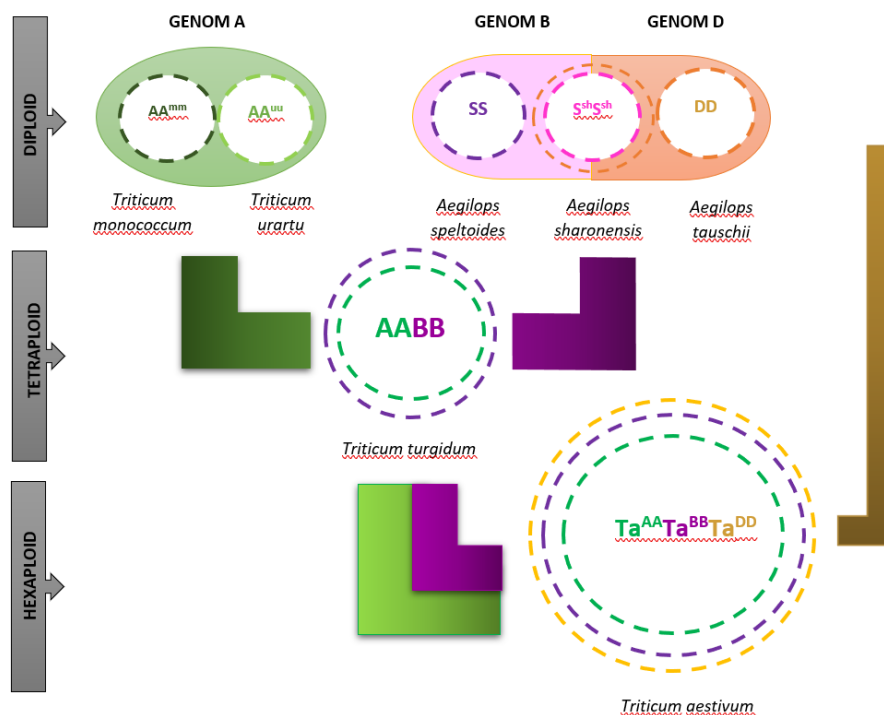
<i>Rok</i>	<i>Osevní plocha (ha)</i>	<i>Sklizeň v tunách</i>	<i>Výnos v t/ha</i>
<i>2015</i>	829 820	5 328 552	6,42
<i>2016</i>	839 710	5 478 908	6,52
<i>2017</i>	832 062	4 649 345	5,59
<i>2018</i>	819 690	4 373 408	5,34
<i>2019</i>	839 446	4 865 433	5,80

Pšenice jako taková obsahuje obecně velké množství nutričně prospěšných makroživin i mikroživin a je známá pro svůj obsah fytochemikáliích a vitaminů, které mají prospěšný vliv na lidské zdraví, a to zejména karotenoidy a vitamin E (Longin & Carle 2016).

3.4.3 Domestikace pšenice a šlechtitelské cíle

Jedním z důvodů úspěšnosti pšenice na světové úrovni je její adaptibilita ke změnám klimatických podmínek. Nicméně požadavky na produkci pšenice nezadržitelně rostou a pěstitelé tak musí čelit většímu používání hnojiv, nákladům na pěstování, klimatickým změnám a meziročně nestabilnímu výnosu. K vývoji nových odrůd slouží informace o genomech obilovin, které vedou k porozumění významným zemědělským vlastnostem na molekulární úrovni (Yue et al. 2018).

V současné době používaným druhem pšenice je allohexaploid (AABBDD) *Triticum aestivum*, který vznikl ze dvou významných hybridizačních událostí. K první hybridizaci došlo před 0,5–3 miliony let mezi dvěma diploidními předky. Donorem genomu byl planý druh *Triticum urartu*. Donorem genomu B je dosud neznámý druh, který je ovšem úzce příbuzný s *Aegilops speltoides*. Po zkřížení těchto dvou diploidů se vytvořil divoký tetraploidní druh *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccum*. s genomem AABB (obr. 2) (IWGSC 2014; Shi & Ling 2017).



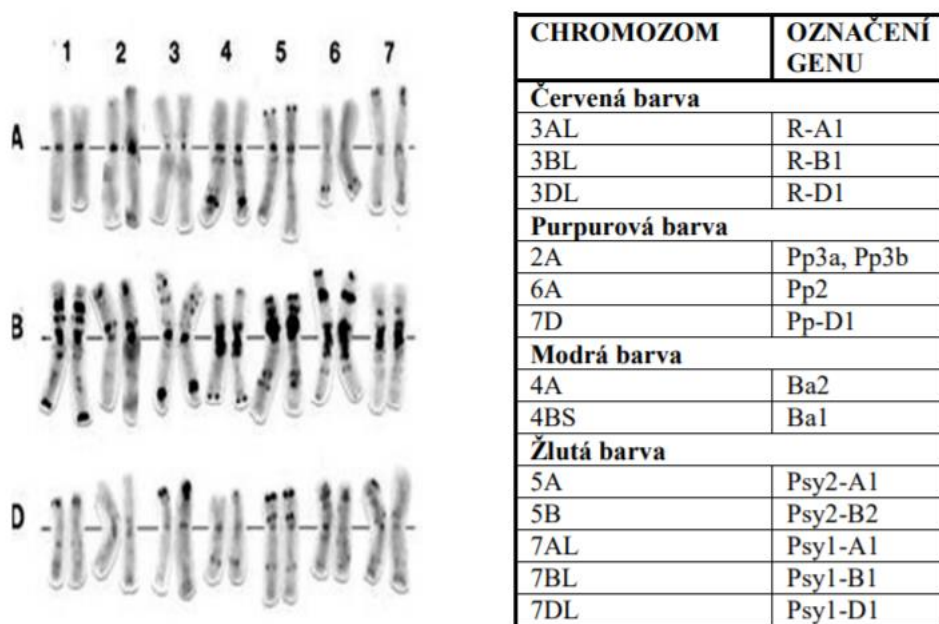
Obrázek 2: Polyploidizace genomů pšenice (IWGSC, 2014).

3.4.4 Genetická determinace zbarvení pšeničných zrn

N. I. Vavilov formuloval v roce 1920 „Zákon homologní řady v dědičné variabilitě“, jemuž odpovídá barevná škála pro většinu obilovin. Dále uvádí, že druhy a rody, které jsou geneticky úzce spjaty se obvykle vyznačují podobnou řadou genetické variability, to znamená, že podobný rozsah barev pšeničných zrn existuje v žitu, triticales, ječmeni, ovsi, rýži a kukuřici (Abdel-Aal et al. 2006; Hills et al. 2007).

Pro šlechtění pšenic s nestandardním zbarvením zrn je důležité studium genetické variability donorů s požadovanými vlastnostmi, které probíhá za pomoci morfologických, proteinových a DNA markerů. Dále je vyžadována dobrá genetická stabilita, výborná odolnost, vysoký výnos a poznatky o expresi genů a lokalizaci této exprese umožňující regulaci produkce pigmentů. Nezbytná je také detailní znalost o umístění a složení genů, které podmiňují tvorbu karotenoidů a antokyanů v pšeničných zrnech (obr.3). Pro přenos genů zodpovědných za nestandardní zbarvení zrn do genetického základu běžných odrůd, se využívá běžné a zpětné křížení a následná standardní rodokmenová selekce. Jako alternativa může být používán princip spontánní hybridizace (Martinek et al. 2011).

Expresí barvy zrna se liší podle původu tkáně jádra. Pšeničné zrno se skládá ze tří typů geneticky odlišných pletiv. Diploidní epidermis a perikarp je tvořen pletivem mateřského původu a diploidní embryo nese polovinu genetické informace od matky a druhou polovinu od otce. Naopak triploidní endosperm nese dvě identické genetické dávky od matky a jen jednu od otce, což znamená, že se v nich alely mohou projevovat rozdílnou expresí a tím pádem se obsah barviv v různých částech zrna liší. Pigmenty pro purpurovou barvu zrna jsou uloženy v perikarpu a osemení zrna, pro žlutou v endospermu a modrou v aleuronové vrstvě (Lachman et al. 2017).



Obrázek 3: Chromozomy hexaploidní pšenice a geny odpovědné za zbarvení zrn a jejich umístění (Trojan 2014).

Červené zbarvení pšeničných zrn

Počátkem 20. století byly provedeny první studie o genetické podmíněnosti červeného zbarvení pšeničných zrn. Roku 1905 zaznamenal R. Biffen monogenní dominantní dědičnost červeného zbarvení zrna a o pár let později (roku 1914) H. Nilson-Ehle poprvé poukázal na přítomnost tří nezávislých genů podmiňujících červené zbarvení zrn (Khlestkina 2013).

S rozvojem monosomické analýzy bylo zjištěno u odrůdy Chinese Spring, že má jeden gen (*R1*) nesoucí znak pro červené zbarvení zrna, který je lokalizován na chromozomu 3D. Dále byly lokalizovány další dva geny, a to *R2* na chromozomu 3A a *R3* na chromozomu 3B. Díky jejich podobné lokalizaci na chromozomech byly *R*-geny zařazeny do jedné z homologních řad genů a nově označeny *R-A1* (dříve *R2*), *R-B1* (*R3*) a *R-D1* (*R1*) (Khlestkina 2013). Pro srovnání je barva bílých zrn (obr. 4a) určena kombinací tří recesivních alel *R-A1a*, *R-B1a* a *R-D1a* (Lachman et al. 2017).

Červená barva pšeničného zrna je tedy řízena jednou až třemi dominantními alelami, které se nacházejí v oblasti dlouhých ramen chromozomů 3A, 3B a 3D. Kromě toho se nacházejí v oblasti pšeničného genomu, který je bohatý na geny řídící rezistenci proti rzi pšeničné a rzi travní a jejich dormance je spojena právě s genem pro červenou barvu zrna. Červený pigment je tvořen katechiny a proantokyanidiny, které jsou syntetizované flavonoidovou biosyntézou a jsou spojeny s hořkou chutí, nižší aktivitou hydrolytických enzymů a lepší odolností vůči klíčení, díky čemu jsou obecně červené pšenice vhodné pro pěstování do oblastí se zvýšenou vlhkostí (Khlestkina 2013; Lachman et al. 2017).

Žluté zbarvení pšeničných zrn

Pšenice tvrdá disponuje tvrdou strukturou, která v kombinaci s vysokým obsahem bílkovin a pevností lepku je pšenicí pro výrobu prémiových těstovin. Těstoviny jsou pevné, mají stejnou kvalitu vaření a jejich zlatavá barva je dána žlutě zbarveným endospermem. Obsah žlutých pigmentů luteinu a zeaxantinu v pšenici tvrdé byl proto široce studován (He et al. 2008) a bylo zjištěno, že žluté zbarvení zrna je určeno hlavně dvěma lokusy, *Psy1* a *Psy2*, umístěnými na 7. a 5. skupině homologických chromozomů, které ovlivňují enzym fytoensyntázu (Pozniak et al. 2007). Největšímu zkoumání byly podrobeny geny *Psy1-A1*, lokalizovaný na dlouhém rameni chromozomu 7A, a *Psy1-B1*, nacházející se na chromozomu 7B (Howitt et al. 2009).

Nová obilovina tritordeum (kříženec pšenice tvrdé a divokého ječmene) obsahuje 5–8× více karotenoidů než pšenice tvrdá, nicméně genetická podmíněnost této abnormální akumulace karotenoidů zůstává neobjasněna (Rodríguez-Suárez et al. 2014).

Purpurové zbarvení pšeničných zrna

Purpurové odrůdy se u pšenice obecné vyskytují jen zřídka a pigmenty způsobující purpurové zbarvení jsou antokyany, umístěné v perikarpu zrna (Dobrovolskaya et al. 2006). Geny řídící purpurové zbarvení jsou označovány jako *Pp* a byly do pšenice seté pravděpodobně přeneseny z tetraploidních pšenic, pocházejících z oblasti východní Afriky (Eticha et al. 2011).

Dodnes je známo několik genů pro purpurový perikarp a také byly vytvořeny dvě téměř izogenní linie pro purpurovou barvu zrna. Tyto linie pocházejí z australské odrůdy Purple Feed a kanadské odrůdy Purple, na genetickém základě odrůdy Saratovskaya 29. Monosomatickou analýzou byly u odrůdy Purple Feed detekovány 2 geny – gen *Pp1* na chromozomu 7B a gen *Pp2* na 6A. Naopak u odrůdy Purple byly zaznamenány geny *Pp1* na chromozomu 7B a *Pp3* na 2A. Později se však zjistilo, že gen *Pp3* je tvořen dvěma alelami, které byly pojmenovány jako *Pp3a* a *Pp3b*. Obě byly lokalizovány v oblasti centromery chromozomu 2A a u genů *Pp1* a *Pp2* byl popsán komplementární efekt (Dobrovolskaya et al. 2006). Dále bylo zjištěno, že genom D obecné pšenice Purple nese jeden ze dvou komplementárních genů, které podmiňují purpurové zbarvení zrna a nachází se na krátkém rameni chromozomu 7D (Tereschchenko et al. 2012).

Modré zbarvení pšeničných zrn

Antokyany uložené v aleuronové vrstvě zrna jsou původcem modrého zbarvení pšeničného zrna. Již v 1. polovině 20. století byla získána takto zbarvená zrna pšenice jejím křížením s příbuznými pšeničnými druhy, což se původně provádělo z mnoha jiných důvodů, například přenosem genů pro rezistenci vůči chorobám nebo kvůli větší výtěžnosti (Syed Jaafar et al. 2013; Lachman et al. 2017).

Bylo identifikováno několik genů pro expresi modrého aleuronu, například se jedná o kodominantně působící gen *Ba1* pocházející z *Thinopyrum ponticum*. Tento gen se dostal do pšenice přenesením celého ramena chromozomu do chromozomu 4BS a který se vyskytuje zejména u významného genetického zdroje UC66049. Dále se jedná o gen *Ba2*, který je lokalizovaný blízko centromery dlouhého ramene 4A v *Triticum boeoticum*, z něhož byl do

pšenice přenesen disomickou substitucí chromozomu 4A. Dalším možným genem pro expresi modrého aleuronu je *BaThb*, který byl přenesen do pšenice z *Th. Bessarabicum* a byl zmapován na chromozomu 4J (Qualset et al. 2005; Singh et al. 2007).

Intenzita modrého zbarvení je závislá na genové dávce *Bal*, což znamená, že v případě tří dávek *Bal* jsou zrna tmavě modrá, u dvou dávek středně modrá a u jedné dávky bledě modrá. Bílá jsou pak v nepřítomnosti tohoto genu (Burešová et al. 2015).



Obrázek 4: Barevná zrna vybraných genotypů pšenice: a-červenozrná odrůda „Bohemia“, b-bílozrná odrůda „Novosibirskaya 67“, c-odrůda se žlutým endospermem „Citrus“, d-odrůda se žlutým endospermem „Bona Vita“, e-odrůda s purpurovým perikarpem „Purple Feed“, f-odrůda s purpurovým perikarpem „Purple“, g-odrůda s modrým aleuronem „UC 66049“, h-odrůda s modrým aleuronem „Thatcher Blue“, i – odrůda s modrým aleuronem „Skorpion“ (Lachman et al. 2017).

3.4.5 Nutriční složení pšenice

Během posledních let bylo publikováno několik studií (Tighe et al. 2010; O’Neil et al. 2010; Borneo & Leon 2012; Montonen et al. 2013) vypracovaných vědeckými institucemi, vládami a neziskovými zdravotními organizacemi, které nabádaly ke zvýšené konzumaci celozrnných výrobků, především díky jejich významným zdravotním benefitům. Například mnohé studie (Landberg et al. 2013; Tucker et al. 2013; Seo et al. 2015) naznačují, že konzumace celozrnných potravin může výrazně snížit riziko některých onemocnění, jako je diabetes typu 2, kardiovaskulární onemocnění nebo různá nádorová onemocnění. Tento účinek byl nejdříve připisován vysokému obsahu vlákniny. Nicméně nedávný výzkum ukazuje, že příznivý účinek celozrnných výrobků vyplývá z kombinovaného působení několika složek, jako je vláknina, vitaminy, fenolové kyseliny, karotenoidy a jiné fytochemikálie obsažené v obilném znu (Luthria et al. 2015).

3.5 Sacharidy

Sacharidy mají významné chemické, fyzikální, fyziologické vlastnosti a lze je klasifikovat různými způsoby, nicméně systém navržený FAO (Food and Agriculture Organization) a WHO (World Health Organization) je rozděluje dle chemické struktury na tři hlavní skupiny. Do první skupiny řadíme jednoduché cukry takzvané mono a disacharidy, do druhé skupiny spadají oligosacharidy a třetí tvoří polysacharidy. Sacharidy představují přibližně 40–80 % z celkového kalorického příjmu a ačkoliv by se mohlo zdát, že v současné době je to zejména díky přidávanému cukru v potravinách, jsou hlavní polysacharidy v potravě

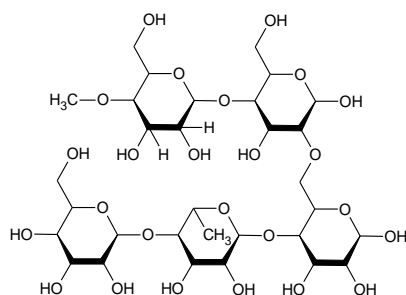
na bázi škrobu, představující nejvýznamnější zdroj energie (Lim & Pullicin 2019). Hlavním zdrojem polysacharidů jsou zejména obiloviny, kde představují asi 65–75 % z celkového složení obilného zrna. Z toho přibližně 1 % tvoří monosacharidy (zejména glukóza a fruktóza) a disacharidy (sacharóza a maltóza) a další 1 % zaujímají oligosacharidy (rafinóza) a fruktooligosacharidy. Dále fruktany tvoří 1–2 %, polysacharidy buněčné stěny (celulóza, arabinoxylan, β -glukan) zaujímají 10 % a konečně 65–75 % tvoří škrob (Andersson et al. 2013).

3.5.1 Polysacharidy

Zdroje polysacharidů v lidské stravě jsou rozsáhlé a mohou být využity i syntetické zdroje. Přesto obiloviny tvoří hlavní zdroj polysacharidů, které se skládají z více jak deseti monosacharidových jednotek spojených glykosidickou vazbou. Jedná se o nejrozšířenější sloučeniny v přírodě, které mají řadu významných funkcí, zejména stavební a zásobní. Zásobní polysacharidy nalezneme jak u rostlin, tak i živočichů. V rostlinách zaujímá zásobní funkci škrob a u živočichů glykogen. Na druhé straně stavební polysacharidy nalezneme jen u rostlin a patří mezi ně chitin a celulóza (Lim & Pullicin 2019).

V případě obilovin rozdělujeme polysacharidy do dvou skupin, a to na škrobové polysacharidy (škrob) a neškrobové polysacharidy, zejména polysacharidy buněčné stěny (La et al. 2014; Kaur & Sharma, 2019). Tyto polysacharidy jsou v interakci buď mezi sebou nebo s dalšími funkčními skupinami, jako jsou bílkoviny a lignin (Kaur & Sharma 2019).

Nejvýznamnějším polysacharidem je bezesporu škrob, který se nachází ve všech zelených částech rostlin, ale i v kořenech, hlízách a plodech. Představuje hlavní rostlinný zásobní polysacharid a významný energetický zdroj. V závislosti na druhu rostliny se obsah škrobu v sušině může pohybovat od 40 % ve fazolích, až do 90 % v rýži (La et al. 2014). Co se týče chemické struktury, je škrob složený ze dvou hlavních α -glukanových polymerů, kterými jsou amyulóza a amylopektin (obr. 5). Obě části se skládají z glukózových jednotek spojených α -(1–4)-vazbou. Zatímco amylosa je lineární polymer, tvořený několika stovkami glukózových jednotek, amylopektin je tvořen rozvětvenými molekulami s několika tisíci glukózových jednotek. Jednotlivé větve amylopektinu jsou navázány na hlavní řetězec α -(1–6) vazbou (Lee et al. 2018). Ve škrobových zrnech se nachází v různém poměru dle původu škrobu, avšak vždy převažuje větvený amylopektin (Jeon et al. 2010; La et al. 2014).



Obrázek 5: Chemická struktura škrobu.

Další neméně významným polysacharidem je vláknina, která patří mezi významnou součást potravy, nicméně s obtížnou stravitelností. Můžeme jí dělit na rozpustnou a nerozpustnou. Rozpustná vláknina napomáhá zpomalení pohybu tráveniny v trávicí soustavě, zejména díky schopnosti absorpce vody (Jakobek & Mati 2019). Současně s tím dochází

k absorpci sacharidů z tenkého střeva do krve, a tím k vyrovnávání hladiny cukru v krvi. V neposlední řadě na sebe váže žlučové kyseliny a cholesterol, čímž vyvažuje pH v žaludku (Lovegrove et al. 2017). V obilovinách tyto funkce zastupují zejména pektiny, glukany, gummy, oligosacharidy, inulin a další (Jakobek & Mati 2019).

Nerozpustná vláknina je významná tím, že zlepšuje pohyb v trávicím traktu, zkracuje dobu, po kterou zůstává potrava ve střevech a změkčuje stolici (Poli et al., 2008). V obilovinách mezi nerozpustnou vlákninu řadíme celulózu, hemicelulózu, chitin a rezistentní škrob (Jakobek & Mati, 2019). Dále jí nalezneme i v brukvovité a kořenové zelenině, jako je například kedlubna, ředkev a mrkev, ale také v ořechách, celozrnných výrobcích, ovoci a semínkách (Lovegrove et al. 2017).

Vláknina v zažívacím traktu prochází tenkým střevem a fermentuje se až pomocí endogenní mikrobioty v tlustém střevě, čímž dochází k produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem, plynu a vody (Yang et al. 2013). Je prokázáno, že příjem vlákniny v lidské výživě snižuje výskyt kardiovaskulárních onemocnění, cukrovky a některých typů nádorových onemocnění zejména kolorektálních karcinomů tlustého střeva, které patří mezi hlavní příčiny umrtí na nádorová onemocnění v západní civilizaci. Dle WHO je doporučený denní příjem 25 gramů z různých zdrojů (Academy 2015).

3.6 Metabolismus sacharidů

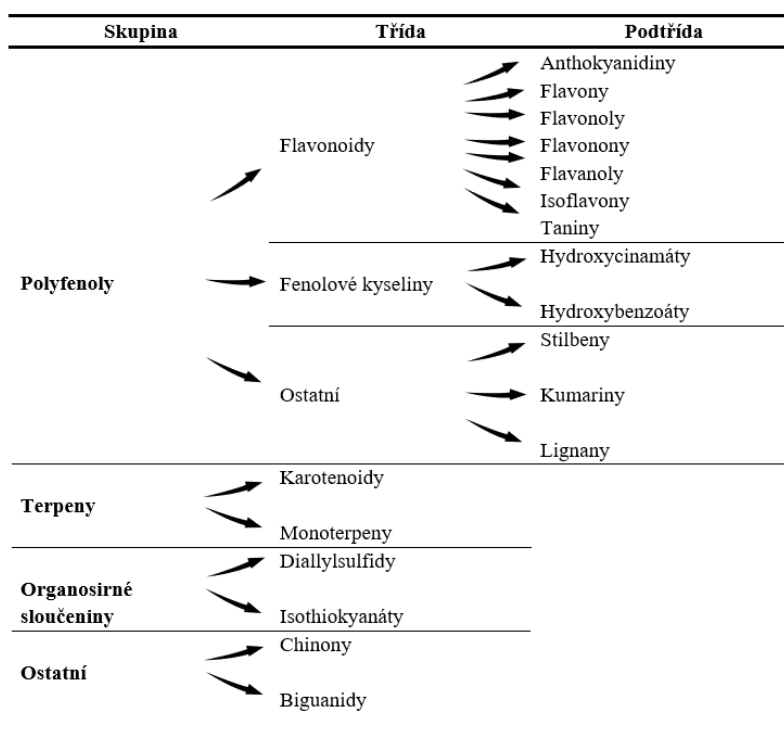
Metabolismem se rozumí všechny buněčné pochody, při kterých se molekuly živin ukládají jako zásobní látky a poté se uvolňují a rozkládají na jednodušší látky nebo-li metabolity. Tento jev se nazývá katabolismus. Opakem je anabolismus, kdy se z metabolitů syntetizují vlastní biomolekuly organismu nebo také nové buněčné struktury (Evans 2019).

Sacharidy jsou přijímány z potravy hlavně jako polysacharidy ve formě škrobu. Trávení škrobu začíná již v dutině ústní účinkem slinné α -amylázy ptyalinu. Za relativně krátký čas se trávenina dostává peristaltikou jícnu do žaludku. Jednou z klíčových buněk v žaludku pro trávení škrobu je parietální buňka, která vylučuje kyselinu chlorovodíkovou. Kyselá pH žaludeční šťávy zpomaluje působení slinné amylázy a zároveň zvyšuje kyselou hydrolyzu škrobu. Nicméně žaludek není enzymaticky vybaven k trávení sacharidů. Největší význam pro trávení škrobu má tenké střevo, do kterého je ze slinivky vylučována pankreatická šťáva. Ta obsahuje dvě důležité složky pro trávení škrobu, hydrogenuhličitan sodný, který neutralizuje kyselost tráveniny na pH 8 a α -amylázu, která štěpí molekuly amylosy a amylopektinu uprostřed řetězce za vzniku dextrinů, maltosy a maltotriosy. Hydrolyzu škrobu dokončují disacharidasy, které se nachází v membráně enterocytů v tenkém střevě. Jedná se o mukosální maltázu a izomaltázu, které katalyzují nejen vazby α -1,4 ale také v menší míře α -1,6. Výsledným produktem je glukóza, která je absorbována pomocí sekundárně aktivního transportu do krevního řečiště (Dona et al. 2010; Evans 2019).

V tlustém střevě dochází k fermentaci a mikrobiální degradaci nestrávených polysacharidů. Uvolněné mastné kyseliny stabilizují hladinu glukózy v krvi a potlačují syntézu cholesterolu v játrech (Dona et al. 2010). Oproti jednodušším sacharidům jsou polysacharidy pomaleji zpracovávány v trávicím traktu, a tudíž se dostávají pomaleji do krevního řečiště, což souvisí s jejich nízkou hodnotou glykemického indexu (Nayak et al. 2014).

3.7 Fytochemikálie

Jak již bylo řečeno fytochemikálie jsou biologicky aktivní látky představující zhruba 1 % hmotnosti obilného zrna. Rostliny se jimi brání především proti infekci a poškození, které způsobují mikroorganismy, hmyz a jiní škůdci během svého vývoje (Béliveau & Gingras 2008). Můžeme je nalézt nejen v ovoci, zelenině, ale také v jiných rostlinných produktech a je o nich známo, že snižují riziko rozvoje celé řady chronických chorob. Doposud jich bylo identifikováno okolo 5 000 různorodých struktur, což představuje stále jen nepatrné procento z celkového obsahu, kdy stále existuje mnoho neznámých struktur, u kterých se o jejich biologické aktivitě ví minimum (Liu 2013). Můžeme je rozdělit dle různých kritérií, jako je například chemická struktura, biologické vlastnosti nebo botanický původ (Gonzalez-Vallinas et al. 2013). Dle chemické struktury se nejčastěji rozdělují na polyfenoly, terpeny a organosírné sloučeniny. Tyto skupiny se pak dále dělí do dalších tříd a podtříd (obr. 6) (Béliveau & Gingras 2008). Mezi nejvíce studované skupiny související s lidským zdravím jsou fenolové kyseliny a karotenoidy (Liu 2013).



Obrázek 6: Rozdělení fytochemikálií (Béliveau & Gingras 2008).

3.7.1 Významné fytochemikálie v pšeničném zrně

Fytochemikálie obsažené v pšeničném zrně významně doplňují ty, které jsou obsaženy v ovoci a zelenině. Nalezneme zde například ferulovou kyselinu a diferuláty, které nejsou přítomny v některých druzích ovoce a zeleniny a také tokotrienoly, tokoferoly a oryzanoly, které hrají důležitou strukturální a obrannou roli (Luthria et al. 2015).

Významné množství fytochemikálií nalezneme například v lesních plodech (borůvky, maliny, brusinky), špenátu, paprice, červené řepě a bramborách. Důležitou skupinu tvoří

antokyany, které se vyskytují zejména ve formě derivátů kyanidinu, delfinidu či peonidinu a karotenoidy, jejichž nejvýznamnějšími zástupci jsou lutein a zeaxantin přítomní v tmavě zelené listové zelenině a lykopen nacházející se v rajčatech (Liu 2013).

V pšenici je nejvýznamnější obsah již zmíněných karotenoidů, který však není u všech odrůd stejný. Nejnižší koncentrace jsou v pšenici seté (*Triticum aestivum L. subsp. Aestivum*), kde se karotenoidy pohybují v rozmezí 0,1–2,5 mg/kg. V pšenici tvrdé (*Triticum turgidum L. subsp. Durum*) je jejich obsah již vyšší, a to 1,5–4,8 mg/kg. Nicméně nejvyšší koncentrace karotenoidů se vyskytují u pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum L. subsp. Monococcum*), která má průměrný obsah 8,5 mg/kg a jejich rozmezí se pohybuje 5,3–13,6 mg/kg (Hidalgo et al. 2010).

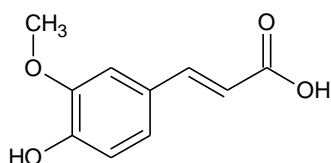
3.7.2 Distribuce fytochemikálií v pšeničném zrně

Je známo, že fytochemikálie nejsou v pšeničném zrně rovnoměrně distribuovány (Blandino et al. 2013). Tyto bioaktivní látky se koncentrují zejména ve vnějších vrstvách a je dokázáno, že antioxidační kapacita otrub je 2× větší, než je tomu v mouce (Chen et al. 2013).

Fenolové kyseliny se vyskytují v nejvyšší koncentraci v pšeničných otrubách. V obalových vrstvách nalezneme ve velké míře tokoferoly a tokotrienoly, naopak v endospermu je jejich množství nepatrné. V klíčku jsou distribuovány nejvíce karotenoidy a tokoferoly a v menší míře tokotrienoly (Luthria et al. 2015).

3.7.3 Fenolové kyseliny

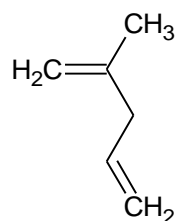
Fenolové kyseliny lze rozdělit do dvou podskupin. Jedna z nich jsou deriváty benzoové kyseliny, které zahrnují gallovou a ellagovou kyselinu a hydrolyzovatelné taniny. Druhou skupinu tvoří deriváty skořicové kyseliny, kam patří kávová, p-kumarová, ferulová a chlorogenová kyselina (Luthria & Liu 2013). Koncentrace fenolových kyselin v pšeničných zrnech se pohybuje v rozmezí přibližně 200–1200 mg/g sušiny. Ferulová kyselina (obr. 7) je hlavní a také nejhojněji zastoupenou fenolovou kyselinou v pšeničném zrně (Andersson et al. 2014). Je koncentrována zejména v aleuronové vrstvě, a to v rozmezí 7,22–9,06 mg/g (Chen et al. 2013).



Obrázek 7: Ferulová kyselina.

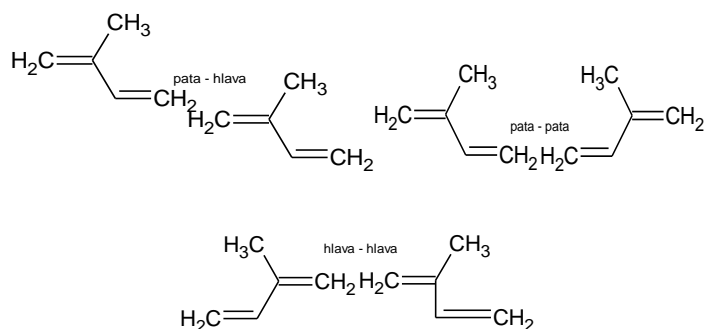
3.7.4 Terpeny

Terpeny jsou podskupinou izoprenoidů a představují nejrozšířenější a chemicky zajímavou skupinu sekundárních metabolitů s více než 30 000 známými sloučeninami včetně steroidů. Základní strukturu tvoří dvě a více izoprenových jednotek, které jsou odvozeny od 3-metylbuta-1,3-dienu nebo-li izoprenu (obr. 8). Čistý izopren ale v přírodě téměř nenalezneme, vyskytuje se pouze ve formě izopentenylového zbytku. Izoprenoidy tedy nemůžeme od izoprenu reálně odvodit, jsou mu pouze podobné (Umlauf 2004; Bidigare 2013).



Obrázek 8: Chemická struktura izoprenu.

Terpeny jsou charakteristické svou strukturou, ve které mají pouze atom uhlíku a vodíku. Pokud bychom mluvili o terpenoidech (terpenům podobným látkám), nalezneme zde navíc i atom kyslíku. Struktura terpenů vzniká spojením „hlavy“ a „paty“ izoprenů a mohou tak vznikat tři typy spojení (obr. 9) (Wang et al. 2005).



Obrázek 9: Typy spojení izoprenů.

Dle počtu izoprenových jednotek se terpeny rozdělují na monoterpeny (C10), seskviterpeny (C15), diterpeny (C20), sesterpeny (C25), triterpeny (C30), tetraterpeny (C40) a polyterpeny (Wang et al. 2005). Monoterpeny a seskviterpeny jsou hlavní složky éterických olejů – silic. Jsou těkavé a při poranění rostliny vytékají na povrch, kde oxidují a mění se na pryskyřice. Naopak diterpeny a triterpeny nejsou těkavými sloučeninami a obvykle se vyskytují v gumách a pryskyřicích. Deriváty tetraterpenů, tetraterpenoidy, představují skupinu nazývanou jako karotenoidy (Raaman 2006).

Po chemické stránce jsou terpeny obecně rozpustné v tucích a nacházejí se v cytoplazmě rostlinné buňky. Esenciální oleje se vyskytují ve speciálních žláznových buňkách na povrchu listu, zatímco karotenoidy jsou spojeny s chloroplasty v listu, případně s chromoplasty v okvětním lístku. Terpeny můžeme extrahovat z rostlinných tkání pomocí petroletheru, etheru nebo chloroformu. Pomocí stejných rozpouštědel je lze oddělit chromatografií na silikagelu nebo alumině (Raaman 2006).

3.8 Karotenoidy

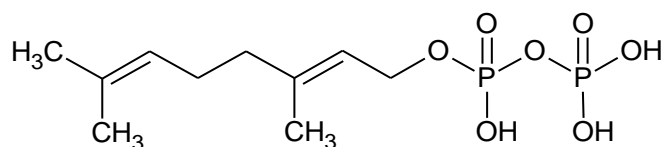
Karotenoidy jsou nejrozšířenějšími pigmenty v přírodě, které jsou syntetizované rostlinami a mikroorganismy (Luthria et al. 2015). Odhaduje se, že bylo izolováno a identifikováno více než 600 různých karotenoidů. Jsou charakteristické svým žlutým, oranžovým až červeným zbarvením a vyskytují se zejména v ovoci, zelenině a obilovinách. Za svou barevnost karotenoidy vděčí řetězci konjugovaných dvojných vazeb, které se vyskytují v několika základních strukturách a kombinací (Hopkins & Huner 2008).

Co se týká zdravotních přínosů, tak karotenoidům byla a je věnována značná pozornost, hlavně díky jejich jedinečným fyziologickým funkcím jako provitaminy a antioxidačním účinkům zejména při vychytávání singletového kyslíku (Liu 2013). Karotenoidy hrají základní roli při fotosyntéze a fotoprotekci v rostlinách. Fotoprotekční funkce je umožněna právě jejich zmíněnou schopností vychytávat reaktivní formy kyslíku, které se vytváří při působení světla a záření. Zejména astaxantin, zeaxantin a lutein jsou významnými pro zachytávání volných radikálů díky jejich koncovým funkčním skupinám (Demmig-adams & Adams 2002).

V pšeničném zrnu představují také významné indikátory kvality pšeničného zrna, a to hlavně díky svému zbarvení, které je přisuzováno přítomností karotenoidů a jejich esterů (Luthria et al. 2015).

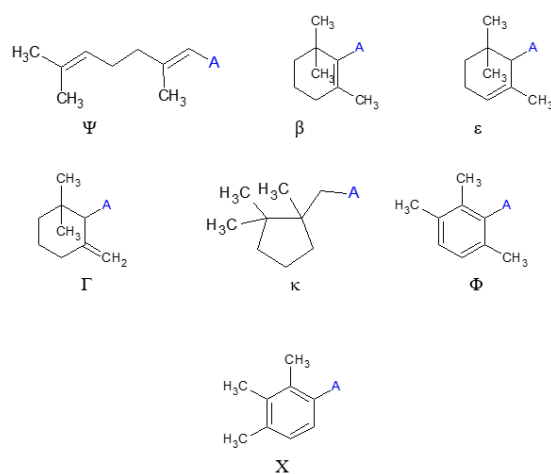
3.8.1 Struktura karotenoidů

Karotenoidy představují z chemické struktury izoprenové sloučeniny, které vznikly biosyntézou dvou koncových molekul C₂₀ geranylgeranyl difosfátu (obr. 10), čímž vznikla základní struktura karotenoidů obsahující čtyřicet uhlíků. Všechny následující variace této struktury jsou od ní odvozené. Modifikace uhlovodíkové kostry může nastat třemi způsoby. Jedním z nich je cyklování na jednom nebo obou koncích molekuly, čímž vzniká sedm rozdílných koncových skupin. Dále změnami v stupni hydrogenace a v neposlední řadě přidáním funkčních skupin obsahujících kyslík (Heng 2019).



Obrázek 10: Chemická struktura geranylgeranyl difosfátu.

Pro karotenoidy je charakteristické střídání jednoduchých a dvojných vazeb v centrální části molekuly, což vytváří konjugovaný systém delokalizovaných π -elektronů po celé délce řetězce (obr. 11). Každá dvojná vazba může existovat ve dvou formách, a to *cis* a *trans*, nicméně v přírodě nalezneme spíše *trans* formy karotenoidů díky jejich vyšší stabilitě (Abecassis 2007).



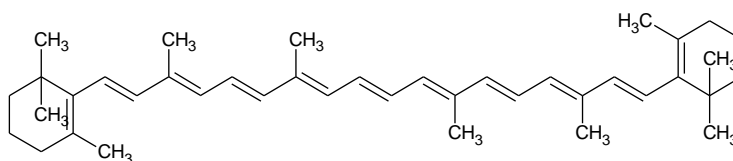
Obrázek 11: Sedm rozdílných koncových skupin u karotenoidů, A-místo připojení zbytku kostry karotenoidu.

3.8.2 Rozdělení karotenoidů

Karotenoidy můžeme rozdělit na dvě skupiny, a to na uhlovodíky nazývané karoteny a oxidované formy karotenoidů xantofyly. Mezi nejvýznamnější karoteny patří lykopen, α -karoten a β -karoten. Mezi xantofyly řadíme lutein a zeaxantin (Hopkins & Huner 2008).

β -karoten

β -karoten je v přírodě nejrozšířenějším karotenoidem a zároveň provitaminem vitamínu A. Hojně se vyskytuje také v naší stravě, lidské krvi a tkáních. V přírodním materiálu se obvykle vyskytuje společně s α -karotenem a nepatrným množstvím γ -karotenu. Jeho strukturu tvoří dva β -ionové kruhy, které jsou spojeny čtyřmi izoprenovými jednotkami (obr. 12) (Cepeda et al. 2014).



Obrázek 12: Struktura β -karotenu.

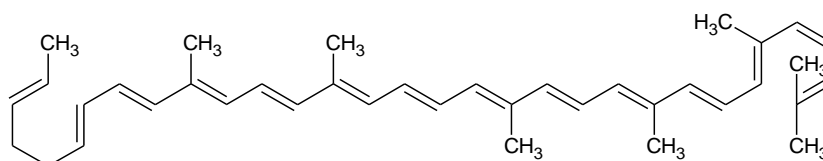
V organismu zastává funkci prekurzoru vitamínu A, neboť jeho molekula je schopná se v průběhu metabolických pochodů rozštěpit na dvě molekuly vitamínu A. Mimo to má významné antioxidační vlastnosti, čímž chrání organismus před oxidativním poškozením (Kruger et al. 2016).

Mezi hlavní zdroje β -karotenu patří nejen některé druhy ovoce a zeleniny, ale i živočišné produkty. Biologická dostupnost β -karotenu je považována za nízkou, nicméně může být ovlivněna několika faktory, jako je například vaření, krájení nebo přítomnost tuku (Cepeda et al. 2014).

Doporučená denní dávka pro příjem β -karotenu se běžně uvádí mezi 2–4 mg za den, neboť tato dávka je nezbytná pro dosažení hodnoty snižující riziko ischemické choroby srdeční (Fernández-garcía et al. 2012).

Lykopen

Lykopen je přírodní pigment syntetizovaný rostlinami a mikroorganismy. Chemickou strukturu tvoří 40 uhlíků a 11 konjugovaných lineárně sestavených dvojných vazeb (obr. 13). Je tedy tvořen 8 izoprenovými jednotkami a patří mezi acyklické karotenoidy. Jeho molekula nemá β -ionový kruh, tudíž nepůsobí jako provitamin vitamínu A. Nicméně je významným antioxidantem a je spojovaný s prevencí mnoha civilizačních onemocnění (Singh & Goyal 2008).



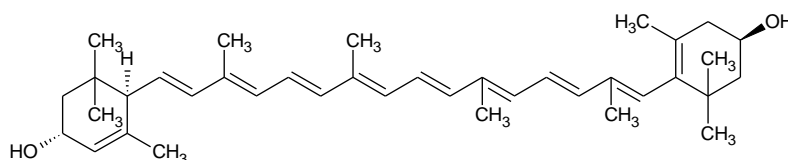
Obrázek 13: Struktura lykopenu.

Hlavním zdrojem lykopenu jsou rajčata. V běžné odrůdě rajčat *Lycopersicon esculentum* se nachází převážně v *all-trans* konfiguraci, což je jeho termodynamicky nejstabilnější forma. V lidské plazmě je pak přítomen jako izomerní směs (Arab & Steck 2000).

Lidské tělo není schopné karotenoidy syntetizovat, a proto jejich jediný zdroj je strava. Minimálně 85 % přijatého lykopenu ze stravy pochází z rajčat a z výrobků obsahujících rajčata. Dalším zdrojem je červené ovoce a zelenina jako například melouny, grapefruity nebo meruňky (Singh & Goyal 2008).

Lutein

Lutein je xantofylové barvivo a izomer zeaxantinu, což znamená, že jeho sumární vzorec je stejný, ale liší se vnitřní strukturou. Lutein se používá jako barvivo a aditivum například k rozjasnění barvy drůbežního peří nebo prohloubení žluté barvy žlutku (Lin et al. 2014). Mimo to získal lutein společně se zeaxantinem značnou pozornost díky jejich možným účinkům pomoci předcházet nebo zmírňovat účinky degenerativních lidských chorob a také přispívat ke zdravé pokožce. Je produkován výhradně rostlinami a můžeme ho nalézt zejména v zelené zelenině například v kapustě a špenátu (Akhtar et al. 2013). V rostlinách je lutein významný zejména při fotosyntéze, kdy absorbuje světelnou energii v oblasti modrého světla a přeměňuje ji na chlorofyl. Zároveň eliminuje fotooxidační poškození v důsledku nadměrného osvětlení. Co se týká struktury, je lutein tvořen konjugovaným systémem dvojných vazeb v *cis* nebo *trans* konformaci, což vede k velkému počtu možných *mono-cis* a *poly-cis* izomerů. Hydroxylové skupiny na obou koncích luteinu reagují s mastnými kyselinami a tvoří monoester a diester luteinu, které jsou stabilnější při působení tepla, světla a dalších okolních faktorů (obr. 14) (Lin et al. 2014). V pšeničném zrně je lutein nejvíce se vyskytujícím a významným karotenoidem (Ahmad et al. 2013).



Obrázek 14: Struktura luteinu.

3.8.3 Vlastnosti karotenoidů

Karotenoidy za svůj název vděčí uhlovodíku karotenu ($C_{40}H_{56}$), který byl poprvé izolován z mrkve. Jejich barva se pohybuje od žluté, po oranžovou až červenou. Podmiňují typickou barvu nejen mrkve a rajčat, ale i pomerančů, jeřabin, papriky, kukuřice a podobně (Fiedor & Science 2014).

Karotenoidy jsou látky lipofilní povahy, nerozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v nepolárních rozpouštědlech. Do živočišného organismu se dostávají rostlinnou potravou a podmiňují tak například žluté zbarvení vaječného žlutku, tkáňových tuků i másla. Jejich hlavní význam spočívá v tom, že jsou prekursory antihemoroptických a antixerofthalmických faktorů-vitaminů A. Díky tomu podmiňují schopnost černobílého i barevného vidění (Perera et al. 2007; Fiedor & Science 2014).

3.8.4 Nutriční význam karotenoidů

Karotenoidy mají díky své polyenové struktuře již zmíněnou schopnost vychytávat volné radikály. Jejich antioxidační aktivita závisí na chemické struktuře, přičemž roste s počtem dvojných vazeb, keto-skupin a cyklopentanových kruhů v molekule (Berman et al. 2015). Díky svým vlastnostem jsou karotenoidy spojovány s prevencí mnohých kardiovaskulárních a nádorových onemocnění. Mechanismus antioxidačního působení karotenoidů se liší od mechanismu působení vitamínu E tím, že karotenoidy jsou jako antioxidanty účinné již při nízkých koncentracích kyslíku a vitamín E naopak při vyšších koncentracích kyslíku. Mezi antioxidačně vysoce účinné karotenoidy řadíme β -karoten, α -karoten, γ -karoten, lutein, zeaxantin a lykopen. Uplatňují se v prevenci degenerativních procesů, jako antikarcinogenní látky a také chrání lidskou kůži před vysokou intenzitou slunečního a UV záření (Milani et al. 2017). Některé karotenoidy vykazují provitaminovou aktivitu a mohou být metabolicky přeměněny až na retinol (vitamín A). Tuto funkci má jen cca 50 karotenoidů, které ve své struktuře obsahují minimálně jeden nesubstituovaný β -ionový kruh, například β -kryptoxantin a β -karoten (Fraser & Bramley, 2004). Vitamín A je nezbytný pro správnou funkci světločivných buněk oční sítnice a funkci imunitního systému. Jeho nedostatek může způsobovat různé zdravotní poruchy například retardaci růstu, sníženou imunitní odpověď, vyšší náchylnost k infekčním chorobám nebo také šeroslepost až úplnou slepotu (Eggersdorfer & Wyss 2018). Přestože bylo dosud identifikováno přes 600 karotenoidových barviv, lidský organismus je schopen vytvořit pouze 6 z nich, a to β -karoten, α -karoten, lutein, lykopen, kryptoxantin a zeaxantin (Milani et al. 2017).

3.8.5 Karotenoidy a lidské zdraví

Hlavní výhodou karotenoidů je jejich antioxidační potenciál, nicméně individuálně také působí prostřednictvím dalších mechanismů (Fiedor et al. 2014). Například, jak již bylo zmiňováno, β -karoten má schopnost přeměny na vitamín A (Gurmu et al. 2014), ale také lutein a zeaxantin absorbují specifické vlnové délky světla, které mohou pomoci k ochraně očí (Barker et al. 2011). Karotenoidy dále mohou působit v prevenci nádorových onemocnění omezením abnormálního růstu buněk a v prevenci srdečních onemocnění blokováním oxidace lipoproteinů o nízké hustotě (Tanaka et al. 2012).

Funkce provitaminu A

Nedostatek vitamínu A je hlavním zdravotním problémem v rozvojích zemích a postihuje zejména předškolní děti ale i dospělé a těhotné ženy. U dětí způsobuje slepotu, špatný růst a kvůli oslabení imunity zvyšuje riziko úmrtí na infekční choroby. U dospělých způsobuje šeroslepost, ale i poruchy funkce různých orgánů a imunity, také zvyšuje nástup nádorových onemocnění (Gurmu et al. 2014; WHO 2017). Hlavním zdrojem vitamínu A jsou živočišné produkty jako jsou mléčné výrobky, játra, ryby, které obsahují vitamín A (retinol) a rostlinné produkty zejména žlutá a oranžová zelenina a ovoce a listová zelenina, které obsahují karotenoidy, převážně β -karoten, který lze přeměnit na retinol (Gurmu et al. 2014).

K potlačování nedostatku vitamínu A se používají různé strategie. Například suplementace vitamínem A nebo β -karotenem je účinná, ale v chudých venkovských oblastech

může být obtížná, co se týče finančních prostředků. Dalším přístupem je obohacení běžně používaných potravin přidavkem vitamínu A jako je cukr, tuky a obilné produkty. V tomto případě je však obtížné zajistit přístup těchto potravin k lidem a také zajistit, aby nebyly konzumovány v nadměrném množství. Příkladem jsou například mrkev a batáty, které jsou v mnoha zemích základními potravinami a jsou z nich vyšlechtěny kultivary, které obsahují zvláště vysokou hladinu β -karotenu. Další velmi významnou biofortifikovanou plodinou je takzvaná zlatá rýže, která má díky modifikaci genů běžné rýže zvýšený obsah β -karotenu a hraje tedy klíčovou roli v boji proti nedostatku vitamínu A v rozvojových zemích. Nicméně protože se jedná o geneticky modifikovanou plodinu našla si i své odpůrce, díky kterým je její pěstování v několika zemích zakázané. Dále se také uvádí, že existují mnohem levnější a efektivnější způsoby, jak nedostatek vitamínu A v rozvojových zemích řešit, například suplementací vitamínů A za cenu jen několika centů. Dále se diskutuje, že zlatá rýže produkuje příliš málo β -karotenu a množství rýže, které je v rozvojových zemích lidem k dispozici by na uspokojení denních potřeb tohoto vitamínu nestačilo. Kromě toho nebyly zcela objasněny ostatní faktory, které řídí metabolismus karotenoidů a jejich přeměnu na retinol, jako jsou například genetické faktory a polymorfismy (Lintig 2012; Gurmu et al. 2014).

Zdraví očí

V lidské sítnici se nacházejí dva dietetické karotenoidy, a to lutein, zeaxantin a jeho izomer meso zeaxantin. Jsou koncentrovány v makule nebo-li žluté skvrně a proto jsou známé jako makulární pigmenty. Makulární pigmenty absorbují modré světlo, které je typické vysokou energií a krátkou vlnovou délkou, chrání sítnici před fotochemickým poškozením a má lokální antioxidační vlastnosti. Antioxidační vlastnosti spočívají zejména ve schopnosti neutralizování singletového kyslíku a reaktivních druhů kyslíku (například hydroxylových radikálů a superoxidových aniontů), chránění před peroxidací indukovanou ultrafialovým zářením a omezení tvorby lipofuscinu a s ním spojeným poškozením vlivem oxidačního stresu (Bernstein et al. 2016).

Příjem luteinu a zeaxantinu se liší věkem, pohlavím a etnicitou, nicméně ve všech věkových skupinách je příjem luteinu vyšší než zeaxantinu nezávisle na pohlaví a etnicitě. Studie také prokázaly, že suplementace luteinem a zeaxantinem může zlepšit ostrost vidění, citlivost na kontrast, toleranci oslnění a odolnost vůči oxidačnímu stresu i u zdravých lidí (Johnson et al. 2010).

Rostoucím problémem je makulární degenerace, což je velmi závažné onemocnění postihující především osoby vyššího věku po celém světě. Jedná se o postižení centrální části sítnice a místa nejostřejšího vidění-žluté skvrny (Wong et al. 2014). Studie účinků suplementace luteinem a zeaxantinem na makulární degeneraci přinesly smíšené výsledky. Nejznámější studie zabývající se makulární degenerací je AREDS (Age-Related Eye Disease Study). AREDS je hlavní klinická studie a byla navržena tak, aby vyhodnotila vliv vysokých dávek vitamínu C, vitamínu E, β -karotenu a zinku na postup makulární degenerace a kataraktu. Výsledky z AREDS ukázaly, že vysoké hladiny antioxidantů a zinku významně snížily postup pokročilé makulární degenerace a s ní spojenou ztrátou zraku. V květnu roku 2013 byla dokončena studie AREDS2, která se pokusila přidat suplementaci omega-3-mastných kyselin a zároveň nahradit β -karoten, který byl spojený se zvýšeným rizikem rakoviny plic u kuřáků,

za antioxidanty lutein a zeaxantin. Studie zjistila, že zatímco omega-3-mastné kyseliny neměly na účinek žádný přidaný vliv, lutein a zeaxantin se zdály být bezpečnou a účinnou alternativou β -karotenu (AREDS2 Research Group 2013; Liu et al. 2014).

Kardiovaskulární onemocnění

Oxidační stres, zánět, dyslipidémie a trombóza se podílí na rozvoji kardiovaskulárních onemocnění a existují důkazy o tom, že karotenoidy mohou mít příznivé účinky na některé z těchto faktorů (Eggersdorfer & Wys 2018). Například bylo prokázáno, že astaxantin (karotenoid získaný z mořských živočichů) redukuje peroxidaci lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) a zlepšuje profily lipidů v krvi. Je známo, že zvýšená citlivost LDL cholesterolu přispívá k ateroskleróze. Například ve studii zahrnující 24 zdravých dospělých osob, kteří užívali astaxantin v dávkách 1,8 mg, 3,6 mg, 14,4 mg a 21,6 mg/den po dobu 14 dnů, dávky 3,6 mg a více snížily náchylnost LDL cholesterolu k oxidaci (Iwamoto et al. 2000). Dále 12ti týdenní studie zahrnující 61 neobézních japonských subjektů se středně těžkou hypertriglyceridémií (triglycerid nalačno v séru 120–200 mg/dl) prokázala, že spotřeba astaxantinu 6 mg a 12 mg/den signifikantně zvýšila lipoprotein s vysokou hustotou v séru (HDL) oproti výchozímu stavu a dávky 12 mg a 18 mg/den významně snížily hladiny triglyceridů v séru (Yoshida et al. 2010). Dalším je lykopen, který vykazuje silnou antioxidační aktivitu *in vitro* a snižuje hladinu cholesterolu v séru ve studiích na zvířatech. Nicméně studie o potenciální úloze lykopenu v prevenci kardiovaskulárních onemocnění jsou dosud rozporné (Böhm 2012; Müller et al. 2016). Jako další je lutein, u kterého metaanalýza zahrnující převážně observační studie naznačila, že jeho vyšší denní příjem z potravy a vyšší koncentrace v krvi jsou spojeny s nižším rizikem srdečních chorob a cévní mozkové příhody (Leemarkers et al. 2016).

Prevence nádorových onemocnění

Vyšší eukaryotické aerobní organismy, včetně člověka, nemohou existovat bez přítomnosti kyslíku, přestože pro ně kyslík představuje nebezpečí vzhledem k jeho vysoké reaktivitě. Tato skutečnost byla nazvána paradoxem aerobního života. Během normálního metabolismu organismu se vytváří řada reaktivních forem kyslíku. Tyto oxidanty kolektivně přispívají ke stárnutí a degenerativním onemocněním, jako jsou například ateroskleróza a nádorová onemocnění. Antioxidační sloučeniny mohou snížit mutagenézi, a tedy karcinogenézi, nejen snížením oxidačního poškození DNA, ale také snížením buněčného dělení simulovaného oxidanty (Tanaka et al. 2012). Důležitou roli při snižování oxidačního poškození hrají i endogenní antioxidanty vyskytující se v těle, jako jsou kataláza a superoxiddismutáza a exogenní antioxidanty, jako jsou askorbová kyselina (vitamin C), tokoferol (vitamin E) a karotenoidy. Mezi hlavní karotenoidy s antioxidační aktivitou a chemopreventivními schopnostmi na nádorová onemocnění patří α -karoten, β -karoten, β -kryproxantin, lykopen, lutein a zexantin (Eggersdorger & Wyss 2018).

Například lykopen se nachází relativně ve vysokých koncentracích v prostatě a některé epidemiologické studie zjistily inverzní souvislost mezi příjmem lykopenu a karcinomu prostaty (Rowles et al. 2017). Například velká kohotní studie, která hodnotila informace o stravě 48 898 zdravotníků mužského pohlaví zjistila, že muži v nejvyšším kvintilu příjmu dietního lykopenu měli o 28 % nižší riziko karcinomu prostaty ve srovnání s nejnižším

kvintilem (Eggersdorger & Wyss 2018). Dále metaanalýzou 42 epidemiologických studií bylo zjištěno, že konzumace lykopenu v potravě byla spojena se sníženým rizikem karcinomu prostaty (Rowles et al. 2017).

Plazmatické hladiny lykopenu jsou nižší u pacientů nealkoholické tukové jaterní choroby (nealkoholická steatohepatitida), kdy množství tuku v játrech přesáhne 5 % jejich hmotnosti. Existuje tedy určitý zájem o potvrzení, zda příjem lykopenu může ovlivnit riziko onemocnění jater, včetně karcinomu (Erhardt et al. 2011). Nicméně studie na zvířatech ukázaly, že suplementace lykopenu po dobu 24 týdnů zvýšila hladinu jaterního lykopenu a měla potenciální preventivní účinek proti jaterní tumorigenezi (Ip et al. 2014).

3.8.6 Karotenoidy v pšeničném zrně

Celkový obsah karotenoidů v pšeničných zrnech se výrazně liší v různých odrůdách, například v konvenční pšenici se celkový obsah pohybuje od 1,36 $\mu\text{g/g}$ (Lachman et al. 2013) do 2,12 $\mu\text{g/g}$ (Hidalgo et al. 2006). Další studie dle Abdel-Aalem et al. (2007) uvádí podstatně vyšší koncentraci karotenoidů v pšenici špaldě (4,01 $\mu\text{g/g}$), dvouzrnce (5,76 $\mu\text{g/g}$), pšenici tvrdé (6,27 $\mu\text{g/g}$) a nejvyšší obsah v pšenici jednozrnce (9,62 $\mu\text{g/g}$). Co se týče struktury zrna největší koncentraci karotenoidů vyznačuje klíček, nicméně tvoří velmi malý podíl celkové hmotnosti zrna (3–5 %) a proto obsahuje jen 5–10 % z celkového obsahu karotenoidů v pšeničném zrně (Mellado-Ortega & Hornero-Méndez 2015). Zatímco otruby jsou tvořeny z cca 20–40 %, největší podíl připadá endospermu s 60–70 % z celkového obsahu karotenoidů (Ndolo & Beta 2013). Nejhojněji zastoupeným karotenoidem v pšeničném zrně je bezkonkurenčně lutein, který tvoří dle studie Mellado-Ortega & Hornero-Méndez (2015) více než 85 % celkového obsahu karotenoidů v pšenici tvrdé, dále podstatně menší množství tvoří zeaxantin (10,7 %), β -karoten (1,8 %) a α -karoten (1,4 %). Nejčastěji se lutein vyskytuje ve formě *all-trans* izomeru, nicméně ve výše uvedené studii byly zaznamenány i některé *cis*-izomery (9-*cis* a 13-*cis* lutein).

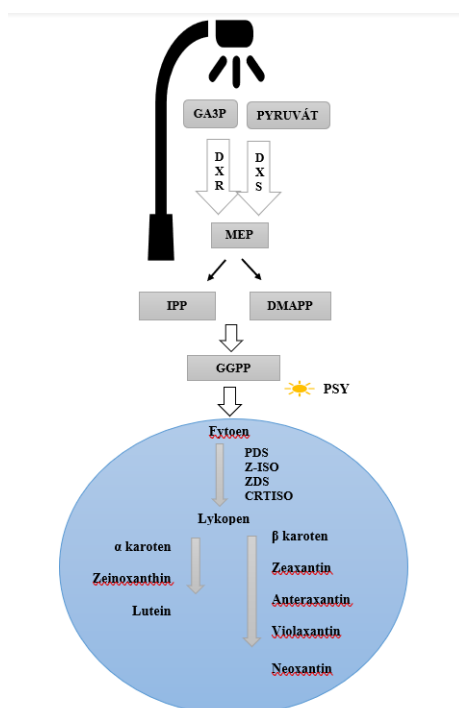
Část karotenoidů vytváří vazbu s bílkovinami a vytváří tak komplex nazývaný karotenoprotein. Xantofyly se v pšeničném zrně navíc vyskytují jednak jako volné sloučeniny, tak i v podobě esterů s mastnými kyselinami nebo glykosidy, jejichž vznik je umožněn přítomností jedné nebo více hydroxylových skupin navázaných na β -ionových kruzích (Ziegler et al. 2015).

3.8.7 Biosyntéza karotenoidů

Karotenoidy jsou syntetizované *de novo* výhradně v plastidech. Substráty, které iniciují syntézu jsou glycerinaldehyd-3-fosfát (GA3P) a pyruvát (Nisar et al. 2014). Z nich se řadou reakcí, které jsou řízeny geny DXS a DXR v metylerytritol-4-fosfátu (MEP) vytvoří dva izoprenové izomery, a to izopentyl difosfát (IPP) a dimetylalyl difosfát (DMAPP) (Pankratov et al. 2016). Spojením těchto dvou izomerů vzniká geranylgeranyl difosfát (GGPP). Z něho pak derivací dochází k vytvoření sloučenin jako tokoferolů, chlorofylů, monoterpenů, giberelinů, plastochinonů a fylochinonů (Sun et al. 2017).

Dalším krokem je kondenzace dvou molekul GGPP za pomoci syntázy fytoén (PSY), která je aktivována světlem (Cazzonelli & Pogson 2010). Tím vznikne samotný fytoén se čtyřiceti uhlíky. Fytoén je bezbarvá molekula, která je následně podrobena sérií na sebe

navazujících desaturačních reakcí, které jsou řízeny fytoenovou (PDS) a z-karotenovou desaturasou (ZDS) a z-karotenovou (Z-ISO) a karotenoidovou izomerázou (CRTISO). Vzniká třináct konjugovaných dvojných vazeb, které jsou součástí sloučeniny nazývané lykopen. Dále dochází k cyklování *all-trans*-lykopenu v koncových částí, což zvyšuje strukturovou variabilitu. Podle dvou typů cyklování koncových skupin rozdělujeme karoteny na dvě větve. První větev tvoří β -karoten, který tvoří dva β -prstence. Druhou větví je α -karoten, který je tvořen jedním β -prstencem a jedním ε -prstencem. Příčinou těchto dvou typů cyklování jsou strukturálně příbuzné enzymy β -cykláza a ε -cykláza (Jahns & Holzwarth 2012). Jako první při syntéze vzniká větev α -karotenu, který plní úlohu prekursoru luteinu. V druhé větvi syntézy je β -karoten vystaven řadě hydroxylačních a epoxidačních reakcí za účelem produkce xantofylů, a to zejména zeaxantinu, anteraxantinu, violaxantinu a neoxantinu (obr. 15) (Sun et al. 2017).



Obrázek 15: Biosyntéza karotenoidů (Sun et al. 2017).

3.8.8 Změny obsahu karotenoidů během skladování

Karotenoidy jsou syntetizovány a akumulovány v plastidech a podléhají se na základních procesech, jako jsou regulace fotomorfogeneze či vývoj rostlin. V buňce se obvykle hromadí v membránách plastidů, protože pro uskladnění vyžadují lipofilní prostředí. V rostlinách se tak většina nachází v membránách tylakoidů, chloroplastů a v malých lipoproteinových kapkách nazývaných plastoglobuly. Nicméně hlavním typem organel, které jsou zaměřené na syntézu a uskladnění karotenoidů jsou chromoplasty (Mellado-ortega & Hornero-méndez 2017).

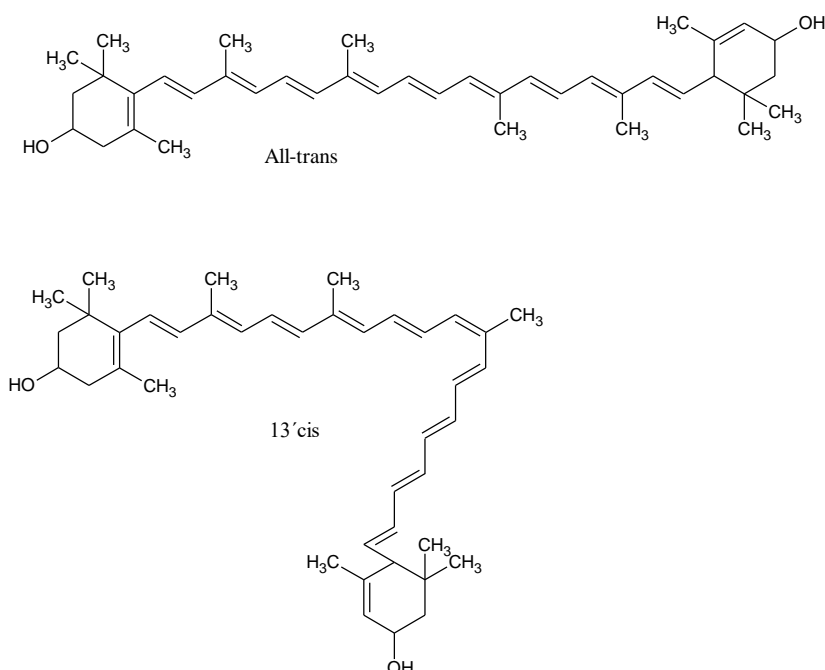
Obilná zrna jsou skladována po dlouhou dobu, a proto mohou podléhat významným fyzikálním, chemickým a fyziologickým změnám, které jsou způsobeny skladovacími podmínkami, jako je teplota, vlhkost, obsah kyslíku nebo světelná a mikrobiální aktivita. Po sklizni jsou semena skladována v silech, kde je udržována vlhkost 15,5 % a nižší, aby se minimalizoval mikrobiální růst a jejich zachování. Nicméně i tak dochází k výrazným

chemickým změnám a některé antioxidační sloučeniny například karotenoidy jsou degradovány přímou nebo zprostředkovanou oxidací lipoxygenázou. (Mellado-ortega & Atienza 2015).

3.8.9 Změny obsahu karotenoidů během kulinární úpravy

Ke změnám obsahu karotenoidů dochází i během jejich zpracování. To v případě pšenice představuje značné ohrožení, zejména při zpracování na bílou (pšenice setá) nebo semolinovou mouku (pšenice tvrdá), které se používají k přípravě chleba, pekárenských výrobků nebo těstovin. Díky široké distribuci těchto potravin mezi světovou populací je pšenice významným zdrojem karotenoidů v lidské stravě (Hidalgo et al. 2010).

Karotenoidy degradují působením vnějších faktorů, jako například při vysoké teplotě, extrémních hodnotách pH, přítomnosti kyslíku, UV světla a také při působení vnitřních faktorů například enzymatickou aktivitou. Charakteristická struktura dává karotenoidům nejen prospěšné účinky, ale díky ní jsou také nestabilní vůči světlu a kyslíku. V potravinách se karotenoidy převážně vyskytují jako *trans*-izomery, nicméně při tepelném zpracování se vytvářejí *cis*-izomery, který vykazují různé biologické vlastnosti a antioxidační aktivitu (obr. 16). V obilovinách jsou karotenoidy přítomny ve volných nebo esterifikovaných formách nejčastěji s kyselinou palmitovou a linolovou v závislosti na genotypu obilovin. Ukázalo se, že například esterifikované formy xantofylů jsou v přítomnosti tepla stabilnější než jejich volné formy (Paznocht et al. 2019). Při zpracování katalyzují přirozeně se vyskytující enzymy (například lipoxygenáza) hydroperoxidaci polynenasycených kyselin (například linolové kyseliny) za vzniku konjugovaných hydroperoxidů. Radikály z přechodných kroků této reakce jsou zodpovědné za oxidační degradaci karotenoidů. Potenciální zdravotní přínosy jsou proto ovlivněny zpracováním zrna od mletí až po konečné technologické zpracování, při kterých může dojít k výraznému snížení obsahu karotenoidů (Hidalgo et al. 2010).



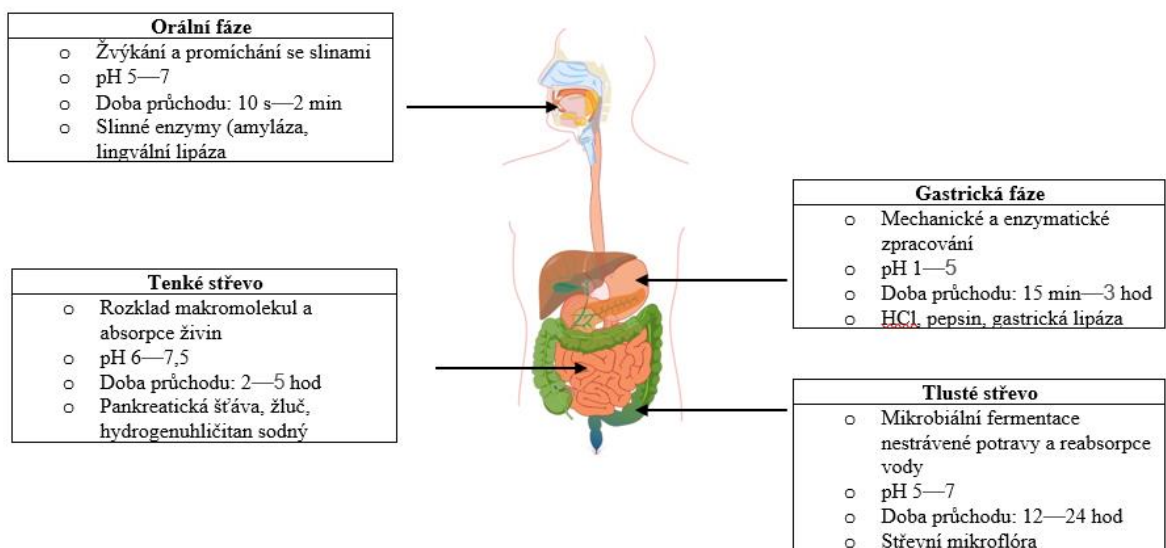
Obrázek 16: *Trans* a *cis* formy luteinu.

3.9 Lidské trávení

Trávení a vstřebávání živin je nezbytné pro život nejen člověka ale i všech živých organismů. U člověka je trávení zajištěno gastrointestinálním traktem, jehož hlavním úkolem je zásobování organismu vodou, živinami, vitaminy a minerály. Mezi jeho další funkce patří trávení, resorpce, skladování a vylučování nestrávených zbytků potravin a látek metabolické výměny. Samotné trávení můžeme popsat jako proces, kdy se mění látky složitější, přijímané z vnějšího prostředí, na látky jednodušší, které se mohou absorbovat a stát se tak součástí vnitřního prostředí lidského organismu (Goodman 2019).

Trávicí trakt se skládá z dutiny ústní, hltanu, jícnu, žaludku, tenkého a tlustého střeva. Stěna trávicí trubice je tvořena pěti vrstvami, a to sice mukózou, submukózou, cirkulární svalovinou, podélnou svalovinou a jako poslední serózní blána. Mukóza je slizniční vrstva produkující hlen, který chrání povrch trávicí trubice. Submukóza nebo-li podslizniční vrstva zodpovídá za sekreci trávicích enzymů a nachází se v ní cévy, nervová pletěň a žlázy. Cirkulární svalovina je odpovědná za pohyby uvnitř trubice, zatímco podélná svalovina zajišťuje peristaltické pohyby. A nakonec serózní blána přivádí arterie a odvádí žíly (Etienne-mesmin & Denis 2012; Goodman 2019).

Digestce nebo-li trávení probíhá v ústní dutině, žaludku a tenkém střevě. Dle toho rozlišujeme 3 fáze trávení: orální, gastrickou a enterální (obr. 17). V orální fázi probíhá zejména první fáze štěpení škrobů slinnou α -amylázou na oligosacharidy. Během gastrické fáze dochází k trávení bílkovin díky sekreci žaludeční šťávy. Kyselina chlorovodíková denaturuje bílkoviny, které jsou následně štěpeny pepsinem. Enterální fáze začíná v duodenu alkalizací kyselého žaludečního obsahu hydrogenuhličitanem na optimální pH pro činnost enzymů. Dochází k sekreci pankreatických enzymů, které vedou k hydrolýze peptidů (trypsin, chymotrypsin, elastáza, karboxypeptidázy), škrobů (α -amyláza) a tuků (lipáza). K další hydrolýze a vstřebávání dochází pomocí enzymů kartáčového lemu, a to zejména disacharidázy, dipeptidázy, aminopeptidázy (Etienne-mesmin & Denis 2012).



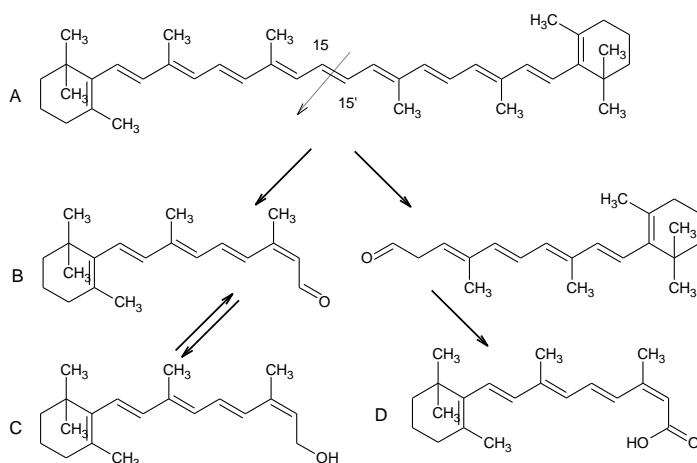
Obrázek 17: Anatomie a fyziologie trávicí soustavy (Etienne-mesmin & Denis 2012).

3.9.1 Biotransformace karotenoidů v trávicím traktu

V přírodě se vyskytuje více než 600 karotenoidů s různými strukturami a přibližně 50 z nich je přijímáno lidskou stravou. Navzdory zdraví prospěšným výhodám jsou karotenoidy méně biologicky dostupné než jiné lipofilní látky především kvůli jejich extrémní hydrofobitě. Biologická dostupnost funkčních složek potravin ve stravě je obecně jedním z klíčových faktorů ovlivňujících jejich skutečnou biologickou účinnost. Biologická dostupnost karotenoidů závisí na několika krocích: trávení a uvolnění z potravní matrice, formování smíšené tukové micely ve střevním lumenu, absorpci karotenoidů střevními buňkami sliznice a doručení přes lymfatický systém k plazmě (Harrison 2013; Nagao 2014).

V rané fázi trávení musí být karotenoidy uvolněny z potravinové matrice, čemuž můžeme napomoci zejména vařením a zpracováním potravin, nicméně karotenoidy přítomné v zelenině se oproti zralému ovoci obtížněji uvolňují v důsledku tuhých buněčných stěn. K prvnímu mechanickému a chemickému rozkladu dochází převážně v dutině ústní a žaludku působením trávicích enzymů a žaludečních šťáv. Uvolněné karotenoidy jsou pomocí žluči obsahující žlučové soli a fosfatidylcholin rozloženy a formovány do smíšených tukových micel ve střevním lumenu. Smíšené micely obsahují žlučové kyseliny, cholesterol, lysofosfatidylcholin, mastné kyseliny a monoacylglycerol. Malá část karotenoidů se může sdružovat také s proteiny. Například β -laktoglobulin mléčného lipokalinu je schopný vázat β -karoten a zároveň nemění jeho absorpci ve srovnání se smíšenými micelami (Nagao 2014).

Ve střevní buňce se micely rozpadají a osud karotenoidů tedy dále závisí na jejich struktuře. Karotenoidy provitaminu A jako je β -karoten, α -karoten a β -kryptoxanthin jsou přeměněny na vitamin A pomocí centrálního štěpícího enzymu β -karoten-15,15'-dioxygenasa za pomoci dvou molekul vody (obr.18). Nepozměněné karotenoidy jsou uloženy v lymfatických chylomikronech odcházejících do střevní lymfy, odkud jdou dále do krve a jater, kde jsou navázány na lipoproteiny. Většina karotenoidů je navázána na LDL. Takto navázané se objevují v krvi a dostávají se k cílovým orgánům. Karotenoidy jsou skladovány převážně v játrech, tukové tkáni, svalech, vaječnících a varlatech (Reboul 2019).



Obrázek 18: Konverze provitaminu A na vitamin A centrálním štěpením – β -karoten (A) se štěpí na dvě retinální molekuly (B), které jsou dále redukovány na retinol (C) nebo ireverzibilně oxidovány na retinovou kyselinu (D) (Nagao 2014).

Jelikož metabolismus karotenoidů nebyl u savců dodnes odhalen s výjimkou přeměny na vitamin A, je tato práce zaměřena na transformace během *in vitro* trávení.

Ke studiu gastrointestinálního chování potravin nebo léčiv se široce používají metody *in vitro* simulující trávicí procesy, které se rozdělují na statické a dynamické. Simulované metody trávení obvykle zahrnují orální fázi, žaludeční fázi, fázi tenkého střeva a příležitostně i fermentaci tlustého střeva. Tyto metody se snaží napodobit fyziologické podmínky *in vivo* s ohledem na přítomnost trávicích enzymů a jejich koncentrace, pH, dobu trávení a koncentraci solí (Alminger et al. 2014).

Statické modely pracují s předem stanovenými koncentracemi a objemy a jejich výhody spočívají v tom, že jsou rychlejší, levnější, méně náročné a díky tomu umožňují paralelní měření relativně velkého počtu vzorků pro účely screeningu. Naopak dynamické modely se více přibližují podmínkám *in vivo*, protože mohou simulovat kontinuální změny fyzikálně chemických podmínek jako jsou změny pH při průchodu ústy až po dosažení žaludku a střev, změny koncentrací sekrečních enzymů a peristaltické síly v gastrointestinálním traktu. Nastavení těchto složitých počítačově řízených systémů je však časově a pracovně náročné a vyžaduje vyšší provozní náklady z důvodu nepřetržitého přidávání látek napodobujících tekutiny v gastrointestinálním traktu (Alminger et al. 2014; Minekus et al. 2014).

4 Metodika a materiál

4.1 Materiál

Příprava rostlinného materiálu

V roce 2016/2017 bylo v Zemědělském výzkumném ústavu v Kroměříži pěstováno celkem devět odrůd pšenice. Experimentální pole se nachází 235 m nad mořskou hladinou s černozemní půdou s průměrnou roční teplotou 9,2 °C a průměrnými ročními srážkami 576 mm. Rostliny byly pěstovány na malých experimentálních pozemcích (10 m²). Po sklizni byly vzorky skladovány v papírových pytlích v krabici umístěných ve tmě při pokojové teplotě 21 °C po dobu 2 měsíců. Hlavní charakteristiky vybraných genotypů pšenice jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3 Popis odrůd a genotypů pšenice chleba (*Triticum aestivum* L.)

Odrůda	Typ	Země původu (1)	Odrůda	Barva
Bohemia	Zimní	CZE	Registrovaná odrůda	Červená (Red)
Annie	Zimní	CZE	Registrovaná odrůda	Červená (Red)
Citrus	Zimní	DEU	Registrovaná odrůda	Žlutý endosperm (Ye)
Bona Vita	Zimní	SVK	Registrovaná odrůda	Žlutý endosperm (Ye)
AF Jumiko	Zimní	CZE	Registrovaná odrůda	Purpurový perikarp (Pp)
RU 687-12	Jarní	CZE	Genetický zdroj	Purpurový perikarp (Pp)
Konini	Jarní	NZL	Registrovaná odrůda	Purpurový perikarp (Pp)
ANK-28A	Jarní	RUS	Genetický zdroj	Purpurový perikarp (Pp)
UC 66049	Jarní	USA	Genetický zdroj	Modrá aleuronová vrstva (Ba)
Skorpion	Zimní	CZE	Registrovaná odrůda	Modrá aleuronová vrstva (Ba)

(1) CZE – Česká republika; DEU – Německo; SVK – Slovensko; NZL – Nový Zéland; USA – Spojené státy americké

Použité chemikálie

K simulaci trávení byly použity chemikálie chlorid draselný (KCl), dihydrogenfosforečnan draselný (KH₂PO₄), hydrogenuhličitan sodný (NaHCO₃), chlorid sodný (NaCl), chlorid hořečnatý hexahydrát (MgCl₂CO₃·6H₂O), uhličitan amonný ((NH₄)₂CO₃), chlorid vápenatý (CaCl₂), kyselina chlorovodíková (HCl) a hydroxid sodný (NaOH) zakoupené od české firmy Lach-Ner a dále pepsin, pankreatin a žluč zakoupené od americké firmy Sigma-Aldrich.

Ke stanovení obsahu karotenoidů byly použity standardy luteinu a zeaxantinu zakoupené od francouzské firmy Extrasynthese, standard β-karotenu, butylovaný hydroxytoulén (BHT, Ph.Eur.) a tert-butyl methyl ether (HPLC grade) zakoupené od americké firmy Sigma-Aldrich a v neposlední řadě methanol (HPLC grade), aceton (p.a.), ethanol (p.a.) a hexan (p.a.) zakoupené od české firmy Lachner. Ultra čistá HPLC voda byla připravena pomocí přístroje Simplicity UV (Merck Millipore, Německo).

4.2 Metodika

4.2.1 Příprava roztoků

Pro jednotlivé fáze trávení byl do zásoby připraven orální roztok (SSF), žaludeční roztok (SGF) a roztok simulované střevní šťávy (SIF). K přípravě byly použity roztoky chloridu draselného, dihydrogenfosforečnanu draselného, hydrogenuhličitanu sodného, chloridu sodného, chloridu hořečnatého hexahydrát a uhličitanu amonného, jejichž koncentrace a množství jsou uvedeny v tab. 4.

Tabulka 4 Příprava SSF, SGF a SIF upravené dle Minekus et al. 2014.

Chemikálie	Koncentrace zásobního roztoku		SSF	SGF	SIF
	g/l	mol/l	ml	ml	ml
KCl	37,3	0,5	15,1	6,9	6,9
KH ₂ PO ₄	68	0,5	3,7	0,9	0,9
NaHCO ₃	84	1	6,8	12,5	0,8
NaCl	117	2	-	11,8	42,5
MgCl ₂ CO ₃	30,5	0,15	0,5	0,4	9,6
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0,5	0,06	0,5	1,1

4.2.2 Vaření

Do 250 ml kádinek bylo k cca 50 g syrového zrna od každého vzorku pšenice přidáno 100 ml vody. Kádinky byly přiklopeny hodinovými skly a vařeny ve vodní lázni po dobu 30 minut za občasného promíchání skleněnou tyčinkou. Po ukončení varu byly vzorky zcezeny od přebytečné vody a přesypány do igelitových sáčků. Vzorky byly zamrazeny při -18 °C na 24 hodin a následně lyofylozovány (Lyovac GT2; Steris, Hürth, Německo) po dobu 100 hodin v temnu.

4.2.3 *In vitro* trávení

Orální fáze

Pro simulaci orální fáze bylo smíšeno 5 g vzorku pšenice s 5 ml orálního roztoku (SSF), dále byla přidána amyláza (koncentrace ve výsledném roztoku 75 U/ml), 0,3M roztok CaCl₂ (koncentrace ve výsledném roztoku 0,075 mM) a deionizovaná voda. Vzorek byl pečlivě protřepán a následně inkubován po dobu 2 minut při 37 °C za stálého třepání (100 rpm).

Žaludeční fáze

K orální trávenině bylo přidáno v poměru 1:1 10 ml žaludečního roztoku (SGF), 0,3M roztoku CaCl₂ (koncentrace ve výsledném roztoku 0,075 mM), enzym pepsin (koncentrace ve výsledném roztoku 2000 U/ml) a deionizovaná voda. Samotné trávení probíhalo při pH 3. Ke snížení pH na tuto hodnotu bylo použito 0,38 ml 1M HCl. Směs byla po protřepání inkubována při 37 °C za stálého třepání (100 rpm) ve vodní lázni po dobu 2 hodin.

Střevní fáze

K žaludeční trávenině bylo přidáno v poměru 1:1 20 ml roztoku simulované střevní šťávy (SIF), enzym pankreatin (výsledná koncentrace trypsinu v pankreatinu 100 U/ml), 20mM žluč (koncentrace ve výsledném roztoku 10mM) a roztok 0,3M CaCl₂ (koncentrace ve výsledném roztoku 0,3 mM). Střevní fáze trávení probíhala při pH 7. Pro úpravu pH na tuto hodnotu byl použit 1M NaOH. Směs byla protřepána a inkubována za stálého třepání ve vodní lázni po dobu 2 hodin. Takto připravené vzorky byly následně zamrazeny na -80 °C a dále lyofilizovány (Lyovac GT2; Steris, Hürth, Německo) po dobu 100 hodin v temnu.

4.2.4 Analytické stanovení obsahu karotenoidů

Příprava vzorků pro HPLC analýzu syrového a vařeného zrna

Příprava vzorků byla dle Paznocht et al. (2019). Do plastových uzavíratelných kyvet bylo naváženo 2,0 g homogenizovaného vzorku obilných zrn (syrových, vařených, lyofilizovaných). K naváženému vzorku bylo přidáno 12 ml extrakční směsi ethanol:aceton:hexan 1:1:2 (v/v/v). Kyvety se vzorky byly řádně uzavřeny a umístěny na 24 hodin do lednice při 4 °C. Po denní extrakci byly vzorky promíchány na vortexu (Basic 3, IKA, Německo) a poté byly na 10 min vloženy do ultrazvukové lázně (Powersonic PS 04, Notus, Slovensko) k podpoře homogenizace a rozpustnosti částic. Následovalo odstředění vzorků po dobu 10 min při 8228 rcf (relativní centrifugační síla; 5810R, Eppendorf, Německo). 9 ml supernatantu bylo převedeno do 50ml odparných baněk. Ke zbylému sedimentu bylo přidáno dalších 12 ml extrakční směsi a celý postup extrakce byl proveden ještě jednou. Spojené extrakty (18 ml) byly odpařeny do sucha při 40 °C na vakuové rotační odparce (Rotavapor R-200, Büchi, Švýcarsko). Organické residuum obsahující karotenoidy bylo rekonstituováno do 2 ml směsi ethanol:aceton (3:2; v/v) s přísadkou 0,2% BHT (butylovaný hydroxytoluen). Vzorky byly následně přefiltrovány přes 0,45 µm PVDF membránový filtr do tmavých vialek a ve třech opakováních byly analyzovány na HPLC. Veškerá manipulace se vzorky probíhala za tlumeného osvětlení, aby nedocházelo ke světelné degradaci karotenoidů.

Příprava vzorků pro HPLC analýzu tráveniny

Lyofilizované vzorky byly zhomogenizovány a zality 20 ml extrakční směsi ethanol:aceton:hexan 1:1:2 (v/v/v). Kyvety se vzorky byly řádně uzavřeny a umístěny na 24 hodin do lednice při 4 °C. Po denní extrakci byly vzorky promíchány na vortexu a poté byly na 10 min vloženy do ultrazvukové lázně k podpoře homogenizace a rozpustnosti částic. Následovalo odstředění vzorků po dobu 10 min při 8228 rcf. 10 ml supernatantu bylo převedeno do 50ml odparných baněk. Ke zbylému sedimentu bylo přidáno dalších 10 ml extrakční směsi a celý postup extrakce byl proveden ještě jednou. Dokončení přípravy vzorku probíhalo identickým způsobem jako v kap. 4.2.4.

Chromatografická separace

Metoda chromatografické separace a identifikace analytů byla převzata z publikace Paznocht et al. (2019). Analýza karotenoidů ve vzorcích byla provedena na kapalinovém

chromatografu Ultimate 3000 (Thermo Scientific, USA). K separaci analytů byla použita C30 kolona (YMC C30 Carotenoid Column, 150 mm × 3.0 mm, S-3 μm). Vzorčky byly měřeny za následujících podmínek chromatografické separace (tab. 5).

Tabulka 5: Podmínky chromatografické separace pro měření vzorků.

Mobilní fáze	methanol (MeOH), voda (H ₂ O), <i>tert</i> -butyl methyl ether (TBME)
	Gradientová
	min 90 % MeOH; 10 % H ₂ O, 0 % TBME (isokrat.)
	1-6 min 90 % MeOH, 0 % H ₂ O, 10 % TBME (lin. Gr.)
	6-22 min 40 % MeOH; 0 % H ₂ O, 60 % TBME (lin. Gr.)
Eluce	22-24 min 20 % MeOH; 0 % H ₂ O, 80 % TBME (lin. Gr.)
	24-30 min 90 % MeOH; 10 % H ₂ O, 0 % TBME (lin. Gr.)
	30-33 min 90 % MeOH; 10 % H ₂ O, 0 % TBME (isokrat.)
Průtok	0,6 ml/min
Teplota kolony	25 °C
Teplota sampleru	10 °C
Objem nástřiku	10 μl
Doba analýzy	33 min
Detekce	PDA, 445 a 480 nm

4.2.5 Identifikace a kvantifikace vzorků

Karotenoidy lutein, zeaxantin a β-karoten byly ve vzorcích identifikovány porovnáním retenčních časů a absorpčních spekter se zakoupenými standardy. Kvantifikace karotenoidů ve vzorcích byla provedena metodou externí kalibrace. Ze zakoupených standardů byly vytvořeny zásobní roztoky o koncentraci 100 μg/ml v závislosti na polaritě molekul a jejich rozpustnosti (lutein byl extrahován v etanolu, zeaxantin v acetonu a β-karoten v hexanu). Ze zásobních roztoků byly připraveny pracovní standardy o koncentracích 0,1–20 μg/ml. Před každou analýzou byla spektrofotometricky stanovena přesná koncentrace standardů, která byla vypočítána z níže uvedeného vztahu:

$$C_{std} = \frac{A_{sk}}{A_l}$$

kde C_{std} je koncentrace příslušného standardu, A_{sk} je skutečná absorbance extraktu standardu při předpokládané koncentraci 1 μg/ml a A_l je absorbance extraktu standardu o koncentraci 1 μg/ml.

Pro jednotlivé standardy byly použity následující extinkční koeficienty ($E1\%_{1cm}$): lutein 2550 (445 nm, ethanol), zeaxantin 2340 (452 nm, aceton) a β-karoten 2592 (453 nm, hexan). Obsah karotenoidů ve vzorcích obilovin byl vyjádřen v μg/g suchého zrna. Všechny analýzy byly provedeny ve třech opakováních.

4.2.6 Statistická analýza

K vyhodnocení získaných dat byl použit program Microsoft Excel a software IBM SPSS Statistics, kde byla data podrobena jednofaktorovému a dvoufaktorovému ANOVA testu se statistickou významností na hladině $p < 0,05$. Výsledky jsou vyjádřeny v $\mu\text{g/g}$ sušiny \pm směrodatná odchylka.

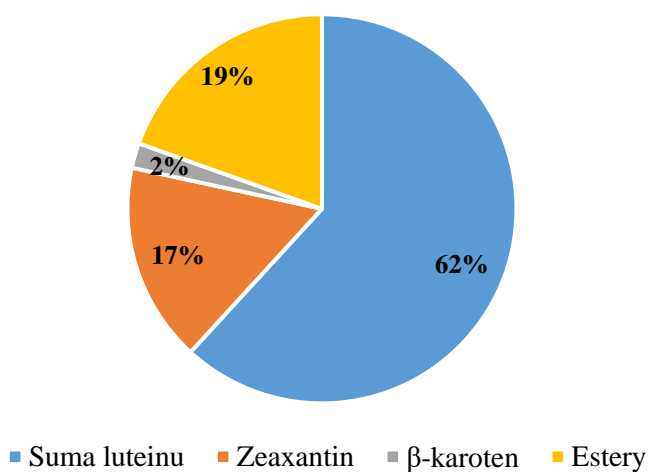
5 Výsledky

5.1 Identifikace a kvantifikace karotenoidů

Karotenoidy byly identifikovány porovnáním retenčních časů a absorpčních spekter se spektry analytických standardů. Protože většina esterů v pšenici jsou zejména estery luteinu s pouze malým podílem anteraxantinových a zeaxantinových esterů (Paznocht et al. 2018), v této práci jsou estery vyjádřeny pouze jako luteinové obdobně jako ve studii Paznocht et al. (2019).

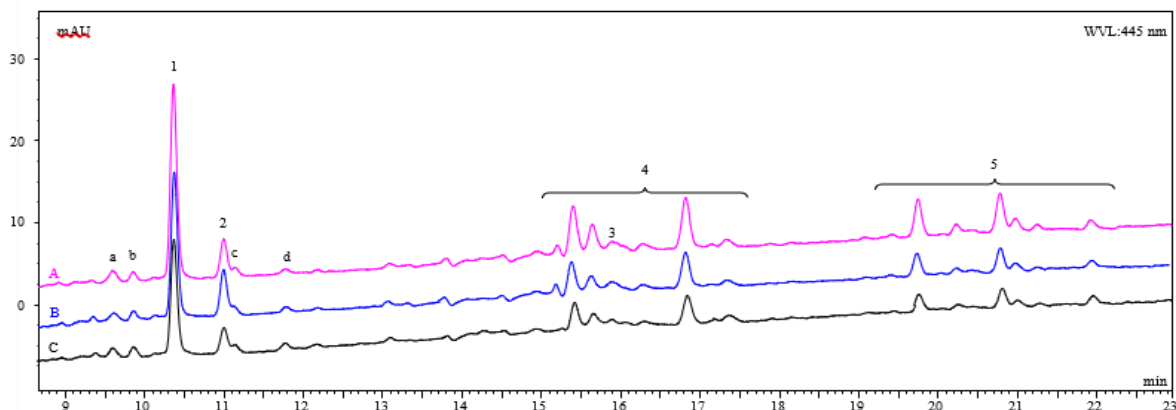
Složení jednotlivých karotenoidů v celozrnných moukách analyzovaných genotypů bylo velmi podobné. Zhruba 62 % bylo tvořeno luteinem (součet všech *trans*-luteinů a dalších detekovaných *cis*-izomerů). Dále jeho estery (19 %), zeaxantinem (17 %) a β -karotenem (2 %) (obr. 19).

Zatímco lutein a zeaxantin byly detekovány ve všech vzorcích, β -karoten byl detekován pouze v některých genotypech a estery luteinu nebyly detekovány u odrůd Bohemia, Citrus, AF Jumiko (tab. 6). Průměrný obsah celkového luteinu ve všech odrůdách byl 0,617 $\mu\text{g/g}$ sušiny, přičemž nejvyšší celkový obsah byl zjištěn u odrůd se žlutým endospermem Citrus a Bona Vita (3,272 $\mu\text{g/g}$ a 1,674 $\mu\text{g/g}$), následovaných zrn s purpurovým perikarpem (například 1,029 $\mu\text{g/g}$ u AF Jumiko). Nižší celkový obsah luteinu byl pozorován u zrn s modrým aleuronem UC 66049 (0,282 $\mu\text{g/g}$) a standardních červenozrnných odrůd (0,348 $\mu\text{g/g}$ a 0,858 $\mu\text{g/g}$).



Obrázek 19 Průměrné složení spektra karotenoidů syrového pšeničného zrna.

Získaný chromatogram HPLC-DAD analýzy obsah karotenoidů ve vzorku pšenice Konini, který ukazuje změny jednotlivých identifikovaných karotenoidů v průběhu fází experimentu (obr. 20).



Obrázek 20: Chromatogram odrůdy pšenice Konini ukazující rozdíly mezi syrovým zrnem (A), vařeným zrnem (B), a tráveninou (C). a – (13-*cis*)-lutein, b – (13'-*cis*)-lutein, 1 – *trans*-lutein, 2 – zeaxantin, c – (9-*cis*)-lutein, d – (9'-*cis*)-lutein, 3 – β -karoten, 4 – xantofylové monoestery, 5 – xantofylové diestery.

5.2 Stanovení obsahu karotenoidů v syrovém zrně

Stanovení celkového obsahu karotenoidů u jednotlivých druhů pšenice bylo provedeno dle metod, které jsou uvedeny v kapitole 4.2. Výsledné hodnoty obsahu karotenoidů jsou uvedeny v $\mu\text{g/g}$ sušiny se směrodatnou odchylkou v tab. 6.

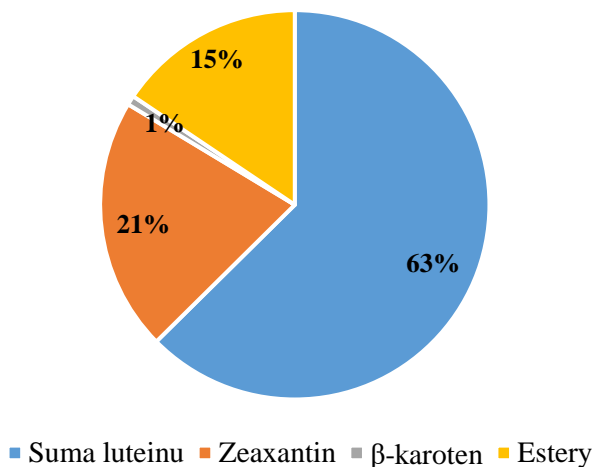
Průměrný celkový obsah karotenoidů v celozrnné mouce byl ve všech analyzovaných genotypech $1,588 \mu\text{g/g}$ sušiny a pohyboval se od $0,598 \mu\text{g/g}$ (UC 66049) do $3,691 \mu\text{g/g}$ (Citrus). Nejvyšší celkový obsah karotenoidů byl pozorován v moukách ze zimních odrůd Citrus ($3,691 \mu\text{g/g}$) a Bona Vita ($3,458 \mu\text{g/g}$). Zvýšený obsah vzhledem k průměru byl také nalezen v mouce z jarní pšenice Konini a RU 687-12 a zimní pšenice AF Jumiko. Naopak v mouce z odrůd šlechtitelských materiálů UC 66049 a Skorpion a v kontrolních odrůdách Annie a Bohemia byl celkový obsah karotenoidů v průměru minimálně čtyřikrát nižší ($0,865 \mu\text{g/g}$) než u odrůd se žlutým endospermem ($3,574 \mu\text{g/g}$).

5.3 Stanovení obsahu karotenoidů ve vařeném pšeničném zrně

Pšeničné zrno bylo vařeno dle metod, uvedených v kapitole 4.2. a následně analyzováno. Výsledné hodnoty obsahu karotenoidů jsou uvedeny v $\mu\text{g/g}$ sušiny se směrodatnou odchylkou v tab. 6. Pro přehlednost jsou výsledky průměrného spektra karotenoidů uvedeny na obr. 21.

Ve srovnání se syrovým pšeničným zrnem došlo k průměrnému poklesu celkového obsahu karotenoidů o 27 %. Největší pokles vykazovaly v průměru odrůdy se žlutým endospermem (o 33 %; na $2,393 \mu\text{g/g}$), naopak nejmenší pokles byl v průměru zaznamenán u červenozrnných odrůd (o 21 %; na $0,695 \mu\text{g/g}$) a u odrůd s purpurovým perikarpem (o 22 %; na $1,033 \mu\text{g/g}$). Co se týče jednotlivých odrůd, došlo k nejmenšímu poklesu u odrůdy Konini (o 17 %; na $1,569 \mu\text{g/g}$) a Bohemia (o 18 %; na $0,912 \mu\text{g/g}$). Naopak nejvyšší ztráty vykazovala odrůda Bona Vita (o 37 %; na $2,191 \mu\text{g/g}$). Během vaření došlo také k poklesu jednotlivých karotenoidů, konkrétně luteinu o 26 %, zeaxantinu o 7 %, esterů o 42 % ve srovnání se syrovým zrnem. Hodnota β -karotenu byla stanovena jen u odrůdy Konini ($0,081 \mu\text{g/g}$), naopak

v odrůdách Citrus a Bona Vita byl pod limitem kvantifikace a v ostatních odrůdách nebyl detekován.

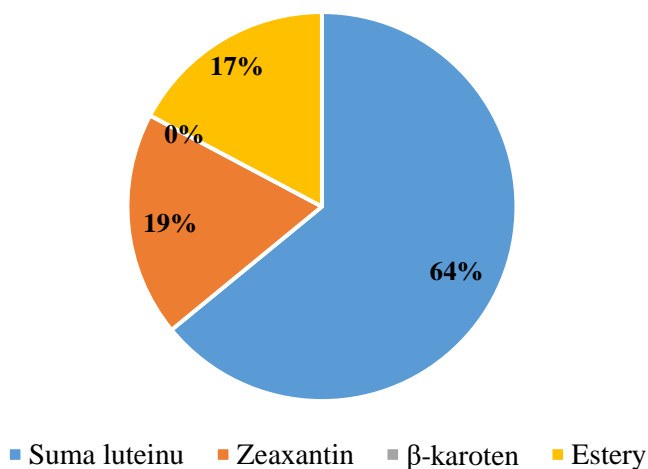


Obrázek 21: Průměrné složení karotenoidů ve vařeném pšeničném znu.

5.4 Stanovení obsahu karotenoidů v trávěnině

Trávení proběhlo dle metod uvedených v kapitole 4.2. Pro přehlednost jsou výsledky průměrného spektra karotenoidů uvedeny na obr. 22.

Nejvyšší celkový obsah karotenoidů v trávěnině byl zjištěn u odrůdy Citrus (pokles o 30 %; na 2,342 $\mu\text{g/g}$), naopak více než 8 \times menší množství bylo zjištěno u odrůdy Annie (pokles o 73 %; na 0,283 $\mu\text{g/g}$). Ve srovnání se syrovým zrnem došlo průměrně k poklesu celkového obsahu karotenoidů o 40 % a vzhledem k vařenému znu o 12 %. U odrůd s modrým aleuronem se průměrně snížil celkový obsah karotenoidů o 44 %, u odrůd se žlutým endospermem o 41 %, s purpurovým perikarpem o 38 % a u červenorznných odrůd o 34 %. Co se týče spektra karotenoidů obsah luteinu se snížil o 37 %, zeaxantinu o 32 % a esterů o 46 % ve srovnání se syrovým pšeničným zrnem. β -karoten byl u odrůdy Konini, Citrus a Bona Vita pod limitem kvantifikace a v ostatních odrůdách nebyl detekován.



Obrázek 22: Průměrné složení spektra karotenoidů v trávěnině.

Tabulka 6 Obsah karotenoidů (μg/g) sušiny v syrovém, vařeném a tráveném zrně ± směrodatná odchylka u všech analyzovaných odrůd/genotypů.

Odrůda/genotyp	Stav	Suma luteinu	Zeaxantin	β-karoten	Estery	Suma karotenoidů
		μg/g průměr ± SD				
Bohemia	Syrové	0,858 ± 0,005a	0,258 ± 0,007a	n.d.	n.d.	1,116 ± 0,004a
	Vařené	0,668 ± 0,021b	0,244 ± 0,005ab	n.d.	n.d.	0,912 ± 0,020b
	Trávené	0,678 ± 0,023b	0,215 ± 0,028b	n.d.	n.d.	0,893 ± 1,019b
Annie	Syrové	0,348 ± 0,016a	0,127 ± 0,036a	n.d.	0,181 ± 0,009a	0,655 ± 0,028a
	Vařené	0,250 ± 0,009b	0,111 ± 0,005a	n.d.	0,117 ± 0,016b	0,478 ± 0,021b
	Trávené	0,090 ± 0,006c	0,071 ± 0,014a	n.d.	0,122 ± 0,012b	0,283 ± 0,327c
Citrus	Syrové	3,272 ± 0,083a	0,321 ± 0,007a	0,098 ± 0,001a	n.d.	3,691 ± 0,090a
	Vařené	2,307 ± 0,029b	0,287 ± 0,006b	<LOQ	n.d.	2,595 ± 0,030b
	Trávené	2,100 ± 0,087c	0,242 ± 0,010c	<LOQ	n.d.	2,342 ± 0,167c
Bona Vita	Syrové	1,674 ± 0,004a	0,265 ± 0,017a	0,31 ± 0,002a	1,388 ± 0,059a	3,458 ± 0,080a
	Vařené	1,361 ± 0,027b	0,219 ± 0,014b	<LOQ	0,611 ± 0,014b	2,191 ± 0,043b
	Trávené	1,112 ± 0,011c	0,171 ± 0,002c	<LOQ	0,597 ± 0,045b	1,880 ± 0,152c
AF Jumiko	Syrové	1,029 ± 0,005a	0,260 ± 0,008a	n.d.	n.d.	1,289 ± 0,013a
	Vařené	0,758 ± 0,030b	0,244 ± 0,005b	n.d.	n.d.	1,001 ± 0,025b
	Trávené	0,721 ± 0,017b	0,174 ± 0,005c	n.d.	n.d.	0,895 ± 0,012c
Konini	Syrové	0,652 ± 0,024a	0,372 ± 0,002a	0,102 ± 0,002a	0,753 ± 0,023a	1,880 ± 0,046a
	Vařené	0,564 ± 0,021b	0,357 ± 0,005b	0,081 ± 0,002b	0,566 ± 0,013b	1,569 ± 0,011b
	Trávené	0,430 ± 0,018c	0,237 ± 0,004c	<LOQ	0,476 ± 0,005c	1,144 ± 0,022c
ANK 28A	Syrové	0,540 ± 0,007a	0,335 ± 0,014a	n.d.	0,072 ± 0,008a	0,947 ± 0,015a
	Vařené	0,383 ± 0,027b	0,316 ± 0,015a	n.d.	0,063 ± 0,005a	0,762 ± 0,028b
	Trávené	0,314 ± 0,010c	0,205 ± 0,003b	n.d.	0,066 ± 0,004a	0,585 ± 0,016c
RU 687-12	Syrové	0,549 ± 0,005a	0,228 ± 0,002a	n.d.	0,374 ± 0,027a	1,150 ± 0,028a
	Vařené	0,351 ± 0,002b	0,198 ± 0,025a	n.d.	0,252 ± 0,005b	0,801 ± 0,022b
	Trávené	0,271 ± 0,034c	0,153 ± 0,009b	n.d.	0,242 ± 0,005b	0,665 ± 0,047c

Odrůda/genotyp	Stav	Suma luteinu	Zeaxantin	β -karoten	Estery	Suma karotenoidů
$\mu\text{g/g}$ průměr \pm SD						
UC 66049	Syrové	0,282 \pm 0,005a	0,222 \pm 0,011a	n.d.	0,094 \pm 0,003a	0,598 \pm 0,013a
	Vařené	0,197 \pm 0,008b	0,210 \pm 0,020a	n.d.	0,034 \pm 0,002b	0,440 \pm 0,026b
	Trávené	0,152 \pm 0,003c	0,155 \pm 0,022b	n.d.	0,023 \pm 0,001c	0,330 \pm 0,025c
Skorpion	Syrové	0,610 \pm 0,032a	0,242 \pm 0,019a	n.d.	0,241 \pm 0,015a	1,092 \pm 0,066a
	Vařené	0,396 \pm 0,020b	0,241 \pm 0,057a	n.d.	0,156 \pm 0,003b	0,793 \pm 0,070b
	Trávené	0,305 \pm 0,019c	0,174 \pm 0,013a	n.d.	0,131 \pm 0,014b	0,610 \pm 0,039c
Průměr	Syrové	0,981 \pm 0,019a	0,263 \pm 0,012a	0,033 \pm 0,000a	0,310 \pm 0,015a	1,588 \pm 0,038a
	Vařené	0,723 \pm 0,019a	0,243 \pm 0,016a	0,009 \pm 0,026b	0,180 \pm 0,006a	1,154 \pm 0,030b
	Trávené	0,617 \pm 0,023a	0,180 \pm 0,011b	–	0,166 \pm 0,009a	0,963 \pm 0,196b
Pokles na *	Vařené	73,7 %	92,3 %	27,1 %	58,1 %	72,7 %
	Trávené	62,9 %	68,3 %	0	53,4 %	60,6 %

n.d. (non detected) – nedetekováno; <LOQ (limit of quantification) – pod limitem kvantifikace; SD – Směrodatná odchylka; * vztaženo k původnímu obsahu v syrovém pšeničném zrně; hodnoty ve sloupcích označenými různými písmeny jsou statisticky odlišné na hladině $p < 0,05$; různá písmena představují statisticky významné rozdíly

6 Diskuze

Celozrná mouka se skládá z 10–14 % otrub, 2,5–3,0 % klíčku a 80–85 % endospermu. Bioaktivní sloučeniny jsou distribuovány ve všech těchto částech, nicméně karotenoidy jsou koncentrovány zejména v endospermu a klíčku ve srovnání například s fenolickými kyselinami koncentrovanými ve vnější vrstvě zrna (Mellado-ortega & Hornero-méndez 2016). Lutein a zeaxantin byly detekovány ve všech námi testovaných vzorcích pšeničných zrn. Koncentrace luteinu se pohybovala mezi 0,28–3,27 $\mu\text{g/g}$ (UC 66049; Citrus), přičemž převažovaly formy *trans*, které jsou oproti *cis* formám stabilnější a mají menší tendenci ke změnám. Koncentrace zeaxantinu kolísala od 0,13 $\mu\text{g/g}$ do 0,37 $\mu\text{g/g}$ (Annie; Konini). Naše výsledky lze srovnat s výsledky Okarter et al. (2009), kde se obsah luteinu pohyboval v rozmezí 0,67–2,11 $\mu\text{g/g}$ a obsah zeaxantinu od 0,25 $\mu\text{g/g}$ do 0,53 $\mu\text{g/g}$ v 6 různých odrůdách pšenice. Hidalgo et al. 2006 uvádí, že původní neprošlechtěný druh diploidní pšenice jednozrnky (*T. monococcum*) byl bohatší na karotenoidy, zejména na lutein, který v průměru činil 7,69 $\mu\text{g/g}$ (91 % z celkových karotenoidů, z celkových 8,41 $\mu\text{g/g}$), což bylo 2–4× více (1,89–4,79 $\mu\text{g/g}$) než v ostatních jednotlivě zastoupených analyzovaných pšenicích (pšenice tvrdá a pšenice setá).

Lutein je hlavním žlutým pigmentem v pšeničných zrnech (Paznocht et al. 2019). Ve studii Konopka et al. (2006) se jeho obsah pohyboval od 71,3 % do 83,3 % u jarní a ozimé pšenice. Předchozí studie (Konopka et al. 2004) ukázala, že lutein v mouce z polské ozimé pšenice činil přibližně 95 % všech karotenoidů. Dále uvedli, že lutein ve formě *trans* izomerů tvořil asi dvě třetiny všech karotenoidů, což je srovnatelné s našimi výsledky. Studie ukázaly (Bone et al. 2001; Landrum et al. 2001), že příjem luteinu byl spojen se snížením výskytu věkem podmíněné makulární degenerace, jehož hlavním důsledkem jsou slepota u starších lidí a katarakt. Kromě toho jsou lutein a zeaxantin jedinými karotenoidy nalezenými v makulární oblasti sítnice a jejich denní příjem, zejména luteinu (6 mg), může snížit riziko makulární degenerace asi o 57 % (Abdel-Aal et al. 2002).

Zeaxantin byl druhým nejhojnějším xantofylem identifikovaným v pšenici. Jeho podíl se pohyboval okolo 20 % z celkového obsahu karotenoidů v pšenici s purpurovým perikarpem a modrým aleuronem, což je 2× více ve srovnání s podílem u pšenice tvrdé (10,7 %) dle Mellado-Ortega et al. (2015), nicméně v této studii byly porovnávány pouze tři odrůdy pšenice tvrdé.

V našich vzorcích pšenice byl β -karoten nalezen v mnohem nižší koncentraci ve srovnání s xantofyly, a to sice v rozmezí od 0,098 $\mu\text{g/g}$ (Ye) do 0,102 $\mu\text{g/g}$ (Pp). Stejně jako u nás byla ve studii Konopka et al. (2006) zaznamenána přítomnost β -karotenu jen u několika vzorků, přičemž tento podíl byl 2× vyšší (4,45 % z celkového obsahu karotenoidů) ve srovnání s námi (2 %).

Průměrný obsah karotenoidů v syrovém zrně v našich analyzovaných odrůdách byl 1,59 $\mu\text{g/g}$ a pohyboval se od 0,6 $\mu\text{g/g}$ (UC 66049) do 3,7 $\mu\text{g/g}$ (Citrus). O něco vyšší množství (2 $\mu\text{g/g}$) bylo nalezeno ve studii Hentschel et al. (2002), nicméně byly zde analyzovány jen 4 různé odrůdy. Dále Hidalgo et al. (2006) zkoumali celkový obsah karotenoidů u 54 odrůd pšenice jednozrnky, 6 odrůd pšenice tvrdé a 5 odrůd pšenice seté pěstovaných po celé Evropě. Průměrný celkový obsah karotenoidů v pšenici tvrdé byl nalezen zhruba o polovinu vyšší (3,2 $\mu\text{g/g}$) oproti našemu, dále v pšenici seté byl 1,95 $\mu\text{g/g}$ a v pšenici jednozrnce 8,41 $\mu\text{g/g}$. Ve

zmíněné pšenici tvrdé se celkový obsah karotenoidů pohyboval od 1,48 µg/g do 2,71 µg/g. Ficco et al. (2016) studovali změny složení pšenice tvrdé s purpurovým perikarpem a žlutým endospermem během mletí a zpracování při výrobě čerstvých těstovin. Nejvyšší celkový obsah karotenoidů našli v celozrnné mouce (7,38 µg/g), dále v polohrubé mouce (6,30 µg/g) a nejnižší obsah v krupici (5,25 µg/g). Dále uvedli, že celkový obsah karotenoidů u pšenice tvrdé s purpurovým perikarpem (7,38 µg/g sušiny) byl o něco nižší ve srovnání s celozrnnou moukou z pšenice tvrdé se žlutým endospermem (7,68 µg/g sušiny). Nicméně některé z našich pigmentovaných odrůd, zejména s purpurovým perikarpem, dosáhly srovnatelných nebo dokonce vyšších hodnot celkového obsahu karotenoidů než běžné červené odrůdy. Ndolo & Beta (2013) také ve své studii zjistili nepatrně vyšší celkový obsah karotenoidů v zrnech pšenice s purpurovým perikarpem (2,62 µg/g), než byl průměr ze tří nebarevných odrůd pšenice (2,56 µg/g). Mimo jiné také zjistili zřetelnější rozdíl mezi zrny s purpurovým perikarpem a nepigmentovanými zrny ječmene, kdy celkový obsah karotenoidů pigmentované odrůdy ječmene (4,54 µg/g) byl 2× vyšší než jeho nepigmentovaná forma (2,25 µg/g). Výše uvedené poznatky mohou vést k závěru, že linie s purpurovým perikarpem by mohly být cenným zdrojem karotenoidů a jak Lachman et al. (2017) uvádí, tak i zdrojem antokyanových pigmentů. β-karoten byl detekován jen u tří našich odrůd (Citrus, Bona Vita, Konini) a jeho průměrný obsah byl stanoven na 0,03 µg/g, což je srovnatelné se studií Hidalgo et al. (2006), kde byl β-karoten pod detekčním limitem v sedmi z osmi druhů a jeho hodnota byla 0,21 µg/g.

Celozrnná mouka obsahuje podstatně více fytonutrientů než hladká pšeničná mouka z toho důvodu, že při výrobě hladké mouky je rozemlet pouze endosperm a zbývající části zrna jsou odstraňovány. Nicméně právě ve vnějších vrstvách je vyšší obsah bioaktivních látek jako jsou fenolické kyseliny, fytosteroly, tokoferoly a karotenoidy než ve vnitřní části zrna. V endospermu je nejvíce zastoupen lutein, zatímco zeaxantin a β-karoten jsou koncentrovány v blízkosti vnějších vrstev (Borrelli et al. 2008). Například Citrus a Bona Vita (Ye) mají geneticky vyšší obsah karotenoidů zejména v endospermu, což vysvětluje jejich zvýšený obsah luteinu. Naopak odrůdy s purpurovým perikarpem a odrůdy s modrým aleuronem jsou šlechtěné spíše na vyšší obsah antokyanů, nicméně i tak obsahují odrůdy s purpurovým perikarpem 1,5–2× více karotenoidů než tradiční červené odrůdy. Hlavním rozdílem mezi odrůdami s modrým aleuronem a purpurovým perikarpem je přítomnost čtyř hlavních antokyanů delfinidin-3-glukosidu, delfinidin-3-rutinosidu, kyanidin-3-glukosidu a kyanidin-3-rutinosidu v pšeničných zrnech s modrým aleuronem (Abdel-Aal et al. 2008). Karotenoidy a antokyaniny jsou známé pro své antioxidační vlastnosti, kterým se Žilic et al. (2012) věnovali ve své studii, kde studovali distribuci fenolických sloučenin a žlutých pigmentů v zrnech pšenice a jejich vztah k celkové antioxidační aktivitě u bílé a celozrnné mouky. Rovněž byla měřena intenzita zbarvení žlutých pigmentů, aktivita lipoxygenázových (LOX) a peroxidázových (POX) enzymů. Jejich výsledky ukázaly, že celozrnná mouka obsahovala výrazně vyšší koncentrace fenolických kyselin, flavonoidů a žlutých pigmentů. Aktivita LOX byla zaznamenána v endospermu a klíčku, zatímco aktivita POX v otrubách. Výsledky tedy naznačují, že celozrnná mouka by potenciálně mohla poskytnout vyšší množství přírodních antioxidantů.

Celkový obsah karotenoidů může být ovlivněn geneticky, například ve studii Hidalgo et al. (2006) se ukázalo, že pšenice jednozrnka a pšenice tvrdá obsahovaly vyšší hladiny luteinu

(5,4–7,4 µg/g) ve srovnání s pšenicí setou (1,9 µg/g). Zatím jsou genetické manipulace pro zvýšení obsahu karotenoidů v pšenici zaměřeny zejména na množství β-karotenu, nicméně u jiných karotenoidů například u luteinu a zeaxantinu bylo jejich zvýšení zaznamenáno jen zřídka i přesto, že hrají významnou roli při podpoře zdraví očí a kůže a při snižování rizika několika chronických onemocnění (Zhai et al. 2006). Další významný vliv na koncentraci karotenoidů mají dle Stracke et al. (2009) také klimatické podmínky, a to zejména teplota a celkový úhrn srážek. Průměrnou teplotou a jejím vlivem na antioxidační aktivitu se zabývali Lv et al. (2013), kde zjistili, že vyšší průměrná teplota vzduchu byla spojena se zvýšením antioxidační aktivity v pšeničné mouce, která byla měřena pomocí aktivity ABTS•.

Během vaření byl zaznamenán v průměru nejvyšší pokles celkového obsahu karotenoidů u odrůd se žlutým endospermem (o 33 %), ostatní odrůdy na tom byly velmi podobně – odrůdy s modrým aleuronem o 27 %, s purpurovým perikarpem o 22 % a červené odrůdy o 21 %. U jednotlivých odrůd byl nejvyšší pokles zaznamenán u odrůdy Skorpion (Ba; o 35,1 %) a naopak nejnižší u odrůdy Konini (Pp; o 13,5 %). Co se týče spektra karotenoidů došlo k nejvyššímu poklesu u β-karotenu (o 72,9 %), dále u esterů (o 41,9 %), luteinu (o 26,3 %). Zeaxantin byl vyhodnocen jako nejodolnější vůči působení vysoké teploty během vaření, poklesl pouze o 7,7 %. Celkový obsah karotenoidů klesl o 27,3 %. Naše výsledky během vaření můžeme srovnávat například s výsledky Paznocht et al. (2019), kde studovali změny obsahu karotenoidů v barevných odrůdách pšenice během přípravy těsta a následného pečení, kdy celkový obsah karotenoidů poklesl vlivem působení vysoké teploty během pečení o 72,6 %, což je 2,5× více ve srovnání s námi. Z toho můžeme usuzovat, že vaření má menší vliv na degradaci karotenoidů než pečení. Nicméně vlivem zpracování těsta došlo k poklesu již o 61,5 %, z čehož vyplývá, že velmi významný faktor na celkový obsah karotenoidů při výrobě pšeničných výrobků je zejména hnětení těsta. Vliv zpracování těsta hnětením na celkový obsah karotenoidů byl zkoumán ve studii Hidalgo et al. (2010), kde byly zjišťovány změny obsahu karotenoidů v průběhu výroby chleba, sucharů a těstovin u pšenice jednorzanky, seté a tvrdé. Při hnětení těsta pro přípravu chleba a sucharů došlo jen k mírným ztrátám u pšenice jednozrnky (9 % a 6 %). Naopak ve srovnání s Paznocht et al. (2019) došlo při výrobě těstovin během hnětení o necelou polovinu menší degradaci karotenoidů (54 % v pšenici seté, 34 % v krupici a 15 % v pšenici jednozrnce). To může být vysvětleno kratší dobou hnětení těsta (7 minut vs 32 minut) ve srovnání s Paznocht et al. (2019). Dále Lenhardt et al. (2006) stanovovali celkový obsah karotenoidů po každém kroku výroby chleba tedy v syrové mouce, po hnětení a na čerstvě upečeném chlebu. Při hnětení byl zjištěn průměrný úbytek o 66 %, což je nepatrně více než výsledky dle Paznocht et al. (2019) a po následném pečení se úbytek pohyboval mezi 36 % až 45 % v závislosti na druhu pšenice. Nicméně uvádějí, že těsto před pečením 1 hodinu kynulo, což způsobilo další ztráty (10 %) celkového obsahu karotenoidů. Také jejich podmínky pro hnětení byly odlišné (8 minut při nízké rychlosti hnětení a 8 minut při vysoké rychlosti), přičemž tradiční způsob je nejméně 20 minut, a to 5 minut při nízké rychlosti a 15 minut při vysoké rychlosti. Karotenoidy jsou citlivé na řadu exogenních faktorů například na světlo, kyslík, teplo, extrémní hodnoty pH a také endogenní enzymatickou aktivitu. K jejich ztrátám během přípravy těsta dochází v důsledku přítomnosti oxidačních enzymů v mouce jako je lipoxygenáza, peroxidáza a polyfenol oxidáza, které se stanou aktivními po přidání vody a provzdušnění kyslíkem během hnětení (Ficco et al. 2016; Leenhardt et al. 2006; Luthria et al.

2015). Pro srovnání s námi bohužel nebyla nalezena významná studie zkoumající vliv vaření na celkový obsah karotenoidů v pšenici, nicméně existují studie zabývající se vlivem vaření na obsah karotenoidů v kukuřici. Například ve studii Díaz-Goméz et al. (2017) byly provedeny dva nezávislé experimenty k vyhodnocení stability karotenoidů v kukuřici během vaření. Bylo zjištěno, že obsah karotenoidů byl po tepelném zpracování vyšší než u nevařených kukuřic, nicméně toho bylo dosaženo při použití nízké teploty v poměrně krátkém čase (75 °C, 10 minut), kdy dochází k uvolnění karotenoidů z konjugátu karotenoprotein. Při vysokých teplotách (> 80 °C) je většina kukuřičných proteinů denaturována a nerozpuštěna, tudíž není možné karotenoidy z těchto komplexů uvolnit. S ohledem na čas byl ve vzorcích ošetřených delší dobu (> 10 minut) zaznamenán jen mírný nárůst celkového obsahu karotenoidů, až při působení 95 °C po dobu 120 minut byl pozorován pokles o 0,5 µg/g. To lze vysvětlit zvýšením oxidačních procesů, protože delší doby vaření zvyšují oxidaci v důsledku nadměrného vystavení teplu a oxidace, která je stimulována světlem a teplem v závislosti na dostupném kyslíku a typu karotenoidu, je hlavním faktorem, podílejícím se na ztrátách obsahu karotenoidů (Ötles & Çagindi 2008). V další studii Song et al. (2013) byly pozorovány vlivy tří druhů tepelného zpracování (vaření, mikrovlnný ohřev a smažení) po dobu jedné, tří a pěti minut na celkový obsah karotenoidů v čerstvé kukuřici. Výsledky studie ukázaly, že zmíněné způsoby zpracování u čerstvé kukuřice zvýšily celkový obsah karotenoidů 1,1× až 1,8× oproti původnímu obsahu (25,98 µg/g). Smažením v horkém oleji (170 °C) po dobu pěti minut bylo dosaženo nejvyššího nárůstu celkového obsahu karotenoidů (na 46,10 µg/g, o 1,8×), což může být způsobeno přítomností tuku při zpracování, dále mikrovlnným ohřevem, kde byla kukuřice nejdříve ponořena do 200 ml horké vody (80 °C) a následně ohřána v mikrovlnné troubě (600 W) po stejnou dobu (zvýšení 1,58×) a nakonec třiminutovým vařením ve vodě o teplotě 100 °C (1,1×). K největšímu poklesu došlo během vaření, naopak k nejnižšímu během smažení po dobu tří minut. Ve srovnání s námi tedy můžeme usuzovat, že u našich vzorků nedošlo k nárůstu celkového obsahu karotenoidů z důvodu dlouhé doby vaření (30 minut) a odlišnosti druhu obiloviny.

Co se týče tedy způsobu kulinární úpravy se dospělo k názoru, že k nejnižším ztrátám obsahu karotenoidů dochází při smažení po velmi krátkou dobu, což je spojeno se sníženou možností oxidace karotenoidů a přítomností tuku. Nicméně tuto úpravu není vhodné zařadit při dietním stravování. Při smažení dochází ke ztrátám dalších významných nutričních látek a také ke vzniku toxických látek (zejména karcinogenních a mutagenních) v důsledku Maillardovy reakce. (De Sa & Rodriguez-Amaya 2003; Ruiz-Rodriguez et al. 2008). Dalším méně vhodným způsobem tepelné úpravy nejen u obilovin, ale také u zeleniny je vaření, kdy dochází ke ztrátě cenných látek rozpustných ve vodě, které přecházejí do vývaru a tím potravina ztrácí nejen na nutriční hodnotě, ale také se chuťově ochuzuje. Výhodnějším se zdá být vaření v páře, kdy si potravina zachovává většinu z původního obsahu minerálních látek a vitamínů a rovněž svou chuť, barvu a soudržnost (Reis et al. 2015). A v neposlední řadě dušení, kdy se pokrm připravuje v uzavřené nádobě s minimálním množstvím tekutiny a tuku, dochází díky přítomnosti tuku k menším ztrátám karotenoidů a vitamínů rozpustných v tucích (Ruiz-Rodriguez et al. 2008).

Dalším způsobem tepelného zpracování kukuřice je nixtamalizace, která se v Latinské Americe často používá k přípravě tortil. Během tohoto procesu je kukuřice (včetně klíčku

a endospermu) vařena a poté namočena do alkalického roztoku vápna (obvykle hydroxidu vápenatého), čímž se napomáhá k oddělení slupky a uvolňují se tak výživné látky (zejména vitamin B₃). Výsledná směs (nixtamal) se poté promyje a rozemele na těsto. Vitamin B₃ se v kukuřici vyskytuje vázaný na jiné bílkoviny, a tak není pro lidské tělo vstřebatelný, nicméně nixtamalizací dojde k jeho uvolnění a zároveň se zvýší obsah vápníku v kukuřici. Nedostatek vitamínu B₃ způsobuje pellagru a běžně se vyskytuje u zemědělců, kteří se živí převážně kukuřicí (například původní obyvatelé Ameriky) (Suri & Tanumihardjo 2016). Co se týče karotenoidů Gutierrez-Uribe et al. (2014) zjistili, že proces nixtamalizace pomohl uvolnit karotenoidy z jader, což vedlo ke 100× vyšším hladinám β-karotenu ve výsledném těstě. Účinek nixtamalizace na celkový obsah nejen karotenoidů, ale dalších významných látek se může lišit a závisí na použitých metodách zpracování (Suri & Tanumihardjo 2016). De La Parra et al. (2007) zjistili, že v těstě zůstala pouze třetina původního obsahu luteinu a zeaxantinu a k dalšímu poklesu došlo zpracováním na tortilly. Naopak Gutierrez-Uribe et al. (2014) zjistili, že proces nixtamalizace přinesl v těstě 10× vyšší obsah luteinu a zeaxantinu. Tento proces výroby je aplikován zatím jen u kukuřice, u které namáčení a následné vaření zlepšuje její stravitelnost a také chuť (Sahai et al. 2001).

Během simulovaného trávení došlo k poklesu celkového obsahu karotenoidů o necelých 40 % ve srovnání se syrovým zrnem. Koncentrace luteinu se pohybovala mezi 0,09–2,1 μg/g (Annie; Citrus) a jeho celkový obsah vzhledem k syrovému zrně poklesl o 37 %. Zeaxantin zůstal stabilnější, jeho obsah poklesl o 32 % a jeho koncentrace se pohybovala od 0,07 μg/g (Annie) do 0,24 μg/g (Citrus). Ve srovnání se syrovým zrnem došlo k nejnižším ztrátám u červenozrnných odrůd (o 34 %), naopak nejvyšší ztráty vykazovaly odrůdy s modrým aleuronem (o 44 %). Naše výsledky můžeme srovnávat s výsledky Rodríguez-Roque (2013), kde cílem výzkumu bylo zhodnotit vliv *in vitro* gastrointestinálního trávení na stabilitu a biologickou dostupnost vitamínu C, fenolických sloučenin a karotenoidů ve směsi ovocných šťáv obsahujících pomeranč, kiwi a ananas. Karoteny se v žaludeční fázi snížily o 49 %, nicméně v našich výsledcích již β-karoten nebyl detekován. U xantofylů došlo k poklesu o 43 %, což je nepatrně více oproti našim výsledkům (37 %). Nejvyšší stabilitu po trávení v žaludku vykazoval lutein (90 %). Většina karotenoidů byla za žaludečních podmínek nestabilní pravděpodobně kvůli oxidačním reakcím. Je známo, že karotenoidy jsou v kyselém prostředí nestálé, protože ve své struktuře obsahují mnoho dvojných vazeb, které jsou náchylné k oxidaci. Dále byla v této studii simulována fáze trávení v tenkém střevu, kdy došlo k poklesu koncentrace karotenoidů o 31–69 % v porovnání s žaludečním trávením. Dále bylo konstatováno, že v této studii bylo trávení ovocných šťáv prováděno bez dietního tuku, který jinak zvyšuje absorpci karotenoidů. Z toho důvodu byly některé karotenoidy pod limitem detekce. Podobně Faulks a Southon (2005) ukázali, že karotenoidy, které byly požitý v potravinové matici byly téměř úplně absorbovány. Pokud byly konzumovány odděleně od jídla, jejich absorpce byla výrazně nižší. Co se týče *in vitro* trávení bohužel doposud nebyly nalezeny studie, zabývající se biologickou dostupností karotenoidů obsažených v pšenici, jejichž výsledky by byly přímo porovnatelné s našimi. Nicméně stabilita během trávicího procesu karotenoidů v různých potravinových maticích byla zkoumána ve studii Alming et al. (2014) na dynamickém modelu *in vitro*, který simuluje trávení v žaludku a tenkém střevě. Bylo zjištěno, že zeaxantin a lutein (xantofyly) byly stabilní po celou dobu trávení, zatímco

lykopen a β -karoten (karoteny) byly stabilní v žaludečních a duodenálních kompartmentech, ale částečně degradovaly v jejunálních a ileálních kompartmentech tenkého střeva, pravděpodobně v důsledku zpožděného uvolňování z matrice a pozdější micelarizaci. Biologická dostupnost je ovlivněna zejména uvolněním z potravinové matrice a solubilizací během trávení nebo například typem sledovaných sloučenin, změn polarity, molekulární hmotností, odlišnými asociacemi s rostlinnou maticí, přítomností v krystalickém nebo amorfním stavu, trávením gastrointestinálními enzymy a podobně (Hof et al. 2000). Ve studii Courraud et al. (2013) byla srovnávána stabilita a biologická dostupnost karotenoidů v čistých formách (čistý roztok β -karotenu) nebo z potravin (mrkvová šťáva a syrový či vařený špenát). Bylo prokázáno, že vitamin A a standardy karotenoidů (čistý roztok β -karotenu) byly nestabilní, zatímco karotenoidy obsažené v potravinách byly obecně lépe chráněny potravinovou maticí (výtěžnost 30 % až 100 % ve srovnání se 7 % až 30 % pro standardy). Bylo zjištěno, že karotenoidy byly náchylné k degradaci a izomerizaci po jejich uvolnění z potravinové matrice, nicméně jejich biologická dostupnost byla dále ovlivněna interakcí s ostatními sloučeninami uvolněnými z matrice a celkovou viskozitou. Například biologická dostupnost β -karotenu je ovlivňována silnou vazbou s pektiny. Proto při posuzování studií biologické dostupnosti *in vitro* musí být vzaty v úvahu chemické reakce (oxidace či redukce), biochemické reakce (interakce enzym/substrát) nebo fyzikální omezení (difúze) v potravě (Alminger et al. 2014). Na biologické dostupnosti karotenoidů a absorpci v gastrointestinálním traktu závisí i jejich antioxidační potenciál. To potvrzuje studie Yu et al. (2013), kde zkoumali antioxidační vlastnosti bílé a celozrnné mouky a jejich upečeného chleba. Výsledky ukázaly, že celozrnná mouka a chléb vykazovaly lepší antioxidační vlastnosti *in vitro*, než bílá mouka a chléb z ní.

Kromě *in vitro* studií zkoumající antioxidační vlastnosti biologicky aktivních látek jsou známy i studie *in vivo* zaměřující se na fenolické kyseliny a karotenoidy. Například ve studii Price et al. (2012) 79 zdravých starších lidí s nadváhou začlenilo do svého obvyklého dietního plánu po dobu 4 týdnů buď celozrnné obilné výrobky bohaté zejména na aleuronovou vrstvu (27 g aleuronu/den) nebo kontrolní výrobky vyvážené na vlákninu a makronutrienty. Krev nalačno byla odebrána na začátku a na konci (29. den). Výsledky ukázaly, že ve srovnání s kontrolní skupinou spotřeba celozrnných produktů bohatých na aleuron poskytla značné množství mikroživin a fytochemikálií, které mohou působit jako antioxidanty. Dále také začlenění těchto produktů do obvyklé stravy bylo spojeno s malou, ale významně nižší koncentrací zánětlivého CRP (C-reaktivní protein) markeru v plazmě nalačno. CRP je nezávislý rizikový faktor pro ischemickou chorobu srdeční, jak v běžné populaci, tak i ve vysoce rizikových skupinách. V této studii bylo pozorováno významné snížení CRP, ale žádné další změny v jiných zánětlivých markerech po konzumování stravy bohaté na aleuron nebyly zaznamenány. Za snížení CRP nemusí být zodpovědná jednotlivá protizánětlivá složka, ale spíše účinky několika potencionálně bioaktivních látek vyskytujících se v aleuronové vrstvě, které mohou působit nezávisle nebo se překrývat a nebo vytvářet interakční mechanismy. Na podporu tohoto tvrzení Gaskins et al. poznamenali, že souvislost mezi příjmem celozrnné stravy a CRP nebyla ovlivněna úpravou žádné specifické živiny vyskytující se v celozrnných výrobcích. Kromě toho bylo prokázáno silné spojení mezi celkovou antioxidační kapacitou stravy a CRP, ale ne s žádnou konkrétní antioxidační sloučeninou. Dále Price et al. (2008) hodnotili celkový obsah fenolických látek a jejich antioxidační potenciál v plazmě a moči u lidí

po konzumaci jediného jídla z nezpracovaných pšeničných otrub nebo cereáliích (konkrétně z mleté bílé rýže). Jejich data ukázala, že fenolické kyseliny pšeničných otrub jsou relativně dobře absorbovány a mohou tak zvýšit antioxidační účinek u konzumentů.

Simulaci trávicího procesu v našem pokusu odolalo až 60 % karotenoidů z původního obsahu v syrovém zrně, což poukazuje na významnou možnost jejich biologické dostupnosti po konzumaci celozrnných výrobků, v našem případě pšeničných. Nicméně biologickou dostupnost karotenoidů ovlivňuje mnoho faktorů a jako nejvýznamnější se zdá být způsob tepelné úpravy, kdy dochází zejména k izomeraci *trans* forem karotenoidů na *cis* formy, které jsou pro tělo biologicky dostupnější. Dále také závisí na technologii tepelného zpracování, teplotě a době jejího působení. V této souvislosti bylo zjištěno, že při našem pokusu karotenoidy více degradovaly právě kvůli zvýšenému působení tepla po dlouhou dobu a volbou méně vhodného způsobu tepelného zpracování. Dospěli jsme k názoru, že k nejnižším ztrátám karotenoidů dochází při dušení, kdy přítomnost malého množství tuku snižuje nejen ztráty karotenoidů, ale také vitaminů rozpustných v tucích (Ruiz-Rodriguez et al. 2008). Množství zachovaných karotenoidů můžeme dále ovlivnit přidáním koření, které vykazuje antioxidační aktivitu. Například přidáním tamarindu indického do vody s vařící se listovou zeleninou můžeme zvýšit zůstatek β -karotenu o 11–16 % nebo přidáním kyseliny citrónové můžeme zvýšit zůstatek β -karotenu u amarantu až o 23 % (Gayathri et al. 2004).

7 Závěr

Tato diplomová práce přinesla nové poznatky, které ukazují schopnost karotenoidů odolat tepelnému zpracování a následně simulovanému trávení. Bylo zjištěno, že karotenoidy zůstaly více než z poloviny (ve srovnání s původním obsahem v syrovém znu) využitelné pro lidský organismus. Tím byla hypotéza, která uvádí, že karotenoidy obsažené v pšeničném znu mají schopnost odolat trávení v lidské trávicím traktu a zůstat nadále využitelná lidským organismem, potvrzena. Co se týče barevných odrůd pšenice, které byly v práci použity, existuje velký potenciál pro jejich cílené šlechtění. Jejich netradiční zbarvení je podmíněno geneticky a je nutná detailní znalost o umístění a složení genů podmiňující tvorbu antokyanů a karotenoidů v zrnech pšenice. Cíleným šlechtěním by se mohl rozšířit trh, který je postaven zejména na pšenici s bílým a červeným zrnem. Karotenoidy a antokyaniny jsou totiž významnou skupinou biologicky aktivních látek s antioxidačními účinky. Budoucí výzkumy by se tak mohly zaměřit na šlechtitelské přístupy, které lze použít k výběru kultivarů s vysokým obsahem karotenoidů a antokyaninů a zároveň nízkou aktivitou oxidačních enzymů. Zdravotní přínosy z konzumace celozrnných obilovin jsou způsobeny přítomností i dalších bioaktivních látek, nicméně k izolaci a charakterizaci těchto látek je nutný další výzkum. Dále by bylo vhodné se zaměřit na problematiku, která je nastíněna v kapitole 3.8.5 a týká se zlaté rýže. Zlatá rýže je velkou nadějí k zabránění akutního nedostatku vitamínu A v rozvojových zemích, nicméně stále existují rozpory v názorech ohledně geneticky modifikovaných potravin, kam zlatá rýže spadá. Stále není jisté, zda tato potravina je zdravotně nezávadná i co se týče dlouhodobého hlediska a očekávají se další výzkumy.

Pšenice a její výrobky jsou zdrojem široké škály tělu prospěšných látek, nicméně jejich biologickou dostupnost ovlivňuje mnoho faktorů, kterým by se mohly výzkumy nadále věnovat a objasnit tak nejlepší způsoby jejího zpracování.

8 Literatura

1. Abdel-Aal ESM, Young JC, Wood PJ, Rabalski I, Hucl P, Falk D, Frégeau-Reid J. 2002. *Cereal Chemistry* **79**(3): 455-457.
2. Abdel-Aal ESM, Young JC, Rabalski I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal Agriculture Food Chemistry* **54**:4696–4704.
3. Ahmad F, Asenstorfer R, Soriano I, Mares DJ. 2013. Effect of temperature on lutein esterification and lutein stability in wheat grain. *Journal of Cereal Science* **58**:408–413.
4. Akhtar H, Zaheer K, Ali R. 2013. Dietary Sources of Lutein and Zeaxanthin Carotenoids and Their Role in Eye Health. *Nutrients* **5**:1169–1185.
5. Alminger M, Aura A, Bohn T, Dufour C, El SN, Gomes A, Santos CN. 2014. In Vitro Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**:413–436.
6. Amorim-Carrilho KT, Cepeda A, Fente C, Regal P. 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* **56**:49–73.
7. Andersson AAM, Andersson R, Piironen V, Lampi A, Nyström L, Gebruers K, Åman P. 2013. Contents of dietary fibre components and their relation to associated bioactive components in whole grain wheat samples from the HEALTHGRAIN diversity screen. *Food Chemistry* **136**:1243–1248.
8. Andersson AAM, Dimberg L, Åman P, Landberg R. 2014. Recent findings on certain bioactive components in whole grain wheat and rye. *Journal of Cereal Science* **59**:294–311.
9. Arab L, Steck S. 2000. Lycopene and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition* **1 – 3**:71.
10. Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) Research Group. 2013. Lutein/zeaxanthin for the treatment of age-related cataract: AREDS2 randomized trial report no. 4. *JAMA Ophthalmol* **131**:843–850.
11. Barker FM, Snodderly DM, Johnson EJ, Schalch W, Koepcke W, Gerss J, Neuringer M. 2011. Effects of lutein, zeaxanthin, and n-3 fatty acids on retinal sensitivity to blue-light-induced damage. *Nutritional manipulation of primate retinas* **52**:3934–3942.
12. Berman J, Zorrilla-López U, Farré G, Zhu C, Sandmann G, Twyman RM, Capell T, Christou P. 2015. Nutritionally important carotenoids as consumer products. *Phytochemistry Reviews* **14**:727-743.
13. Bernstein AM, Titgemeier B, Kirkpatrick K, Golubic M, Roizen MF. 2013. Major Cereal Grain Fibers and Psyllium in Relation to Cardiovascular Health. *Nutrients* **5**:1471–1487.
14. Bernstein PS, Li B, Vachali PP, Gorusupudi A, Shyam R, Henriksen BS, Nolan JM. 2016. Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: the basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Prog. Retin. Eye Res* **50**:34–66.
15. Béliveau, R., & Gingras, D. (2008). *Výživa ako zbraň proti rakovine: potraviny, ktoré pomáhajú v prevencii a liečbe nádorov*. Bratislava: BALNEOTHERMA.
16. Bidigare RR. 2013. Terpenoids As Therapeutic Drugs and Pharmaceutical Agents. *Natural Products: Drug Discovery an Therapeutic Medicine* **9**:197–227.

17. Blandino M, Sovrani V, Marinaccio F, Reyneri A, Rolle L, Giacosa S, Arlorio M. 2013. Nutritional and technological quality of bread enriched with an intermediated pearled wheat fraction. *Food Chemistry* **141**(3):2549–2557.
18. Bone RA, Landrum JT, Mayne ST, Gomez CM, Tibor SE, Twaroska EE. 2001. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: A case-control study **42**:235-240.
19. Borneo R, Edel Leon A. 2011. Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food and Function*: DOI: 10.1039/c1fo10165j.
20. Boukid F, Folloni S, Ranieri R, Vittadini E. 2018. A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in Food Science & Technology* **78**:120–133.
21. Böhm V. 2012. Lycopene and heart health. *Molecular Nutrition Food Research* **56**:296–303.
22. Buer CS, Muday GK, Djordjevic MA. 2007. Flavonoids Are Differentially Taken Up and Transported Long Distances in Arabidopsis. *Plant Physiology* **145**:478–490.
23. Burešová V, Kopecký D, Bartoš J, Martinek P, Watanabe N, Vyhnánek T, Doležel J. 2015. Variation in genome composition of blue-aleurone wheat. *Theoretical and Applied Genetics* **128**:273–282.
24. Cazzonelli CI, Pogson BJ. 2010. Source to sink : regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* **15**(5):266–274.
25. Cepeda A, Fente C, Regal P. 2014. Trends in Analytical Chemistry Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* **56**:49–73.
26. Chen Y, Turgut N, Goad C. 2013. Food Science and Technology Phytochemical composition of extracts from wheat grain fractions obtained by tangential abrasive dehulling. *LWT - Food Science and Technology* **54**(2):353–359.
27. Colgrave ML, Goswami H, Byrne K, Blundell M, Howitt CA, Tanner GJ. 2015. Proteomic profiling of 16 cereal grains and the application of targeted proteomics to detect wheat contamination. *J. Proteome* **14**:2659–2668.
28. Dahl JW, Stewart LM. 2015. Dietetics : Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* **11**:1861–1870.
29. Díaz-Gómez J, Ramos AJ, Zhu C. 2017. Influence of Cooking Conditions on Carotenoid Content and Stability in Porridges Prepared from High-Carotenoid Maize. *Plant Foods and Human Nutrition* **72**:113–119.
30. De La Parra C, Serna Saldivar SO, Liu RH. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *J Agric Food Chem* **55**:4177–4183.
31. Demmig-adams B, Adams WW. 2002. Antioxidants in Photosynthesis and Human Nutrition. *Science* **298**:2149–2153.
32. De Sa MC, Rodrigues-Amaya DB. 2003. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. *Food Chemistry* **83**:595-600.
33. Dobrovolskaya O, Arbuzova VS, Lohwasser U, Roder MS, Borner A. 2006. Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* **150**:355–363.
34. Dona AC, Pages G, Gilbert RG, Kuchel PW. 2010. Digestion of starch: *In vivo* and *in vitro*

- kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. *Carbohydrate Polymers* **80**:599–617.
35. Eenhardt FA.L, Yan BEL, Ock EDR, Oussard ALB, Otus JAP, Hanliaud ELC, Emesy CHR. 2006. Wheat Lipoyxygenase Activity Induces Greater Loss of Carotenoids than Vitamin E during Breadmaking **54**:1710–1715.
 36. Erhardt A, Stahl W, Sies H, Lirussi F, Donner A, Häussinger D. 2011. Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH), *European Journal Medical Research* **16**:76–78.
 37. Eggersdorfer M, Wyss A. 2018. Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **652**:18–26.
 38. Eticha F, Grausgruber H., Siebenhandl-Ehn S, Berghofer E. 2011. Some agronomic and chemical traits of blue aleurone and purple pericarp wheat (*Triticum L.*). *Journal of Agricultural Science an Technology* **1**:48–58.
 39. Etienne-mesmin L, Denis S. 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion **11**:591–600.
 40. Evans LT, Wardlaw IF. 2017. Wheat. Photoassimilate Distribution Plants and Crops Source-Sink Relationships **6**:501–518.
 41. Evans RD. 2019. Human metabolism: pathways and clinical aspects. *Surgery* **37**:302–309.
 42. Farre G, Zhu C, Sandmann G, Twyman RM, Capell T, Christou P. 2015. Nutritionally important carotenoids as consumer products **14**:727–743.
 43. Fernández-garcía E, Carvajal-lérida I, Jarén-galán M, Garrido-fernández J, Pérez-gálvez A, Hornero-méndez D. 2012. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *FRIN* **46**:438–450.
 44. Ficco DBM, De Simone V, De Leonardis AM, Giovannello V, Del Nobile MA, Padalino L, De Vita P. 2016. Use of purple durum wheat to produce naturally functional fresh and dry pasta. *Food Chemistry* **205**:187–195.
 45. Fiedor J, Science AC. 2014. Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients* **6**:466–488.
 46. Filippi A, Petrusa E, Braidot E. 2016. Flavonoid facilitated/passive transport: Characterization of quercetin microsomal uptake by a DPBA-dependent assay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* **18**:57–64
 47. Fones H, Gurr S. 2015. The impact of *Septoria tritici* Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics and Biology* **79**:3–7.
 48. Frangne N, Eggmann T, Koblichke C, Weissenbock G, Martinoia E, Klein M. 2002. Flavone Glucoside Uptake into Barley Mesophyll and Arabidopsis Cell Culture Vacuoles. Energization Occurs by H⁺-Antiport and ATP-Binding Cassette-Type Mechanisms. *Plant Physiology* **128**:726–733.
 49. Fraser PD, Bramley PM. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* **43**:228–265.
 50. Gaskins AJ, Mumford SL, Rovner AJ. 2010 Whole grains are associated with serum concentrations of high sensitivity C-reactive protein among premenopausal women. *Journal Nutrition* **140**:1669–1676
 51. Gayathri GN, Platel K, Prakash J, Srinivasan K. 2003. Influence of antioxidant spices on

- the retention of β -carotene in vegetables during domestic cooking processes **84**:35-43.
52. Goodman BE. 2019. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advances in Physiology Education* **34**:44–53.
 53. Gonzalez-Vallinas M, Gonzalez-Castejon M, Rodriguez-Casado A, Ramirez de Molina A. 2013. Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy: a complementary approach with promising perspectives. *Nutrition Reviews* **71(9)**:585-599
 54. Gurmu F, Hussein S, Laing M. 2014. The potential of orange-fleshed sweet potato to prevent vitamin A deficiency in Africa. *Int. J. Vitam. Nutritional Research* **84**:65–78.
 55. Gutierrez-Uribe JA, Rojas-Garcia C, Garcia-Lara S, Serna-Saldivar SO. 2014. Effects of lime-cooking on carotenoids present in masa and tortillas produced from different types of maize. *Cereal Chem* **91**:508–12.
 56. Harrison EH. 2013. Mechanism involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. *NIH Public Access* **1821**:70–77.
 57. He XY, Zhang YL, He ZH, Wu YP, Xiao YG, Ma CX, Xia XC. 2008. Characterization of phytoene synthase 1 gene (Psy1) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theoretical and Applied Genetics* **116**:213–221.
 58. Hemery Y, Rouau X, Abecassis A. 2007. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality **46**:327–347.
 59. Heng Z, Sheng O, Huang W, Zhang S, Fernie AR. 2019. Integrated proteomic and metabolomic analysis suggests high rates of glycolysis are likely required to support high carotenoid accumulation in banana pulp. *Food Chemistry* **297**.
 60. Hidalgo A, Brandolini A, Pompei C, Piscozzi R. 2006. Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp *monococcum* L.). *Journal of Cereal Science* **44(2)**:182–193.
 61. Hidalgo A, Brandolini A, Pompei C. 2010. Carotenoids evolution during pasta, bread and water biscuit preparation from wheat flours. *Food Chemistry* **121**:746–751.
 62. Hills MJ, Hall LM, Messenger DF, Graf RJ, Beres BL, Eudes F. 2007. Evaluation of crossability between triticale (*Triticosecale* Wittmack) and common wheat. *Environmental Biosafety Research* **6**:249–257.
 63. Hof KH. Van, West CE, Weststrate JA, Hautvast JGAJ. 2000. Recent Advances in Nutritional Sciences Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *The Journal of Nutrition* **14**:503–506.
 64. Howitt CA, Cavanagh CR, Bowerman AF, Cazzanelli C, Rampling L, Mimica JL, Pogson BJ. 2009. Alternative splicing, activation of cryptic exons and amino acid substitutions in carotenoid biosynthetic genes are associated with lutein accumulation in wheat endosperm. *Funct. Integr. Genomics* **9**:363–376.
 65. Hung PV. 2016. Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **56**:25–35.
 66. Ip BC, Liu C, Ausman LM, Lintig J, Wang XD. 2014. Lycopene attenuated hepatic tumorigenesis via differential mechanisms depending on carotenoid cleavage enzyme in mice, *Cancer Preventive Research* **7**:1219–1227.
 67. IWGSC. 2014. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat

- (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345 (6194):1251788.
68. Iwamoto T, Hosoda K, Hirano R, Kurata H, Matsumoto A, Miki W, Kamiyama M, Itakura H, Yamamoto S, Kondo K. 2000. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by astaxanthin. *Journal Atherosclerosis Thrombosis* 7:216–222.
 69. Jahns P, Holzwarth AR. 2012. *Biochemica et Biophysica Acta* The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *BBA - Bioenergetics* 1817:182–193.
 70. Jakobek L, Mati P. 2019. Polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology Non-covalent dietary fiber* 83: 235–247.
 71. Jeandet P, Hébrard C, Deville M-A, Cordelier S, Dorey S, Aziz A, Crouzet J. 2014. Deciphering the Role of Phytoalexins in Plant-Microorganism Interactions and Human Health. *Molecules* 19:18033–18056.
 72. Jenkins DJA, Kendall CWC, McKeown-Eyssen G, Josse RG, Silverberg J, Booth GL. 2008. Effect of a low-glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes: a randomized trial. *The Journal of the American Medical Association* 300(23):2742–2753.
 73. Jeon J, Ryoo N, Hahn T, Walia H, Nakamura Y. 2010. Starch biosynthesis in cereal endosperm. *Plant Physiology et Biochemistry* 48: 383–392.
 74. Johnson EJ, Maras JE, Rasmussen HM, Tucker KL. 2010. Intake of lutein and zeaxanthin differ with age, sex, and ethnicity. *Journal American Diet Association* 110 (9):1357–1362.
 75. Kaur R, Sharma M. 2019. Cereal polysaccharides as sources of functional ingredient for reformulation of meat products. *Journal of Functional Foods* 62: 103527.
 76. Kawakatsu T, Takaiwa F. 2010. Cereal seed storage protein synthesis: fundamental processes for recombinant protein production in cereal grains. *Plant biotechnology Journal* 8: 939–953.
 77. Khlestkina EK. 2013. Genes Determining the coloration of different organs in Wheat. *Russian Journal of Genetics* 3(1): 54–65.
 78. Kruger MJ, Davies N, Myburgh KH, Lecour S, Pandey KB, Rizvi SI, Yu J. 2016. Antioxidant effects of plant phenolic compounds. *American Journal of Clinical Nutrition* 40: 378–386.
 79. Kumar P, Yadava RK, Gollen B, Kumar S, Verma RK, Yadav S. 2017. Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat.
 80. Kumar SB, Prabhasankar P. 2014. Low glycemic index ingredients and modified starches in wheat based food processing. *Trends in Food Science & Technology* 35: 32–41.
 81. La D, Riccardi G, Shewry PR. 2014. Improving cereal grain carbohydrates for diet and health 59:312–326.
 82. Lachman J, Martinek P, Kotikova, Z. 2017. Genetics and Chemistry of Pigments in Wheat Grain. *Journal of Cereal Science* 74:145–154.
 83. Landberg R, Marklund, M, Kamal-eldin A. 2013. An update on alkylresorcinols—Occurrence, bioavailability, bioactivity and utility as biomarkers. *Journal of Functional Foods* 7:77–89.
 84. Landrum JT, Bone RA. 2001. Lutein, zeaxanthin and the macular pigment. *Arch. Biochemistry Biophys* 385:28-40.

85. Lee E, Shin H, Seo J, Nam Y, Lee B. 2018. Effects of raw potato starch on body weight with controlled glucose delivery. *Food Chemistry*. **256**: 367–372.
86. Leenhardt F, Lyan B, Rock E, Boussard A, Potus J, Chanliaud E, Remesy C. 2006. Wheat lipoxygenase activity induces greater loss of carotenoids than vitamin E during breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**(5):1710–1715.
87. Leermakers ET, Darweesh SK, Baena CP, Moreira EM, Melo van Lent D, Tielemans MJ, Muka T, Vitezova A, Chowdhury R, Bramer WM. 2016. The effects of lutein on cardiometabolic health across the life course: a systematic review and meta-analysis, *American Journal Clinical Nutrition* **103**:481–494.
88. Lim J, Pullicin AJ. 2019. Physiology & Behavior Oral carbohydrate sensing: Beyond sweet taste. *Physiology & Behavior* **202**:14–25.
89. Lin J, Lee D, Chang J. 2014. Lutein production from biomass: Marigold flowers versus microalgae. *Bioresource Technology* **184**:421–428.
90. Lintig J. 2012. Provitamin A metabolism and functions in mammalian biology. *Am. Journal Clinical Nutrition* **96**:1234S-1244S.
91. Liu RA. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journals of Cereal Science* **46**: 207–219.
92. Liu RH. 2013. Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet. *Advances in Nutrition* **4**:384–392
93. Liu XH, Yu RB, Liu R, Hao ZX, Han CC, Zhu ZH, Ma L. 2014. Association between lutein and zeaxanthin status and the risk of cataract: a meta-analysis. *Nutrients* **6**:452–465.
94. Longin CFH, Carle R. 2016. Lipophilic antioxidants in wheat (*Triticum* spp.): A target for breeding new varieties for future functional cereal products. *Journal of Functional Foods* **20**:594–605.
95. Lovegrove A, Edwards CH, Noni I. De, Patel HELSN, Grassby T. 2017. Role of polysaccharides in food , digestion , and health. *Critical Rewievs in Food Science and Nutrition* **57**:237– 253.
96. Luthria DL, Liu K. 2013. Localization of phenolic acids and antioxidant activity in sorghum kernels. *Journal of Functional Foods* **5**:1751–1760.
97. Luthria DL, Lu Y, John KMM. 2015. Bioactive phytochemicals in wheat: Extraction, analysis, processing and functional properties. *Journal of Functional Foods* **18**:910–925.
98. Ma W, Yu Z, She M, Zhao Y, Islam S. 2019. Wheat gluten protein and its impacts on wheat processing quality. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering* **6**:279–287.
99. Martinek P, Vyhnánek T, Podhorná J, Novotná P, Vaculová K, Kadlíková M, Jirsa O, Kurečka R. 2011. Pšenice s odlišným zbarvením zrna a možnost jejich využití v potravinářství. *Úroda* **12**:117–123.
100. Mellado-Ortega E, Atienza SG. 2015. Carotenoid evolution during postharvest storage of durum wheat (*Triticum turgidum* conv. *durum*) and tritordeum (*Triticum turgidum* conv. *tritordeum* Ascherson et Graebner) grains. *Journal of Cereal Science* DOI: 10.1016/j.jcs.2015.01.006.
101. Mellado-Ortega E, Hornero-méndez D. 2016. Carotenoid evolution during short-storage period of durum wheat (*Triticum turgidum* conv. *durum*) and tritordeum (*Triticum turgidum* conv. *tritordeum* Ascherson et Graebner) whole-grain flours. *Food Chemistry* **192**:714–723.
102. Mellado-Ortega E, Hornero-méndez D. 2017. Effect of long-term storage on the free and

- esteri fi ed carotenoids in durum wheat (*Triticum turgidum* conv.durum) and tritordeum (*Tritordeum* Ascherson et Graebner) grains **99**:877–890.
103. Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, Bolhassani A. 2017. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *Br. J. Pharmacol* **174**:1290–1324.
 104. Minekus M, Alming M, Alvito S, Ballance T, Bohn C, Bourlieu F, Carriere R, Boutrou M, Corredig D, Dupont C, Dufour L, Egger M, Golding S, Karakaya B, Kirkhus S, Le Feunteun U, Lesmes A, Macierzanka A, Mackie S, Marze DJ, McClements O, Menard I, Recio CN, Santos R. P. Singh GE, Vegarud MSJ, Wickham W, Weitschies A, Brodkorb E. 2014. Function suitable for food—an international consensus **5**:1113–1124.
 105. Montonen J, Boeing H, Fritsche A. 2013. Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *European Journal of Nutrition* **52**:337–345.
 106. Müller L, Caris-Veyrat C, Lowe G, Böhm V. 2016. Lycopene and its antioxidant role in the prevention of cardiovascular diseases—a critical review. *Critical Review of Food Science Nutrition* **56**:1868–1879.
 107. Nagao A. 2014. Bioavailability of Dietary Carotenoids: Intestinal Absorption and Metabolism **48**:385–391.
 108. Nayak B, De Berrios J, Tang J. 2014. Impact of food processing on the glycemic index (GI) of potato products. *Food Research International* **56**:35–46.
 109. Nisar N, Li L, Lu S, Khin NC, Pogson BJ. 2014. Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant* **8**:68–82.
 110. O’Neil C, Nicklas AT, Zhanovc M, Cho S. 2010. Whole-Grain consumption is associated with diet quality and nutrient intake in adults: The national health and nutrition examination survey. *Journal of the American Dietetic Association* **110**:1461–1468
 111. Ötles S, Çagindi Ö. 2008. Food colorants Chemical and functional properties. CRC Press. Boca Raton, 51–70.
 112. Pankratov I, Mcquinn R, Schwartz J, Bar E, Fei Z, Lewinsohn E, Zamir D. 2016. Fruit carotenoid-deficient mutants in tomato reveal a function of the plastidial isopentenyl diphosphate dase (IDI1) in carotenoid biosynthesis. *The Plant Journal* **88**:82–94.
 113. Paznocht L, Kotíková Z, Orsák M, Lachman J, Martinek P. 2019. Carotenoid changes of colored-grain wheat flours during bun-making. *Food Chemistry* **277**:725–734.
 114. Pawlak-Sprada S, Stobiecki M, Deckert J. 2011. Activation of phenylpropanoid pathway in legume plants exposed to heavy metals. Part ii. Profiling of isoflavonoids and their glycoconjugates induced in roots of lupine (*Lupinus luteus*) seedlings treated with cadmium and lead. *Acta Biochimica Polonica* **58**:217–223.
 115. Perera CO, Yen GM, Perera CO, Yen GM. 2007. Functional Properties of Carotenoids in Human Health **10**:201–230.
 116. Poli A, Marangoni F, Paoletti R, Mannarino E, Lupattelli G, Notarbartolo A, Zambon A. 2008. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular diseases* **18**:S1–S16.
 117. Pozniak CJ, Knox RE, Clarke FR, Clarke JM. 2007. Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* **114**:525–537.

118. Price RK, Welch RW, Lee-Manion AM, Bradbury I, Strain JJ. 2008. Total phenolics and antioxidant potential in plasma and urine of humans after consumption of wheat bran. *Cereal Chemistry* **85**(2):152–157.
119. Price RK, Wallace JMW, Hamill LL, Keaveney EM, Strain JJ, Parker MJ, Welch RW. 2012. Evaluation of the effect of wheat aleurone-rich foods on markers of antioxidant status, inflammation and endothelial function in apparently healthy men and women. *British Journal of Nutrition* **108**(9):1644–1651.
120. Prückler M, Siebenhandlehn S, Apprich S, Höltinger S, Haas C, Schmid E, Kneifel W. 2014. Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *LWT - Food Science and Technology* **56**:211–221.
121. Qualset CO, Soliman KM, Jan CC, Dvorak J, McGuire PE, Vogt HE. 2005. Registration of UC66049 *Triticum aestivum* blue aleurone genetic stock. *Crop Sci* **45**:432.
122. Raaman N. 2006. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency, New Delhi, India.
123. Reboul E. 2019. Mechanisms of Carotenoid Intestinal Absorption. **11**:838.
124. Rodríguez-Amaya DB. 2001. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, USA: ILSI (International Life Sciences Institute) Press.
125. Rodríguez-Roque MJ, Rojas-Grau M, Elez-Martínez P, Martín-Belloso O. 2013. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**: 1859–1867.
126. Rodríguez-Suárez C, Mellad-Ortega E, Hornedo-Méndez D, Atienza SG. 2014. Increase in transcript accumulation of *Psy1* and *e-Lcy* genes in grain development is associated with differences in seed carotenoid content between durum wheat and tritordeum. *Plant Molecular Biology* **84**:659–673.
127. Rowles JL, Ranard KM, Smith JW, An R, Erdman JW. 2017. Increased dietary and circulating lycopene are associated with reduced prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Disease* **20**:361–377,
128. Ruiz-Rodríguez A, Marín RF, Ocana A, Soler-Rivas C. 2008. *Phytochemical Review* **7**:345-384.
129. Sahai D, Buendia MO, Jackson DS. 2001. *Cereal Chemistry* **78**(1):14-18.
130. Sarwar MH, Sarwar MF, Sarwar M, Qadri NA, Moghal S. 2013. The importance of cereals (Poaceae: Gramineae) nutrition in human health. *Academic Journal* **4**:32–35. <https://doi.org/10.5897/JCO12.023>
131. Seo C, Yi B, Oh S, Kwon S, Kim S, Song N, Won K. 2015. Aqueous extracts of hulled barley containing coumaric acid and ferulic acid inhibit adipogenesis in vitro and obesity in vivo. *Journal of Functional Foods* **12**:208–218.
132. Shewry PR, Hawkesford MJ, Piironen V, Lampi A, Gebruers K, Boros D, Ward JL. 2013. *Natural Variation in Grain Composition of Wheat and Related Cereals*. ACS Publications **35**:8295–8303.
133. Shi X, Ling H. 2017. Current advances in genome sequencing of common wheat and its ancestral species. *The Crop Journal* **6**:15–21.
134. Singh K, Ghai M, Garg M, Chhuneja P, Kaur P, Schnurbusch T, Keller B, Dhaliwal HS. 2007. An integrated molecular linkage map of diploid wheat based on a *Triticum boeoticum*, *T. monococcum* RIL population. *Theoretical and Applied Genetics* **115**:301–

312.

135. Singh P, Goyal GK. 2008. Lycopene: Its Anticarcinogenic Effects **7**:255–270.
136. Song J, Liu C, Li D, Meng L. 2013. Effect of Cooking Methods on Total Phenolic and Carotenoid Amounts and DPPH Radical Scavenging Activity of Fresh and Frozen Sweet Corn (*Zea mays*) Kernels **31**:607–612.
137. Sramkova Z, Agricultural N. 2008. *Chemical composition and nutritional quality of wheat grain*. Acta Chimica Slovaca. **2**: 115–138.
138. Stracke BA, Eitel J, Watzl B, Mader P, Rufer CE. 2009. Influence of the production method of phytochemical concentrations in whole wheat (*Triticum aestivum* L.): A comparative study. Journal Agricultural Food Chemistry **57**:10116–10121.
139. Sun T, Yuan H, Cao H, Yazdani M, Tadmor Y, Li L. 2017. Carotenoid Metabolism in Plants : The Role of Plastids. Molecular Plant **8**:58–74.
140. Suri DJ, Tanumihardjo SA. 2016. Effects of Different Processing Methods on the Micronutrient and Phytochemical Contents of Maize : From A to Z. Institute of Food Technologists DOI: 10.1111/1541-4337.12216
141. Syed Jaafar SN, Baron J, Siebenhand-Ehn S, Rosenau T, Bohmdorfer S, Grausgruber H. 2013. Increased anthocyanin content in purple pericarp, blue aleurone wheat crosses. Plant Breed **132**:546–552.
142. Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. 2012. Cancer chemoprevention by carotenoids. Molecules **17**:3202–3242.
143. Tereshchenko OY, Gordeeva EI, Arbuzova VS, Borner A, Khlestkina EK. 2012. The D Genome Carries a Gene Determining Purple Grain Colour in Wheat. Cereal Research Communications **40(3)**:334–341.
144. Tighe P, Duthie G, Vaughan N, Brittenden J, Simpson GW, Duthie S, Mutch W, Wahle K, Horgan G, Thies F. 2010. Effect of increased consumption of whole-grain foods on blood pressure and other cardiovascular risk markers in healthy middle-aged persons: a randomized controlled trial. The American Journal of Clinical Nutrition **92**:733–740.
145. Trojan V. 2014. Vyhledávání a charakteristika genů zodpovědných za purpurové zbarvení obiliek pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). [DSc. Thesis]. MZLU v Brně. Brno.
146. Tucker AJ, Vandermeij JS, Robinson LE, Graham TE, Bakovic M, Duncan AM 2013. Effects of breads of varying carbohydrate quality on postprandial glycaemic, incretin and lipidaemic response after first and second meals in adults with diet-controlled type 2 diabetes. Journal of Functional Foods **6**:116–125.
147. Umlauf D, Zapp J, Becker H, Adam KP. 2004. Biosynthesis of the Irregular Monoterpene Artemisia Ketone, the Sesquiterpene Germacrene D and Other Isoprenoids in *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae). Phytochemistry **65**:2463–2470.
148. Villegas M, Sommarin M, Brodelius PE. 2000. Effects of sodium orthovanadate on benzophenanthridine alkaloid formation and distribution in cell suspension cultures of *Eschscholtzia californica*. Plant Physiology and Biochemistry **38**:233–241.
149. Wang G, Tang W, Bidigare RR, Zhang L, Demain AL. 2005. Natural Products Drug Discovery and Therapeutic Medicine Terpenoids As Therapeutic Drugs As Pharmaceutical Agents. Humana Press, New Jersey, United States of Amerika.
150. World Health Organization. 2017. The world health report. Available from

[//www.who.int/whr/2002/en/](http://www.who.int/whr/2002/en/) (accessed date: October 2017)

151. Yang J, Martínez I, Walter J, Keshavarzian A, Rose DJ. 2013. Anaerobe In vitro characterization of the impact of selected dietary fibers on fecal microbiota composition and short chain fatty acid production. *Anaerobe* **23**:74–81.
152. Ye Y, Ding Y, Jiang Q, Wang F, Sun J, Zhu C. 2017. The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants. *Plant Cell Reports* **36**:235–242.
153. Yoshida H, Yanai H, Ito K, Tomono Y, Koikeda T, Tsukahara H, Tada N. 2010. Administration of natural astaxanthin increases serum HDL-cholesterol and adiponectin in subjects with mild hyperlipidemia Atherosclerosis **209**:520–523.
154. Yu L, Nanguet AL, Beta T. 2013. Comparison of antioxidant properties of refined and whole wheat flour and bread. *Antioxidant* **2**(4):370–383.
155. Yu X, Li B, Wang L, Chen X, Wang W, Wang Z. 2015. Systematic analysis of pericarp starch accumulation and degradation during wheat caryopsis development. *PLoS One* **10**(9):e0138228.
156. Yue W, Nie X, Cui L, Zhi Y, Zhang T, Du X. 2018. Genome-wide sequence and expressional analysis of autophagy Gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Physiology* **229**:7–21.
157. Zhai SN, Xia XC, He ZH. 2016. Carotenoids in Staple Cereals: Metabolism, Regulation and Genetic Manipulation. *Frontiers in Plant Science* **7**:1197.
158. Ziegler JU, Wahl S, Würschum T, Longin CFH, Carle R, Schweiggert RM. 2015. Lutein and Lutein Esters in Whole Grain Flours Made from 75 Genotypes of 5 *Triticum* Species Grown at Multiple Sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:5061-5071.
159. Žilic S, Serpen A, Akillioglu G, Jankovic' M, Gökmen V. 2012. Distribution of phenolic compounds, yellow pigments and oxidative enzymes in wheat grains and their relation to antioxidant capacity of bran and debranned flour. *Journal of Cereal Science* **56**:652–658.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

ANOVA – analýza rozptylu (analysis of variance)
AREDS – (Age-related eye disease study)
BHT – butylovaný hydroxytoluen
CRP – C-reaktivní protein
CRTISO – karotenoidová izomeráza
DMAPP – dimetylalyl difosfát
DNA – deoxyribonukleová kyselina
EU – Evropská unie
FAO – Organizace pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization)
GA3P – glyceraldehyd-3-fosfát
GGPP – geranylgeranyl difosfát
HDL – vysokodenzitní lipoprotein (high density lipoprotein)
HPLC – vysokoúčinná kapaliová chromatografie (high performance liquid chromatography)
HPLC-DAD – high performance liquid chromatography with a diode-array detector
IPP – izopentyl difosfát
LDL – nízkodenzitní lipoprotein (low density lipoprotein)
LOX – lipoxygenázový enzym
MEP – metylerytritol-4-fosfátu
p.a. – pro analýzu
PDS – fytoenovou desaturasou
POX – peroxidázový enzym
PSY – syntázy fytoén
Rcf – relativní centrifugační síla
SGF – žaludeční roztok (simulated gastric fluid)
SSF – orální roztok (simulated salivary fluid)
SIF – roztok simulované střevní šťávy (simulated intestinal fluid)
USA – Spojené státy americké
UV záření – ultrafialové záření
WHO – Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
ZDS – z-karotenovou desaturasou
Z-ISO – z-karotenovou izomerázou

10 Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1: Stavba obilného zrna	3
Obrázek 2: Polyploidizace genomů pšenice	7
Obrázek 3: Geny a jejich umístění zodpovědné za zbarvení zrn hexaploidní pšenice ...	8
Obrázek 4: Barevná zrna vybraných genotypů pšenice	10
Obrázek 5: Chemická struktura škrobu	11
Obrázek 6: Rozdělení fytochemikálií	13
Obrázek 7: Ferulová kyselina	14
Obrázek 8: Chemická struktura izoprenu	15
Obrázek 9: Typy spojení izoprenů	15
Obrázek 10: Chemická struktura geranylgeranyl difosfátu	16
Obrázek 11: Sedm rozdílných koncových skupin u karotenoidů	Error! Bookmark not defined.
Obrázek 12: Struktura β -karotenu	17
Obrázek 13: Struktura lykopenu	17
Obrázek 14: Struktura luteinu	18
Obrázek 15: Biosyntéza karotenoidů	23
Obrázek 16: <i>Trans</i> a <i>cis</i> formy luteinu	24
Obrázek 17: Anatomie a fyziologie trávicí soustavy	25
Obrázek 18: Konverze provitaminu A na vitamín A centrálním štěpením	26
Obrázek 19: Průměrné složení spektra karotenoidů syrového pšeničného zrna	33
Obrázek 20: Chromatogram odrůdy pšenice Konini	34
Obrázek 21: Průměrné složení karotenoidů ve vařeném pšeničném zrně	35
Obrázek 22: Průměrné složení spektra karotenoidů v trávěnině	35
Tabulka 1: Látkové složení v jednotlivých částech obilného zrna	4
Tabulka 2: Osevní plochy, celková sklizeň a výnos	6
Tabulka 3: Popis odrůd a genotypů pšenice chleba (<i>Triticum aestivum</i> L.)	28
Tabulka 4: Příprava SSF, SGF a SIF	29
Tabulka 5: Podmínky chromatografické separace pro měření vzorků	31
Tabulka 6: Obsah karotenoidů ($\mu\text{g/g}$) sušiny v syrovém, vařeném a tráveném zrně	36