

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Pšenice s barevným zrnem – obsahové látky**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Patrik Kosztolányi**

**Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.**

© 2022 ČZU v Praze



### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Pšenice s barevným zrnem – obsahové látky" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval doktoru Matiašovi Orsákovi a nejbližšímu okolí.

## **Pšenice s barevným zrnem – obsahové látky**

### **Souhrn**

Tato rešeršní bakalářská práce se zabývá analýzou odrůd modré a purpurové pšenice z hlediska obsahových látek a změnch jejich obsahu při zpracování. Důraz byl kladen zejména na obsah fenolových kyselin, karotenoidů a flavonoidů, hlavně pak anthokyanů.

První část této bakalářské práce pojednává o pšenici jako takové. Zabývá se morfologickou stavbou zrna a jejím chemickým složením s důrazem na sacharidy, bílkoviny, lipidy, minerální látky a vitaminy.

V další části práce autor pojednává o odrůdách pšenice, na které se tato práce zaměřuje a v dalších kapitolách porovnává obsah specifických látek v nich, konkrétně fenolových kyselin, flavonoidů a karotenoidů. Dále pak se tato práce zaměřuje na způsoby zpracování zrna pšenice a jejich vlivu na obsah zmíněných látek v dané odrůdě pšenice. V této kapitole byly probrány procesy mletí, výroby chleba, výroby těstovin a nudlí a dalších potravin.

V poslední části pojednává o druhů stanovení oněch obsahových látek. Zmíněny jsou HPLC, UV/VIC spektrofotometrie a spektrofotometrická PH-diferenciální metoda.

**Klíčová slova:** anthokyan; kynutí; mletí; modrý aleuron; pečení

# **Wheat with coloured grains - substance content**

## **Summary**

This research bachelor thesis deals with the analysis of blue and purple wheat varieties in terms of their content and changes in their content during processing. Emphasis was placed in particular on the content of phenolic acids, carotenoids and flavonoids, especially anthocyanins. The first part of this thesis deals with wheat as such. It deals with the morphological structure of the grain and its chemical composition with emphasis on carbohydrates, proteins, lipids, minerals and vitamins.

In the next part of the thesis, the author discusses the wheat varieties on which this thesis focuses and in the following chapters compares the content of specific substances in them, namely phenolic acids, flavonoids and carotenoids. Furthermore, the thesis focuses on the processing methods of wheat grain and their influence on the content of the above-mentioned substances in the wheat variety. In this chapter, the processes of milling, bread making, pasta and noodle making and other foodstuffs are discussed.

The last section deals with the types of determination of these contents. HPLC, UV/VIC spectrophotometry and the spectrophotometric PH-differential method are mentioned.

**Keywords:** anthocyanins; leavening; milling; blue aleurone; baking

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>10</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Pšenice .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2 Stavba a složení zrna.....</b>	<b>11</b>
3.2.1 Morfologická stavba .....	11
3.2.2 Chemické složení .....	12
3.2.2.1 Sacharidy .....	12
3.2.2.2 Bílkoviny .....	13
3.2.2.3 Lipidy .....	14
3.2.2.4 Minerální látky a vitamíny .....	14
<b>3.3 Druhy pšenice s barevným zrnem .....</b>	<b>15</b>
3.3.1 Modrá pšenice .....	15
3.3.2 Purpurová pšenice .....	16
<b>3.4 Obsahové látky .....</b>	<b>16</b>
3.4.1 Fenolové kyseliny .....	16
3.4.2 Flavonoidy .....	16
3.4.2.1 Anthokyany .....	17
3.4.3 Karotenoidy .....	18
<b>3.5 Způsoby zpracování zrna .....</b>	<b>19</b>
3.5.1 Mletí .....	19
3.5.2 Výroba chleba .....	20
3.5.3 Výroba těstovin a nudlí .....	21
3.5.4 Výroba dalších potravin .....	21
<b>3.6 Druhy stanovení obsahových látek .....</b>	<b>23</b>
3.6.1 HPLC .....	23
3.6.1.1 LC-MS.....	23
3.6.2 UV/VIS spektrofotometrie.....	24
3.6.3 Spektrofotometrická PH-diferenciální metoda .....	24
<b>4 Závěr .....</b>	<b>25</b>
<b>5 Literatura.....</b>	<b>26</b>
<b>6 Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
<b>7 Samostatné přílohy .....</b>	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>





# 1 Úvod

Pšenice (*Triticum aestivum*), obilnina, patří mezi čeled' *Poaceae* a zaujímá významné místo mezi všemi potravinami. Předpokládá se, že vznikla kultivováním asi před 10 000 lety jako součást „Neolitická revoluce“, která zahrnovala přechod od lovu a sběru potravy k usdlému zemědělství (Shewry 2018). V dnešní době se běžně pěstují odrůdy pšenice jantarové barvy, ale barevná pšenice bohatá na antokyany a další fytochemikálie jsou po celém světě populární kvůli souvisejícím zdravotním výhodám. Purpurová pšenice vznikla v 19. století, zatímco modrá pšenice byla vyvinuta v první polovině 20. století mezidruhovým křížením *Triticum aestivum* s různými divokými druhy pšenice: *Thinopyrum ponticum*, *Triticum monococcum* L. spp. *aegilopoides* a *Th. Bessarabicum* (Zeven 1991; Morrison et al. 2004; Burešová et al. 2015).

Trendem moderní doby ve výživě je zvyšování nutričních hodnot potravin. Konzumenti nalézají oblibu například v celozrnném pečivu a v dalších výrobcích s příznivými vlivy na organismus. Pšenice s purpurovým perikarpem a pšenice s modrým aleuronem představují velký potenciál pro výrobu pečiva. Celozrnná mouka vyrobená z těchto odrůd obsahuje vysoký obsah vitamínů, minerálních látek, antokyanů a dalších látek s antioxidační aktivitou. Tyto látky se zejména nacházejí v obalových vrstvách. Na základě těchto skutečností se předpokládá, že zařazení těchto druhů pšenice do výživy by mohlo mít velmi kladný vliv na zdraví člověka (Li et al. 2015).

## **2 Cíl práce**

Téma práce je zaměřeno na stanovení významných látek v barevných (purpurových, modrých a fialových) zrnech pšenice a jejich změny vlivem technologického zpracování.

## **3 Literární rešerše**

### **3.1 Pšenice**

Pšenice (*Triticum*) patří do rostlin z čeledi *Poaceae*. Stéblo se od báze směrem ke klasu zužuje a je duté. Je rozděleno kolénky zpravidla na pět článků. Listy jsou přisedlé, skládají se z listové čepele a pochvy, která objímá stéblo. Na přechodu pochvy a čepele se nachází jazýček, při něm po stranách pochvy je pár oušek. Jazýček je krátký a po okraji vroubkovaný. Ouška jsou malá a často řídce obrvená nebo holá (Zimolka 2005). Pšenice může mít klasy jak osinaté, tak bezosinaté (Bulková 2011). Klasy jsou 1-2, ale také 5-7 květé, z toho z pravidla 1-4 kvítky jsou plodné (Petr a kol. 1997).

Pšenici můžeme dělit podle doby sklizně na pšenici ozimou a jarní (Bulková 2011).

### **3.2 Stavba a složení zrna**

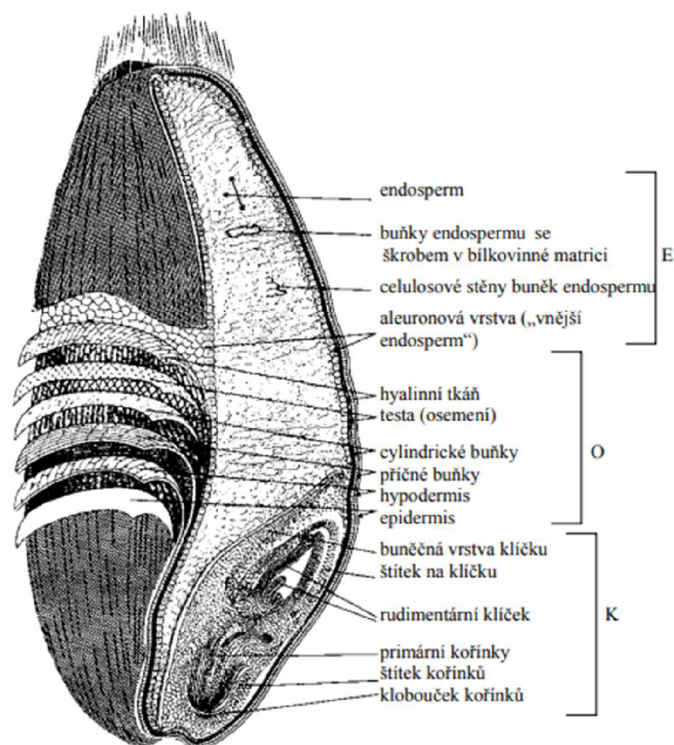
#### **3.2.1 Morfologická stavba**

Zrna pšenice jsou nahá o přibližné délce 5-8 mm a šířce 2,5-4,5 mm (Příhoda 2006).

Nejvrchnější vrstvy zrna nazýváme oplodí. Jejich úkolem je zrno chránit před mechanickým poškozením, krátkodobými účinky vody a chemických látek. Jsou tvořeny nerozpustnými a těžko bobtnajícími materiály (Příhoda 2006). Další vrstvou je osemení, to obsahuje barviva určující vnější barevný vzhled zrna. Je tvořeno vrstvou barevnou a skelnou (Bulková 2011).

Mezi obalovými vrstvami a endospermem se nachází měkkí jednoduchá vrstva, aleuronová vrstva, se někdy také označuje jako vnější endosperm (Příhoda 2006). Samotný endosperm tvoří až 86 % hmotnosti obilky (Bulková 2011). Buňky endospermu jsou vyplněny škrobem. Škrobová zrna jsou různé velikosti a čočkovitého tvaru (Zimolka 2005).

Klíček, zárodek zabývá nejmenší část obilky, u pšenice 3 %. Je nutný pro vznik nové rostliny (Bulková 2011). Velmi rychle ale podléhá oxidační a enzymatickým změnám, proto je vždy před mlýnským zpracováním zrna odstraněn (Příhoda 2006). Pokud je déle zpracován pro potravinářské účely, musí se přítomné enzymy rychle inhibovat (Bulková 2011).



Obrázek 1: Podélný řez pšeničným zrnem se znázorněním jeho morfologických vrstev (upraveno podle Hosney R.C. 1984). vrstva přicházející při mletí do otrub označena O, do mouky označena E, odstraňované s klíčkem K. Převzato a upraveno od Hosney (1984).

### 3.2.2 Chemické složení

#### 3.2.2.1 Sacharidy

Sacharidy jsou nejdůležitější skupinu zásobních látek (Bulková 2011). Nachází se v obilce ve formě cukrů, dextrinů, škrobů, hemicelulóz a celulózy (Pelikán 1996). Obsahy jednotlivých typů sacharidů v různých částech zrna se velmi liší (Příhoda 2005).

#### Cukry

Nacházejí se v obilném znu v klíčku a v periferních vrstvách endospermu ve formě pentóz a hexóz. Z hexóz je to hlavně glukóza, která je základem pro tvorbu škrobu a celulózy. V pšeničném znu se nachází ve velmi malém množství, avšak ve větší míře je v těstě, v němž vzniká enzymatickým rozkladem maltózy a sacharózy (Bulková 2011). V znu se také jen

v nepatrném množství obsažená fruktóza (Pelikán 1996). Dále pšeničné zrno v malém množství obsahuje disacharidy sacharózu, kterou má k dispozici klíčící zrno, a maltózu.

#### Polysacharidy

Škrob je nejdůležitější složka obilného zrna. Na stavu škrobu a aktivitě amyláz závisí jakost chleba a pečiva (Pelikán 1996). Zaujímá největší část zrna, v pšenici až 76 %, je tvořen převážně amylozou a amylopektinem. Amylóza je nevětvený polymer, jenž se skládá z dlouhých glukózových jednotek (200 až 1000). Amylopektin je složen ze 40 až 70 krátkých řetězců alfa-D-glukózových jednotek (Bulková 2011).

Hemicelulózy jsou zastoupeny hlavně v buněčných stěnách, kde fungují jako opěrné pletivo i zásobní látka, která se při klíčení rozkládá na jednodušší cukry (Pelikán 1996).

Celulóza se podobně jako škrob skládá z polymerů tvořených řetězci glukózových jednotek, které jsou ale spojeny vazbou  $\beta$ -1,4 (Příhoda 2005). Je hlavní součástí obalů a buněčných stěn (Pelikán 1996). Její význam pro lidskou výživu byl prokázán relativně nedávno. Je základem vlákniny, která je důležitou součástí potravy působící preventivně proti cévním chorobám a některým nádorovým onemocněním. V souvislosti s tím je v poslední době kladen důraz na konzumaci celozrnných obilných výrobků (Příhoda 2005). Avšak z hlediska pečivosti celulóza zhoršuje jakosti mouky a způsobuje její tmavou barvu (Bulková 2011).

Pentozany jsou polysacharidy tvořené pentózami. Jsou to slizovité bobtnavé látky o různém stupni polymerace (Bulková 2011). Jsou extrémně hydrofilní a vážou na sebe velké množství vody v těstě. Tato voda se v peci uvolní, zůstává ve střídě a je použita pro mazování škrobu a bobtnání nerozpustných pentozanů pro tvorbu gelovité struktury střídy chleba (Pelikán 1996).

#### 3.2.2.2 Bílkoviny

Bílkoviny jsou v obilce nestejně rozloženy. Nejvíce bílkovin obsahuje klíček (34 %) a aleuronová vrstva (32 %). Biologická hodnota bílkovin u obilovin je nižší, protože mají nedostatečné množství lyzinu, histidinu, methioninu, treoninu a tryptofanu (Bulková 2011).

Albuminy a globuliny jsou protoplasmatické bílkoviny, jde o bílkoviny katalytické, enzymaticky aktivní a stavební. Jejich obsah u pšenice tvoří 10-15 % a je málo závislý na vnějších podmínkách. Albuminy jsou rozpustné ve vodě a zahřátím koagulují, globuliny jsou rozpustné v roztocích neutrálních solí, částečně koagulují za varu a mají vyšší molekulární hmotnost než albuminy (Pelikán 1996).

Prolaminy jsou hlavními zásobními bílkovinami obilovin. Prolaminy a gluteliny určují nutriční a technologickou hodnotu finálního výrobku, neboť tvoří jeho podstatnou část (Bulková 2011). Frakce prolaminová je rozpustná v 70% alkoholu, je značně heterogenní a skládá se z mnoha složek ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\omega$ ), v pšenici jde o gliadin. Frakce glutelinová je rozpustná v roztocích slabých kyselin a zásad. Je tvořena směsí bílkovinných podjednotek, kde se uplatňují vodíkové a zejména disulfidické vazby, čímž se dosahuje vysokých molekulových hmotností (Pelikán 1996). Nejdůležitější vlastností zásobních bílkovin pšenice je tvorba lepku. 70–80 % lepku je tvořeno bílkovinami nerozpustnými ve vodě, gliadinem a gluteinem. Gliadin způsobuje tažnost těsta, glutein jeho pružnost a bobtnavost (Bulková 2011).

### 3.2.2.3 Lipidy

Obilná zrna jsou na lipidy poměrně chudá. Vyšší výskyt tuků je patrný v klíčcích. Hmotnostní podíl klíčku představuje přibližně 2,54 % z celého zrna, ale podíl lipidů v něm obsažených je přibližně 64 %. Oproti tomu v endospermu, který tvoří více než 80 % zrna, jsou obsažena asi 3,3 % lipidů. Obsah ve světlé mouce se proto v průměru pohybuje kolem 1,5 %, v tmavších moukách přibližně do 2 % (Příhoda 2005).

### 3.2.2.4 Minerální látky a vitamíny

Minerální látky, nazývané také popeloviny, jejich obsah je v obilninách 1,5 až 3 %. Nejvíce minerálních látek je obsaženo v klíčku a aleuronové vrstvě. Nejméně ve střední části endospermu, k jeho okrajovým vrstvám se jejich množství zvyšuje. Z minerálních látek převládají draslík, fosfor, a hořčík, ze stopových prvků brom, hliník, jód, mangan, měď, nikl, kobalt, zinek a železo. (Bulková 2011)

Obecně je endosperm obilovin na vitamíny chudý. Vitamíny se nacházejí v jiných anatomických částech, zejména v obalových vrstvách a klíčku v podstatně větším množství. Obiloviny jsou zdrojem vitamínů skupiny B. Vitamín B<sub>1</sub> (thiamin) a B<sub>2</sub> (riboflavin) se vyskytují v obalových vrstvách a klíčku. Ve světlých moukách zbývá podle stupně vymletí pouze 10–20 % vitamínů skupiny B. V tmavých moukách může být zachováno až 40 % původního obsahu. Dále se také v pšenici nachází kyselina nikotinová a nikotinamid. Z lipofilních vitamínů je v pšenici přítomný vitamín E (tokofenol), který se ve velké koncentraci nachází v klíčku pšeničného zrna. (Příhoda 2011).

### 3.3 Druhy pšenice s barevným zrnem

Barevná škála většiny obilných zrn je v souladu se „Zákonem homologní řady v dědičné variabilitě“, který v roce 1920 formuloval N. I. Vavilov. Uvádí, že druhy a rody, které jsou geneticky blízké příbuzné, se obvykle vyznačují podobnou řadou genetické variability. Podobná škála barev zrna jako u pšenice tedy existuje u žita, tritikale, ječmene, ovesa, rýže, kukuřice (Lachman et al. 2017). U pšenice se vyskytují variace, žlutá, červená, modrá, purpurová a černá. To to zbarvení způsobují fytochemikálie, jako jsou anthokyany, karotenoidy, flavonoidy a některé fenolické sloučeniny (fenolické látky) (Saini et al. 2020). Žluté zbarvení je způsobeno karotenoidy obsaženými v endospermu pšenice (Paznocht et al. 2019). Červený pigment obalu zrna se skládá z katechinu a proanthokyanidinu (PA), které jsou syntetizovány biosyntetickou cestou flavonoidů (Himi et al., 2011). Modré, purpurové a černé zbarvení je způsobeno obsahem anthokyanů, u purpurové jsou obsaženy v perikarpu, u modré v aleuronové vrstvě a černá variace je kombinací modré a purpurové (Abdel-Aal et al., 2006).

#### 3.3.1 Modrá pšenice

Modrá barva zrna je způsobena anthokyany v aleuronové vrstvě (Garg et al. 2016). Tato barva zrna je určena geny pro modrý aleuron Ba (Martinek et al. 2014). Byly identifikovány tři geny podílející se na regulaci exprese modrého zbarvení aleuronu v pšenici. Pocházejí z různých druhů: Ba1 (syn. Ba(b)) je dominantní gen pocházející z *Thinopyrum ponticum*, byl fyzicky zmapován v oblasti 0,71–0,8 dlouhého ramene 4Ag od centromery, Ba2 (syn. Ba(a)) je neúplně dominantní gen mapovaný blízko centromery na dlouhém rameni 4Am a do 4Abo v *Triticum monococcum*, respektive *T. boeoticum*, zatímco BaThb je vyjádřen introgrésí *Th. bessarabicum*

v pšenici a byl zmapován na chromozomu 4J mezi centromerou a FL0,52 (Burešová et al., 2015). Mezi odrůdy pšenice s modrým aleuronem patří například: UC 66049, Tschermak's B.S, Xiao Yian (Paznocht et al., 2018).

### **3.3.2 Purpurová pšenice**

Purpurové zabarvení obilky je zapříčiněno anthokyany uloženými v oplodí (Khlestkina et al., 2010). Purpurový perikarp byl přenesen do dnešní pšenice z tetraploidních pšenic pocházejících z Etiopie, Somálska a Jemenu. V tomto tetraploidním materiálu byly zmapovány dva komplementární geny: Pp1 na krátkém raménku chromozomu 7B a Pp2 na chromozomu 7A (Musilová et al., n.d.). Mezi odrůdy pšenice s purpurovým perikarpem patří například: Purple Feed, RU 687-12, Konini, Purple a PS Karkulka.

## **3.4 Obsahové látky**

### **3.4.1 Fenolové kyseliny**

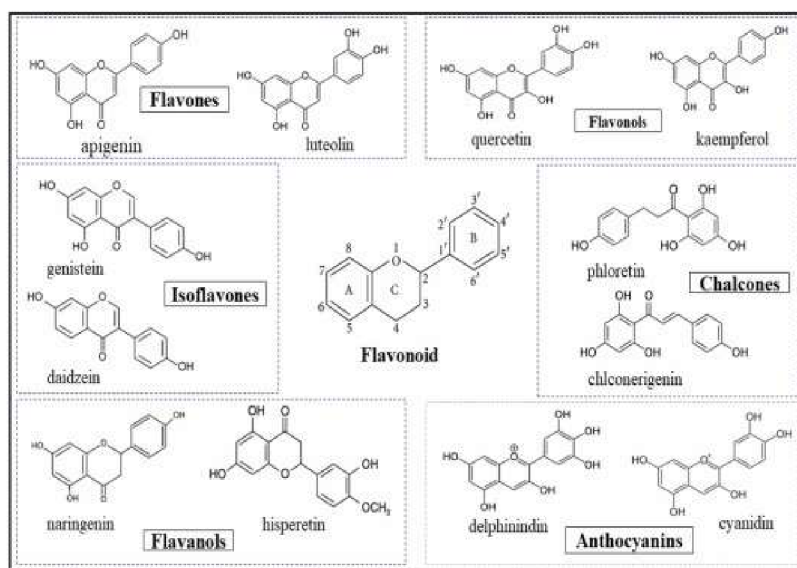
Fenolové kyseliny patří mezi dominantní část metabolitů obilných plodin s pozitivním vlivem na zdraví člověka. Fenolové kyseliny z pigmentovaných a nepigmentovaných pšeničných zrn se dělí na hydroxybenzoové kyseliny a hydroxyskořicové kyseliny. Kyseliny odvozené z kyseliny hydroxybenzoové zahrnují kyselinu p-hydroxybenzoovou, vanilovou, syringovou a galovou, zatímco odvozené z kyseliny hydroxyskořicové zahrnují kyselinu p-kumarovou, kávovou, ferulovou a sinapovou. Tyto směsi jsou dostupné jako vázané struktury a vyskytují se jako estery a glykosidy (Gupta et al., 2021).

### **3.4.2 Flavonoidy**

Flavonoidy patří mezi významné bioaktivní látky, jde o polyfenoly se skvělými antioxidačními vlastnostmi a různými zdravotními výhodami, obecně se tyto látky nacházejí v barevném ovoci. V zmu se největší množství flavonoidů vyskytuje v obalových vrstvách a v klíčku (Gupta et al., 2021). Strukturou flavonoidů je 15 uhlíkatý skelet, tvořen dvěma fenylovými prstenci a jedním heterocyklem, tato struktura může být zkrácena na C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Lachman et al., 2017). Flavonoidy se rozdělují do šesti základních tříd na základě jejich molekulární struktury, jde o flavony (např. apigenin, luteolin, chrysoeriol a jejich glykosidy), isoflavony ( genistein, daidzein), chalkony (phloretin, chalkonaringenin), flavonoly (např. kampferol, quercetin, myricetin a jejich glykosidy), flavanony (např. naringenin, eriodictyol a jejich glykosidy) a



anthocyanidiny (delphinidin a cyanidin). Základní strukturální vzorce flavonoidů a jejich tříd nalezneme na obrázku č. 2 (Panche et al., 2016). V pšenici se flavonoidy vyskytují hlavně jako flavony, flavonové C-glykosidy a anthocyany (Gupta et al., 2021).



Obrázek č. 2: Základní struktura flavonoidů a jejich podskupin

### 3.4.2.1 Anthokyany

Anthokyany jsou vodou rozpustné pigmenty patřící do flavonoidů. Mají glykosidickou strukturu, skládající se z jedné nebo více molekul cukru (glukózy, galaktózy, rhamnózy, xylózy, nebo arabinózy) navázané k aglykonu, anthokyanidynu (Eker et al., 2019). Jednotlivé anthokyany se od sebe liší počtem hydroxy nebo methoxy skupin na aglykonu. Dále se liší cukry navázanými O-glykosidickými vazbami v různých polohách a alifatickými nebo aromatickými kyselinami navázanými na tyto cukry. Pro linie pšenic s barevným zrnem je charakteristických těchto šest anthokyanidinů: cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin a petunidin (Lachman et al., 2017). Anthokyany jsou vysoce reaktivní molekuly, proto jsou také náchylné k jejich degradaci, na kterou mají vliv faktory jako kyslík, teplota, světlo, enzymy a pH. Anthokyany mohou být degradovány několika procesy probíhajícími během jejich extrakce, zpracování potravin a skladování (Fernandes et al., 2014).

Ve svém experimentu identifikoval 22 různých anthokyanů v modré a 23 v purpurové pšenici. Toto číslo je poměrně vysoké ve srovnání s dřívějšími zprávami o 8 kusech z modré a fialové pšenice (Abdel-Aal et al., 2006). Všechny jsou založeny na již uvedených šesti

anthokyanidínech a jediné rozdíly jsou v připojených cukrech anebo jejich esterifikaci fenolovými kyselinami (Lachman et al., 2017).

Modré aleuronové pšenice se od sebe příliš nelišily v celkové koncentraci anthokyanů. Hlavními anthokyaniny v modrých pšenicích byly delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid, dále byly přítomny i kyanidin-3-glukosid a kyanidin-3-rutinosid (Knievel et al., 2009). Podle Bartl et al. (2015) byly delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid detekovány pouze v modré pšenici. Dále modrá zrna obsahují i peonidin-3-glukosid, který je zde minoritní anthokyanovou složkou (Hu et al., 2007). Další studie zjistila přítomnost šesti majoritních anthokyanů v aleuronové vrstvě pšenice odrůdy Škorpion, byly jimi: delfinidin-3-glukosid, delfinidin-3-rutinosid, kyanidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid a peonidin-3-rutinosid (Bartl et al. 2013).

Anthokyanový profil purpurových pšenic byl relativně komplikovanější než profil modrých pšenic, obsahoval vyšší počet anthokyanových sloučenin. Hlavními anthokyaniny v pšenici purpurové byly kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a kyanidin-sukcinyl-glukosid (Knievel et al., 2009). Bartl et al. (2015) ve svém výzkumu objevil v perikarpu purpurových pšenic kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid, peonidin-3-rutinosid, pelargonidin-3-glukosid, pelargonidin-3-rutinosid a peonidin-3-glukosid, z nichž pelargonidin-3-glukosid, pelargonidin-3-rutinosid a peonidin-3-glukosid byly nalezeny pouze v purpurové pšenici. Podle Hosseinian et al. (2008) byl převládajícím anthokyanem kyanidin-3-glukosid.

### **3.4.3 Karotenoidy**

Karotenoidy patří mezi nejrozšířenější pigmenty a přirozeně vykazují červenou, oranžovou a žlutou barvu, jde o v tucích rozpustné pigmenty (Ngamwonglumlert & Devahastin, 2019), které se nacházejí v chloroplastech a chromoplastech rostlin. Karotenoidy jsou rozděleny do dvou tříd: karoteny (což jsou uhlovodíky) a xantofyly (kyslíkaté deriváty karotenů) (Paznocht et al., 2018). Skládají se z osmi izoprenových jednotek a obsahují 40 atomů uhlíku. V pšeničném znu může být přítomno široké spektrum karotenoidů včetně luteinu,  $\beta$ -karotenu,  $\beta$ -apokarotenu,  $\beta$ -kryptoxantinu, zeaxantinu, antheraxantinu, taraxantinu (lutein-5,6-epoxid), triticoxanthinu a flavoxanthinu (Lachman et al., 2017a).

## 3.5 Způsoby zpracování zrna

### 3.5.1 Mletí

Vzhledem k tomu, že antokyany purpurové a modré pšenice jsou umístěny ve vnějších vrstvách zrna, mohla by být celozrná mouka nebo mouka obohacená o otruby použita k výrobě barevných potravinářských výrobků (Lachman et al., 2017). Nejlepší hodnoty antioxidantů vykazuje celozrná mouka, dále pak mouka částečně zbavená otrub, kde byl celkový obsah fenolů o 16,9 % nižší. Nejhorší hodnoty vykazovala mouka zcela bavená otrub, její celkový obsah fenolů byl o 57 % nižší (Li et al., 2015b).

Giordano et al. (2017) ve své studii porovnává válcové mletí se způsobem mletí zvaný pearling. Válcovým mletím jsou obalové vrstvy (otruby) odstraněny a zbylé zrno je rozemleto na mouku. Tímto nám tedy vznikají dvě frakce. Druhý způsob provedený podle (Beta et al., 2005) umožňuje oddělení šesti frakcí. Nejprve je odstraněna povrchová část, která činí 5 % původní hmotnosti zrna, to tvoří první frakci (0-5 % w/w). Ze zbylé části se opět odstraní 5 %, čímž vznikne frakce druhá (5-10 % w/w). Takto se oddělí i frakce třetí, čtvrtá a pátá (10-15 %, 15-20 %, 20-25 % w/w). Poslední frakci tvoří zbylých 75 % jádra (25-100 % w/w).

U válcového mletí vykazovala frakce otrub 10krát větší celkovou antioxidační aktivitu než u rafinované mouky a 2krát větší než u mouky celozrné. U dvou antokyanově pigmentovaných odrůd se jejich otrubová frakce vyznačovala v průměru 2krát vyšším celkovým obsahem anthokyanů než u rafinované mouky a celozrné mouky. Pokud jde o pearling zde bylo zjištěno, že anthokyany se nacházejí ve specifických vrstvách jádra. Zejména purpurově zrnitá odrůda se vyznačovala nejvyšší celkovou antioxidační kapacitou (TAC) ve frakci 0–5 % (579 mg ekvivalentu Cy-3-glc/kg sušiny). Celkový obsah anthokyanů v této frakci byl asi 6krát vyšší než obsah pozorovaný v celozrné mouce, a dokonce 2krát vyšší než obsah pozorovaný ve frakci otrub. Druhá 5–10% perlová frakce stále vykazovala vysoký TAC (425 mg ekvivalentu Cy-3-glc/kg sušiny), asi 4krát a 1,5krát vyšší než ten, který byl pozorován u celozrné mouky a ve frakci otrub. Modrozrná odrůda vykazovala nejvyšší celkový obsah anthokyanů ve frakci 10–15 % (211 mg ekvivalentu Cy-3-glc/kg sušiny), asi 3 a 1,5krát vyšší než obsah pozorovaný v celozrné mouce a v otrubách zlomek (Giordano et al., 2017).

### 3.5.2 Výroba chleba

Bartl, et al. (2015) ve své práci porovnává vliv teploty a délky pečení na celkový obsah anthokyanů v chlebu vyráběného z modré a purpurové pšenice. Celkový obsah anthokyanů v moukách byl 9,26 mg/kg pro modrou pšenici a 13,23 mg/kg pro pšenici purpurovou. Analýza chleba pečeného při 240 °C po dobu 21 min s použitím modré pšenice ukázala obsah 8,33 mg/kg anthokyanů (pokles 7,1 %), u pšenice purpurové 5,2 mg/kg anthokyanů (pokles 61 %). Vzorok chleba, které se pekly po dobu 31 min při nižší teplotě 180 °C ukázaly větší poklesy obsahu anthokyanů, než ty pečené při 240 °C po dobu 21 min, u modrého pšeničného chlebu obsahují 5,31 mg/kg (pokles o 40,8 %) a u purpurového pšeničného chlebu vykazují 3,63 mg/kg (pokles o 72,8 %).

Anthokyaniny také vykazují i různou stabilitu při pečení, například kyanidin-3-rutinosid je tepelně stabilnější kyanidin-3-glukosid. (Sui et al., 2015). Eliášová et al. (2020) se ve svém článku zabývá degradací jednotlivých anthokyanů při výrobě chleba. Kde jednotlivé anthokyanové degradace byly vyjádřeny jako průměr všech genotypů (AF Jumiko, ANK 28-A, Konini, V1 131-15, UC 66049). Analyty (spolu s procenty ztráty) v rozsahu od nejméně po nejvíce degradující byly: peonidin-3-glukosid (44 %) < kyanidin-3-glukosid (52 %) < kyanidin-3-rutinosid (61 %) < petunidin-3-glukosid (65 %) < delphinidin-3-rutinosid (80 %) < delphinidin-3-glukosid (82 %).

Při výrobě chleba dochází k prvnímu snížení celkového obsahu anthokyanů již při míchání těsta, toto je zapříčiněno naředěním mouky o další komponenty. Dále ale při kynutí narůstá, kdy hodnota TAC vzrostla až o 19 % oproti těstu po promíchání (Yu et al., 2015).

Celkový obsah anthokyanů v chlebu vyrobeném z fialově zbarvené pšeničné mouky byl odhadnut na 78 mg/kg (Li and Beta, 2011). Obsah anthokyanů v částech chleba je ale proměnlivý, celkový obsah anthokyanů v chlebu připraveném ze směsí mouka-otruby se pohyboval v rozmezí 2,68–4,07 mg Cy-3-glc /100 g ve střídce a 1,97–2,61 mg Cy-3-glc /100 g v chlebové kůrce (Seo et al., 2021). Sui et al. (2015) ve svém článku uvádí, že pokles antioxidační kapacity a celkového obsahu fenolů byl ze začátku pečení výraznější u kůrky chleba než u střídky. Následně, ale po 2 minutách pečení začali tyto hodnoty v kůrce narůstat, předpokládáme, že toto zvýšení je způsobeno produkty Maillardovy reakce.

### 3.5.3 Výroba těstovin a nudlí

Ficco et al. (2016) se ve své studii zabývá výrobou těstovin ze semi-celozrnné mouky a semoliny z pšenice s purpurovým zrnem. Zde se ukázalo sušení, jako část postupu výroby těstovin, při kterém došlo k nejvyššímu snížení obsahu anthokyanů. Těstoviny vyráběné ze semi-celozrnné mouky (66,49 mg/kg v mouce) obsahovaly po vysušení 21,42 mg/kg celkových anthokyanů, po jejich uvaření tento obsah klesl na 16,89 mg/kg. U semoliny (18 mg/kg) nebyl nalezen téměř žádný obsah anthokyanů. Pokud šlo o těstoviny čerstvé, zde se celkový obsah anthokyanů pohyboval okolo 46,32 mg/kg u těstovin vyrobených ze semi-celozrnné a okolo 15 mg/kg u semolinových. Po jejich uvaření klesl obsah anthokyanů na 37,27 mg/kg u vyrobených ze semi-celozrnné mouky a u semolinových opět nebyli nalezeny téměř žádné anthokyaniny. I když sensorické ani varné kvalitativní charakteristiky těchto semi-celozrnných těstovin nedosahovaly kvality komerčních těstovin z tvrdé pšenice, byly ve fialovém genotypu vyváženy lepším fytochemickým složením a nízkým odhadovaným glykemickým indexem.

Parizad et al. (2020) se věnoval výrobě těstovin z mouky s přidáním otrub z purpurové pšenice, tento přírůstek činil 25%, což je množství vhodné pro zamezení nadměrných změn v samotném procesu výroby těstovin. Výsledky před a po vaření jednotlivých těstovin najdete v tabulce č.1. Nižší degradace celkového obsahu anthokyanů bylo dosaženo u těstovin vyrobených z mouky s přidáním otrub. Ale menší snížení celkových fenolových sloučenin bylo dosaženo u těstovin semolinových s přidáním otrub.

Title	Expected *	Wheat Flour + DF		Semolina + DF	
		Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked
TAC content (mg Cyn-3-O-Glc/kg)	138	122 ± 9 <sup>a</sup>	51 ± 2 <sup>c</sup>	89 ± 12 <sup>b</sup>	31 ± 4 <sup>d</sup>
TAC retention, % of expected	100	88.4	36.9	64.5	22.4
TAC loss upon cooking, % of uncooked		100	58.2	100	65.2
TPC content (mg GAE/kg)	9480	3110 ± 188 <sup>a</sup>	1254 ± 98 <sup>b</sup>	2997 ± 302 <sup>a</sup>	1467 ± 111 <sup>b</sup>
TPC retention, % of expected	100	32.8	13.2	31.6	15.5
TPC loss upon cooking, % of uncooked		100	59.7	100	51.1

Tabulka č. 1: Efficiency and stability of phenolics incorporation

### 3.5.4 Výroba dalších potravin

Gamel et al., (2020) ve své studii vytvořil a zkoumal šest prototypových produktů z fialové pšenice na základě jejich anthokyanového složení viz tabulka č. 1. Mezi produkty vykazovaly nejvyšší obsah anthokyanů a vlákniny a antioxidační kapacitu tyčinky a krekrý obohacené o otruby. Tyto dva produkty jsou slibné jako funkční potraviny a byly vybrány ke studiu

biologické dostupnosti a fyziologických účinků anthokyanů a fenolových kyselin v klinických studiích na lidech. Můžeme zde ale také například pozorovat vyšší obsah chleba vyráběného z mouky obohacené o otruby purpurové pšenice než u vyrobeného z celozrnné mouky z pšenice s purpurovým zrnem.

Purple wheat	Total anthocyanin <sup>b</sup>	Anthocyanin compounds <sup>c</sup>				Total
		Cy-3-glc	Cy-3-rut	Pn-3-glc	Nonidentified	
Main ingredients						
Whole flour	172.0 ± 5.8 b	40.6 ± 1.2 b	3.2 ± 0.1 b	17.5 ± 0.1 b	65.5 ± 2.5 b	126.8 ± 1.3 b
Whole flakes	170.1 ± 6.3 b	40.0 ± 0.1 b	3.1 ± 0.1 b	16.3 ± 0.1 b	60.6 ± 0.1 b	120.0 ± 0.1 b
Bran	902 ± 14.0 a	187.5 ± 2.0 a	20.3 ± 0.8 a	80.2 ± 2.5 a	518.0 ± 55.8 a	806.0 ± 61.2 a
Food prototypes						
Bran-enriched purple wheat bars	282.8 ± 2.7 a	18.3 ± 0.3 b	1.2 ± 0.1 c	8.7 ± 0.1 b	13.5 ± 0.5 b	41.7 ± 0.8 b
Bran-enriched purple wheat crackers	291.5 ± 1.4 a	21.6 ± 0.3 a	1.6 ± 0.1 b	10.2 ± 0.1 a	22.5 ± 0.6 a	55.9 ± 0.2 a
Bran-enriched purple wheat bread	80.5 ± 4.4 b	4.5 ± 0.3 c	3.2 ± 0.1 a	2.4 ± 0.1 c	11.4 ± 0.5 c	16.8 ± 0.5 c
Whole purple wheat bread	65.4 ± 0.1 c	3.3 ± 0.1 c	0.6 ± 0.1 d	0.5 ± 0.0 d	5.6 ± 0.2 d	10.0 ± 0.4 d
Whole purple wheat pancake	96.0 ± 5.1 b	2.4 ± 0.2 d	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 e	13.6 ± 0.4 b	16.0 ± 0.4 c
Whole purple wheat porridge	30.7 ± 1.8 d	2.2 ± 0.1 d	0.4 ± 0.0 e	0.4 ± 0.0 d	4.0 ± 0.2 e	7.0 ± 0.2 e

<sup>a</sup>Among ingredients or food products, mean values with the same online letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>b</sup>Measured by a colorimetric method.

<sup>c</sup>Measured by HPLC method; Cy-3-glc, cyanidin-3-glucoside; Cy-3-rut, cyanidin-3-rutinoside; Pn-3-glc, peonidin-3-glucoside.

Tabulka č.2: Obsah anthokyanů a zastoupení jednotlivých druhů anthokyanů u purpurové pšenice a prototypových potravinářských produktů

Dále pak také Pasqualone et al. (2015) ve svém článku popisuje výrobu sušenek z purpurové pšenice. Tyto sušenky byly vyráběny z celozrnné mouky purpurové pšenice odrůdy *Citr 14629*. Kontrolní sušenky byly vyrobeny z mouk nepigmentovaných odrůd pšenice. Celkový obsah anthokyanů v těchto sušenkách činil 13,86 mg Cy-3-glc/kg. Hodnoty celozrnné mouky, ze které byly tyto sušenky vyrobeny byly 30,84 mg Cy-3-glc/kg. U sušenek vyrobených z byla taky pozorována nižší oxidace lipidů, toto bylo způsobeno právě vyšší obsahem látek s antioxidačními vlastnostmi. Závěrem lze říci, že typické kvalitativní charakteristiky sušenek byly u purpurových o něco horší než u kontrolních vzorků, a to z důvodu vyšší síly lepku, ale byly vyváženy lepšími hodnotami pro AA, TPC a TAC.

Další zajímavým způsobem zpracování otrub z purpurových pšenic je výroba prášku bohatého na anthokyany a antioxidanty. Zrno je nejdříve mleto, při tom jsou odděleny dvě frakce, otruby a mouka. Následně jsou anthokyany třikrát extrahovány okyseleným ethanolem (ethanol a 1,0 M HCl, 85:15, obj./obj.) v poměru 1:6 (hmot./obj.) a extrakty byly spojeny a zakoncentrovány

odpařením při 40 °C za použití rotačního výparníku. Čištění extraktů bylo prováděno za použití systému řízené pumpy Buchi vybaveného chromatografickou kolonou. Koncentrované anthokyaninové extrakty byly pomalu nanášeny na kolonu a eluovány 95% ethanolem při průtoku 10 ml/min po dobu 80 minut. Ethanolvá eluce byla zakoncentrována na rotační odparce a poté vysušena v sušárně odolné vůči rozpouštědlům při 45 °C. Celkový obsah anthokyanů v tomto prášku je 38,9g/kg v sušině, v prášku před finálním čištěním se pohybuje okolo 13,7 g/kg. Otruby, z kterých je tento produkt vyroben obsahovaly 0,43 g/kg anthokyanů. Tento prášek se dále dá využít při výrobě potravin obohacených o anthokyany (Abdel-Aal et al., 2018).

### **3.6 Druhy stanovení obsahových látek**

#### **3.6.1 HPLC**

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) se řadí mezi nejčastěji používané separační metody. Vyniká vysokou účinností, dobrou opakovatelností a robustností. Tato metoda je vhodná pro dělení organických méně těkavých kapalných a tuhých látek, které jsou rozpustné ve vodě, v organických rozpouštědlech nebo zředěných kyselinách. Jde také o nejpoužívanější metodu při stanovení anthokyanů, nejčastějšími detektory jsou UV-Vis nebo PDA/DAD (Lee et al., 2001).

HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fází, která je vždy kapalná. Stacionární fáze je zakotvená v chromatografické koloně. Během separace dochází k mnoha typům interakcí. Uplatňují se interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární fází a sorpce analytů na stacionární fázi.

##### **3.6.1.1 LC-MS**

Kombinace HPLC a MS metody měla významný vliv na kvantitativní a kvalitativní analytickou metodiku anthokyanů v posledním desetiletí. Tato kombinace, LC-MS, nabízí separační výhody kapalinové chromatografie kombinované s identifikačními výhodami hmotnostní spektrofotometrie. MS je velmi citlivá metoda molekulární analýzy a díky její separaci podle hmotnosti, může být dosaženo dobré selektivity a identifikace samostatných sloučenin ve směsi (Liu et al. 2010).

### **3.6.2 UV/VIS spektrofotometrie**

Tato metoda je používána ke stanovení celkového obsahu anthokyanů (Abdel-Aal & Hucl, 1999). Jde o metodu založenou na měření absorpce ultra fialového a viditelného záření při průchodu vzorkem. Sharma et al. (2018) použil této metody pro stanovení TAC. Absorbance vzorků byla měřena při 520 nm proti destilované vodě jako slepému pokusu. Údaje byly vyjádřeny jako mikrogramy ( $\mu\text{g}$ ) ekvivalentů kyanidinu-3-glukosidu (Cy-3-glu) na gram sušiny.

### **3.6.3 Spektrofotometrická PH-diferenciální metoda**

Metoda je založena na změně absorpčního spektra anthokyanů v závislosti na pH (Holasová and Fiedlerová 2011). Absorpční spektrum ovlivňují strukturální změny chromofor při pH od 1 do 4,5 (Lee et al., 2001). Vzorek byl měřen při pH 1 s použitím pufru chloridu draselného a při pH 4,5 s použitím pufru octanu sodného. Absorpce každého vzorku byla měřena při 520 nm proti destilované vodě jako slepému pokusu. Koncentrace byla vypočítána podle vzorce a vyjádřena jako ekvivalent Cy-3-glc (Hosseinian et al. 2008).



## 4 Závěr

Pšenice (*Triticum aestivum*), je významnou plodinou s uplatněním v potravinářství. Cílem této práce bylo shrnout poznatky o obsahových látkách, v znu barevných, zejména modrých a purpurových, pšeníc a jejich změnu při zpracování.

Nejvýznamnějšími látkami v znu purpurových a modrých pšeníc jsou anthokyany v pšenici s purpurovým znem jich bylo identifikováno až 23 a v pšenici s modrým znem 22. Mezi nejvýznamnější z nich patří: delphinidin-3-glukosid, delphinidin-3-rutinosid, kyandin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid, peonidin-3-glukosid, peonidin-3-rutinosid, pelargonidin-3-glukosid a pelargonidin-3-rutinosid. Anthokyany jsou látky s dobrými antioxidačními vlastnostmi, a proto jsou pro zdraví člověka prospěšné. Díky tomu také vzniká tendence, začleňovat tyto odrůdy pšenice do potravin.

Obsah anthokyanů v hotovém produktu závisí již na způsobu mletí, protože se tyto látky nacházejí především v obalových vrstvách nejvhodnější moukou je mouka celozrná nebo mouka následně obohacená o otruby či jejich extrakt. Dále je obsah anthokyanů závislý na způsobu tepelného zpracování. Při pečení chleba je míra degradace anthokyanů více závislá na délce pečení než na jeho teplotě. U těstovin bylo pozorováno největší snížení obsahu anthokyanů při jejich sušení.

Nejčastější metodou stanovení obsahových látek byla vysokoučinná kapalinová chromatografie, s nejčastějšími detektory UV-Vis nebo PDA/DAD. Dále pak je uplatňována její kombinace s hmotnostní spektrometrií, která umožňuje přesnější identifikaci látek. Často je pak také používána i UV/VIS spektrofotometrie, díky níž se stanovuje celkový obsah anthokyanů.

## 5 Literatura

- Abdel-Aal ESM, Hucl P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* **76(3)**:350–354.
- Abdel-Aal ESM, Hucl P, Rabalski I. 2018. Compositional and antioxidant properties of anthocyanin-rich products prepared from purple wheat. *Food Chemistry* **254**:13–19.
- Abdel-Aal ESM, Young JC, Rabalski I. 2006. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54(13)**:4696–4704.
- Bartl P, Albrecht A, Skrt M, Tremlová B, Ošádalová M, Šmejkal K, Vovk I, Ulrih NP. 2015. Anthocyanins in purple and blue wheat grains and in resulting bread: Quantity, composition, and thermal stability. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **66(5)**:514–519.
- Beta T, Nam S, Dexter JE, Sapirstein HD. 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry* **82(4)**:390–393.
- 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(2)**:273–282.
- Eker ME, Aaby K, Budic-Leto I, Brncic SR, El SN, Karakaya S, Simsek S, Manach C, Wiczowski W, de Pascual-Teresa S. 2019. A Review of Factors Affecting Anthocyanin Bioavailability: Possible Implications for the Inter-Individual Variability. *Foods* **2020** **9(1)**:2.
- Fernandes I, Faria A, Calhau C, de Freitas V, Mateus N. 2014. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of Functional Foods* **7(1)**:54–66.

- Ficco DBM, de Simone V, de Leonardis AM, Giovanniello V, del Nobile MA, Padalino L, Lecce L, Borrelli GM, de Vita P. 2016. Use of purple durum wheat to produce naturally functional fresh and dry pasta. *Food Chemistry* **205**:187–195.
- Gamel TH, Wright AJ, Pickard M, Abdel-Aal ESM. 2020. Characterization of anthocyanin-containing purple wheat prototype products as functional foods with potential health benefits. *Cereal Chemistry* **97(1)**:34–38.
- Garg M, Chawla M, Chunduri V, Kumar R, Sharma S, Sharma NK, Kaur N, Kumar A, Munday JK, Saini MK, Singh SP. 2016. Transfer of grain colors to elite wheat cultivars and their characterization. *Journal of Cereal Science* **71**:138–144.
- Giordano D, Locatelli M, Travaglia F, Bordiga M, Reyneri A, Coisson JD, Blandino M. 2017. Bioactive compound and antioxidant activity distribution in roller-milled and pearled fractions of conventional and pigmented wheat varieties. *Food Chemistry* **233**:483–491.
- Gupta R, Meghwal M, Prabhakar PK. 2021a. Bioactive compounds of pigmented wheat (*Triticum aestivum*): Potential benefits in human health. *Trends in Food Science & Technology* **110**:240–252.
- Gupta R, Meghwal M, Prabhakar PK. 2021b. Bioactive compounds of pigmented wheat (*Triticum aestivum*): Potential benefits in human health. *Trends in Food Science & Technology* **110**:240–252.
- Himi E, Maekawa M, Miura H, Noda K. 2011. Development of PCR markers for Tamyb10 related to R-1, red grain color gene in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* **122(8)**:1561–1576.
- Hosseinian FS, Li W, Beta T. 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry* **109(4)**:916–924.

- Hu C, Cai YZ, Li W, Corke H, Kitts DD. 2007. Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Hedong Wumai) extract. *Food Chemistry* **104**(3):955–961.
- Khlestkina EK, Röder MS, Börner A. 2010. Mapping genes controlling anthocyanin pigmentation on the glume and pericarp in tetraploid wheat (*Triticum durum* L.). *Euphytica* **171**(1):65–69.
- Kniewel DC, Abdel-Aal ESM, Rabalski I, Nakamura T, Hucl P. 2009. Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science* **50**(1):113–120.
- Lachman J, Martinek P, Kotiková Z, Orsák M, Šulc M. 2017a. Genetics and chemistry of pigments in wheat grain – A review. *Journal of Cereal Science* **74**:145–154.
- Lachman J, Martinek P, Kotiková Z, Orsák M, Šulc M. 2017b. Genetics and chemistry of pigments in wheat grain – A review. *Journal of Cereal Science* **74**:145–154.
- Lee J, Durst RW, Wrolstad RE, Barnes KW, Eisele T, Giusti MM, Haché J, Hofsommer H, Koswig S, Krueger DA, Kupina S, Martin SK, Martinsen BK, Miller TC, Paquette F, Ryabkova A, Skrede G, Trenn U, Wightman JD. 2001. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study.
- Li Y, Ma D, Sun D, Wang C, Zhang J, Xie Y, Guo T. 2015a. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of flour, noodles, and steamed bread made from different colored wheat grains by three milling methods. *The Crop Journal* **3**(4):328–334.
- Liu Q, Qiu Y, Beta T. 2010. Comparison of antioxidant activities of different colored wheat grains and analysis of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**(16):9235–9241.

- Morrison LA, Metzger RJ, Lukaszewski AJ. 2004. Origin of the Blue-Aleurone Gene in Sebesta Blue Wheat Genetic Stocks and a Protocol for Its Use in Apomixis Screening. *Crop Science* **44(6)**:2063–2067.
- Musilová M, Trojan V, Vyhnanek T, Havel L. (n.d.). Genetic Variability for Coloured Caryopses in Common Wheat Varieties Determined by Microsatellite Markers.
- Ngamwonglumlert L, Devahastin S. 2019. Carotenoids. *Encyclopedia of Food Chemistry* 40–52.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* **5**:1–15.
- Parizad PA, Marengo M, Bonomi F, Scarafoni A, Cecchini C, Pagani MA, Marti A, Iametti S. 2020. Bio-Functional and Structural Properties of Pasta Enriched with a Debranning Fraction from Purple Wheat. *Foods* 2020 **9(2)**:163.
- Pasqualone A, Bianco AM, Paradiso VM, Summo C, Gambacorta G, Caponio F, Blanco A. 2015. Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat. *Food Chemistry* **180**:64–70.
- 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.
- Paznocht L, Kotíková Z, Šulc M, Lachman J, Orsák M, Eliášová M, Martinek P. 2018. Free and esterified carotenoids in pigmented wheat, tritordeum and barley grains. *Food Chemistry* **240**:670–678.
- Saini P, Kumar N, Kumar S, Mwaurah PW, Panghal A, Kumar Attkan A, Singh VK, Garg K, Singh V, Kumar Garg M. 2020. Bioactive compounds, nutritional benefits and food applications of colored wheat: a comprehensive review.

- Seo Y, Moon Y, Kweon M. 2021. Effect of Purple-Colored Wheat Bran Addition on Quality and Antioxidant Property of Bread and Optimization of Bread-Making Conditions. *Applied Sciences* 2021 **11(9)**:4034.
- Sharma S, Chunduri V, Kumar A, Kumar R, Khare P, Kondepudi KK, Bishnoi M, Garg M. 2018. Anthocyanin bio-fortified colored wheat: Nutritional and functional characterization. *PLOS ONE* **13(4)**:e0194367.
- Shewry PR. 2018. Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat? *Journal of Cereal Science* **79**:469–476.
- Sui X, Yap PY, Zhou W. 2015. Anthocyanins During Baking: Their Degradation Kinetics and Impacts on Color and Antioxidant Capacity of Bread. *Food and Bioprocess Technology* **8(5)**:983–994.
- Yu L, Beta T, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velazquez D. 2015. Identification and Antioxidant Properties of Phenolic Compounds during Production of Bread from Purple Wheat Grains. *Molecules* 2015 **20(9)**:15525–15549.
- Zeven AC. 1991. Wheats with purple and blue grains: a review. *Euphytica* **56(3)**:243–258.









