

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Antokyany v obilovinách a pekárenských výrobcích

Bakalářská práce

Autor práce: Klára Hlavsová

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Šulc, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Antokyany v obilovinách a pekárenských výrobcích" jsem vypracovala 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 autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.04.2017

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Miloslavu Šulcovi, Ph.D. za čas, trpělivost a mnoho cenných rad při vedení této bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu, kterou mi během psaní poskytovala.

Antokyany v obilovinách a pekárenských výrobcích

Souhrn

Antokyany jsou v lidském organismu považovány za velmi důležité antioxidanty, které odstraňují a též eliminují vznik volných radikálů – původců nádorových onemocnění.

Obiloviny se vyskytují v různém barevném provedení, za které jsou mimo jiné zodpovědné právě antokyany. Cílem této práce je shrnutí dosavadních poznatků z literatury, zaměřující se na obsah antokyanů u různých druhů obilovin a pekárenských výrobků.

U modré a fialové pšenice (*Triticum aethiopicum*) byl zkoumán obsah antokyanů a zjistilo se, že u modré pšenice bylo identifikováno 19 a u fialové pšenice 26 antokyanů. Celkový obsah antokyanů byl u fialové pšenice o 4 mg vyšší než u modré (9,26 mg/kg). Různé studie tvrdí, že obsah antokyanů u různých druhů pšenice může kolísat od 35 do 507 mg/kg. Zajímavým objevem je, že u fialové pšenice *Chaloral* byl identifikován kyanidin-3-glukosid jako dominantní antokyanin, zatímco u červené pšenice *Red fife* nebyl zjištěn žádný obsah antokyanů.

Další studie se zaměřovaly na to, jaký vliv má pečení na degradaci antokyanů. Není zcela jasné, zda vyšší degradaci antokyanů způsobuje doba, či teplota pečení. Většina studií potvrzuje, že za vyšší degradaci antokyanů je zodpovědná spíše doba pečení. U vzorků chleba, které byly pečený při 180 °C po dobu 31 minut, byla pozorována vyšší degradace antokyanů (5,31 mg/g u MP; 3,63 mg/g u FP) než u vzorků chleba pečených při 240 °C 21 minut (8,33 mg/g u MP; 13,23 mg/g u FP). Důležitým faktorem je také TAC u mouk, ze kterých mají být pekárenské výrobky připraveny. Bylo zjištěno, že čím vyšší je stupeň vymletí u pšeničné mouky, tím je TAC nižší. Celozrnná mouka obsahovala 73,41 µg TAC/g, polo-celozrnná 66,94 µg TAC/g a pšeničná krupice 24,4 µg TAC/g.

Další část této práce je věnována tepelné úpravě kukuřice. Zjistilo se, že vaření kukuřice způsobuje pokles monomerních antokyanů, a to až o 60,7 %. Typickým způsobem tepelné úpravy kukuřice je nixtamalizace (vaření s vápnem), které způsobuje až 83% ztráty antokyanů v kukuřici a 54% ztráty u kukuřičných tortil. Bylo vyzkoumáno, že tyto ztráty se dají eliminovat kyselinou fumarovou, která snížila degradaci antokyanů až o 11,7 % v kukuřičných tortilách.

Klíčová slova: antokyany, obiloviny, výrobky z obilovin, analytické metody, degradace

Anthocyanins in cereals and baked products

Summary

Anthocyanin present in human organism are considered to be vital antioxidants, which eliminates forming and creation of free radicals, those responsible for origin of tumorous diseases. Grains occur in many color variations, for which is, among other things, responsible upper mentioned anthocyanin. Objective/purpose of this work is summary of current knowledge base from literature that focuses on volume of anty-octanes in different varieties of grains and baked products.

In purple wheat (*Triticum aethiopicu*) the content of anthocyanin was researched and discovered, in blue wheat 19 anthocyanin were identified, whereas in purple wheat there were 26 anthocyanin. Total content of anthocyanin (TAC) was higher in PW by 4 mg than in BW(9,26mg/kg). Different studies claim that TAC in different varieties of wheat may vary from 35 – 507 mg/kg.

Different studies were focusing on the effect of baking in terms of degradation of anthocyanin. It is not clear whether higher degradation is due to longer period of baking or a temperature. Majority of studies confirms prolonged periods of baking as a source of higher degradation. This fact was affirmed by samples of bread made from PW and BW. Both samples were baked at 180 °C in the period of 31 minutes. Observed degradation of anthocyanin (5,31 mg/g u MP; 3,63 mg/g FP) was higher than with samples baked at 240 °C in the period of 21 minutes (8,33 mg/g u MP; 13,23 mg/g u FP). TAC is important factor with flours, from which baked products are prepared. It was discovered, that the more is wheat flour milled, the lower the TAC.

Whole seed flour contained 73,41 µg TAC/g, half whole seed 66,94 µg TAC/g a and wheat semolina 24,4 µg TAC/g.

Further part of this work is dedicated to heat treatment of corn. As it was dicovered, boiling of the corn causes decrease in anthocyanin monmer up to 60,7%. Typical way of heat treatment regarding corn is nixtamalization (boiling with lime), which causes up to 83% loss of anthocyanin in corn and 54% loss in corn tortillas. It was discovered, that these loses can be eliminated with fumaric acid, which has decreasead the degradation of anthocyanin up to 11,7%.

Keywords: anthocyanins, cereals, cereal products, analytical methods, degradation

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Flavonoidy	2
2.1	Chemická stavba flavonoidů	2
2.2	Klasifikace flavonoidů	3
2.3	Flavonoidy a jejich pozitivní účinky	5
3	Antokyany	7
3.1	Obecná charakteristika	7
3.2	Chemická stavba a výskyt antokyanů	7
3.3	Antokyany jako barviva	9
4	Antokyany v obilovinách	10
4.1	Pšenice.....	10
4.2	Rýže.....	11
4.3	Kukuřice.....	12
4.4	Pohanka.....	12
5	Tepelné zpracování různých druhů obilovin obsahující antokyany.....	14
5.1	Tepelné zpracování kukuřice	14
5.1.1	Vaření a dušení	14
5.1.2	Nixtamalizace	15
6	Antokyany v pečárenských výrobcích	17
6.1	Pšeničné výrobky	17
6.1.1	Chléb.....	17
6.1.2	Sušenky.....	19
6.2	Kukuřičné výrobky.....	20
6.2.1	Tortily a čipsy	20
7	Degradace antokyanů	21
7.1	Vliv degradace na intenzitu zbarvení.....	23
8	Antokyany a jejich vliv na zdraví	24
8.1	Antokyany jako antioxidanty	24
9	Extrakce antokyanů.....	26
10	Analytické metody antokyanů.....	27
10.1.1	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	27
10.1.2	LC-MS	28
10.1.3	UV-Vis detektor.....	30
10.1.4	Metody diodového pole (DAD).....	31
10.1.5	Protiproudá chromatografie (CCC)	31

10.1.6 Kapilární elektroforéza CE	31
11 Závěr	32
12 Seznam použité literatury	34
13 Seznam použitých zkratk.....	39

1 Úvod

Antokyany patří do skupiny fenolických sloučenin, které jsou velmi významné svým červeným, fialovým a modrým zbarvením. Intenzita a odstín těchto zbarvení lze snadno ovlivnit především pH faktorem. Antokyanové pigmenty jsou přítomny u různých druhů ovoce, zeleniny, ale také obilovin či okopanin. Nejhojněji jsou zastoupeny v různých bobulovitých plodech, jako jsou borůvky či brusinky.

Antokyany jsou rostlinné látky, které se syntetizují výhradně ve vyšších rostlinách a to zejména v listech, květech či plodech. Nejvyšší koncentrace antokyanů byly naměřeny v aleuronové vrstvě semen. Rostliny si antokyany vytváří z důvodu jejich ochrany před vnějšími negativními vlivy. Antokyany však nejsou prospěšné jen pro rostliny, ale také pro člověka. Vykazují totiž antioxidační účinky, díky kterým jsou schopné eliminovat vznik volných radikálů, a tak zabránit vzniku karcinogenů. Antokyany zvyšují nutriční hodnotu potravin, proto je tu snaha zvýšit jejich obsah v běžně konzumovaných pečárenských výrobcích.

Antokyany jsou ve vodě rozpustné sloučeniny, díky čemuž jsou využívány v potravinářském průmyslu jako přírodní barviva. Negativní vlastností těchto sloučenin je nízká stabilita a poměrně rychlá degradace, která je způsobena změnou teploty, pH či dobou záhřevu. Kvůli jejich nízké stabilitě je jejich zachování v potravinářských produktech poměrně obtížné. Potravinářské produkty jsou totiž velmi často vystavené některým výše uvedeným jevům, které mají na stabilitu antokyanů negativní dopad.

Z chemického hlediska se jedná o glykosidy, obsahující cukernou a necukernou část zvanou aglykon, viz obrázek 3. Aglykon může být tvořen 17-ti různými anthokyanidy, však jen šesti z nich je přisuzován větší význam. Cukerná složka bývá tvořena D-glukósou, L-rhamnósou, D-xylózou, L-arabinósou nebo L-rutinózou.

Pro stanovení antokyanů, ale i dalších flavonoidních sloučenin se nejvíce používá vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPCL).

2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou bioaktivní polyfenolické látky, které jsou přítomny v běžně konzumovaném ovoci, zelenině a dalších potravinách rostlinného původu (Jiang et al., 2015). Flavonoidy řadíme do skupiny sekundárních metabolitů, produkovaných různými druhy rostlin, jejichž syntéza závisí na několika faktorech, například choroby rostlin, napadení hmyzími škůdci, stresové klima a ultrafialové záření. Další faktory, jako je oblast pěstování, zemědělské postupy, sklizeň, podmínky skladování a metody zpracování, ovlivňují variabilitu flavonoidů (Haytowitz et al., 2013).

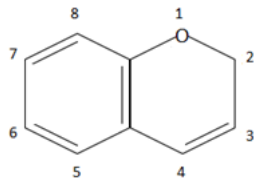
Termín flavonoidy je odvozený od latinského slova „*flavus*“, které se používá pro označení žluté barvy. Totéž zbarvení vykazovaly i první zkoumané rostliny. Flavonoidy mohou vykazovat také červené, modré a fialové zbarvení, za které jsou zodpovědné antokyanové pigmenty (Procházková et al., 2011), nacházející se v rostlinných tkáních. Tyto pigmenty hrají důležitou roli v rostlinné reprodukci tím, že jsou atraktivní pro opylovače, ale také pro ptactvo, které umožňuje přenos semen rostlin na velkou vzdálenost (Winkel-Shirley, 2002).

Flavonoidy poskytují ochranu před ultrafialovým zářením tím, že dokáží toto záření absorbovat, čímž zamezují jeho negativním účinkům. Flavonoidy jsou často přítomny v epidermální vrstvě buněk u listů a tkání, které jsou citlivé na UV záření, stejně jako pyl nebo epikální meristém. Prvním přímým důkazem o ochranných účincích flavonoidů byl experiment s kříženci rodu *Arabidopsis*, díky kterému bylo potvrzeno, že poškození v syntéze chalkonů nebo jejich isomeráz způsobuje vznik fenotypů, jež jsou velmi citlivé na UV záření. Experiment prováděný na petunii a *Arabidopsis*, přinesl důkaz o tom, že UV záření vyvolává syntézu flavonolů s vyšším stupněm hydroxylace. I přesto, že stupeň hydroxylace nijak na UV záření nepůsobí, tak ovlivňuje antioxidační kapacitu flavonolů. Proto se mnoho vědců domnívá, že flavonoly mají významnou roli při odpovědi na stres vyvolaný UV zářením (Winkel-Shirley, 2002).

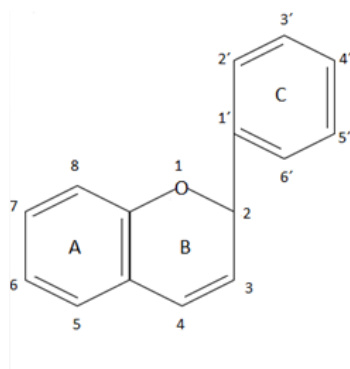
2.1 Chemická stavba flavonoidů

Flavonoidy, též označovány jako flavonoidní látky, patří do velice rozsáhlé skupiny rostlinných fenolů. Flavonoidy ve své molekule obsahují dvě benzenová jádra (kruhy A a C), které jsou spojeny tříuhlíkovým řetězcem. U velké části flavonoidů je tento tříuhlíkový řetězec součástí heterocyklického kruhu, který je odvozený od 2H-pyranu. Struktura flavonoidů je odvozená od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu (viz obrázek 1),

který je substituovaný v poloze C-2 fenylovou skupinou, a tak vzniká sloučenina s názvem flavan (viz obrázek 2). Všechny tři kruhy bývají substituovány hydroxyskupinami či methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší stupněm substituce nebo oxidace (Velíšek J., Hajšlová J., 2009).



Obrázek 1. 2H-chromen (Velíšek J., Hajšlová J., 2009).



Obrázek 2. Flavan (Velíšek J., Hajšlová J., 2009).

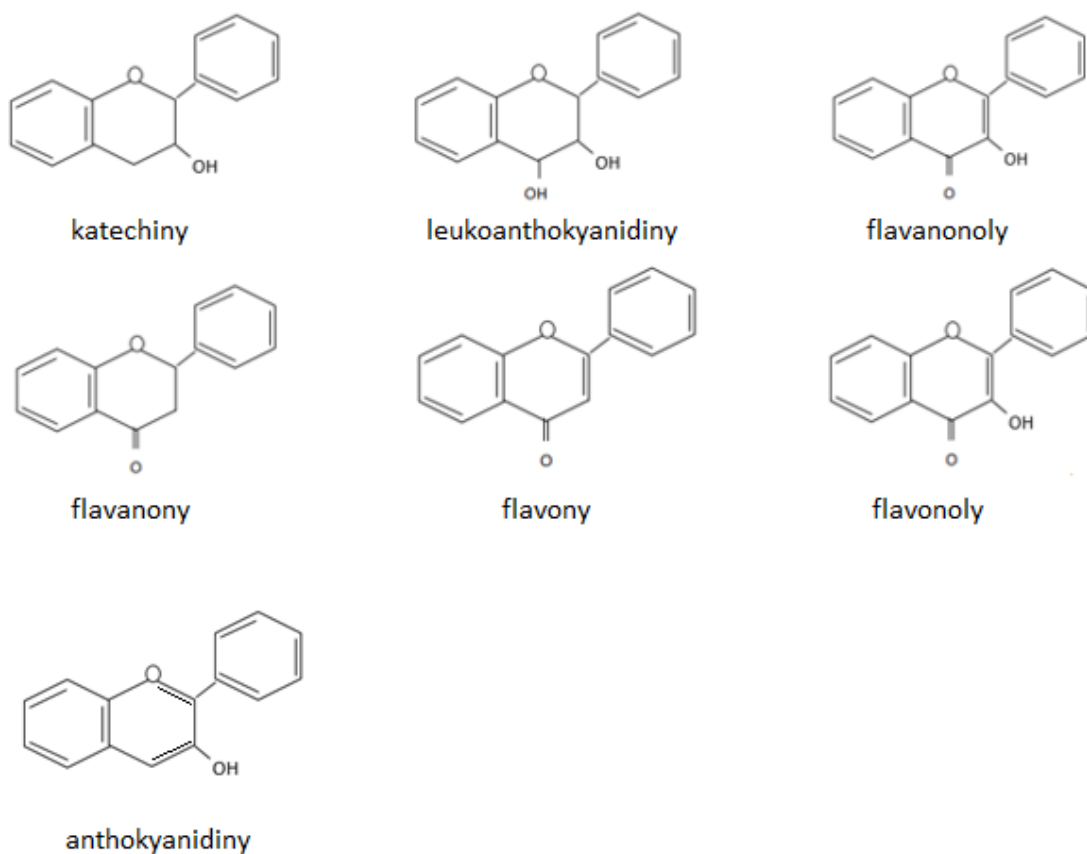
Flavonoidy se jen zřídka vyskytují volně, častěji jsou vázané ve formě glykosidů, které jsou složeny z cukerné a necukerné složky, tzv. aglykonu. Aglykonem bývá nejčastěji hydroxysloučenina (Velíšek J., Hajšlová J., 2009). Cukernou složku tvoří ve formě O-glykosidů nejčastěji D-glukóza, L-rhamnóza, D-galaktóza, D-xylóza, D-apióza nebo D-glukuronová kyselina (Bartl et al., 2015).

2.2 Klasifikace flavonoidů

Flavonoidy byly klasifikovány do různých skupin dle stupně oxidace a substituce tříuhlíkatého řetězce. Velíšek, J. a Cejpek, K. (2009) je dělí do těchto skupin:

- 1) katechiny (flavan-3-oly)
- 2) leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly)
- 3) flavanony
- 4) flavanonoly
- 5) flavony
- 6) flavonoly
- 7) anthokyanidiny

Základní struktura flavonoidních látek je zobrazena na obrázku 3. Dané sloučeniny jsou seřazeny podle oxidačního stupně, jehož hodnoty v řadě se zvyšují zleva doprava a v jednotlivých sloupcích si je oxidační stupeň roven. Stejně pravidlo platí i pro intenzitu zbarvení.



Obrázek 3. Struktura flavonoidů (Velišek J., Cejpek K., 2008).

Flavonoly

Flavonoly představují jednu z hlavních skupin flavonoidů (Seleem et al., 2016), především proto, že to jsou nejstarší a nejrozšířenější zástupci této skupiny sloučenin. Syntetizovány jsou u mechů a kapradin, a ovlivňují širokou škálu fyziologických aktivit (Winkel-Shirley, 2002). Flavonoly byly nalezeny v jablkách, banánech, cibuli, čaji a červeném víně. Do skupiny flavonolů patří kvercetin, myricetin, keampferol a galangin (Seleem et al., 2016).

Flavony

Základní strukturu flavonů charakterizuje keto skupina na čtvrtém uhlíku a dvojná vazba mezi druhým a třetím uhlíkem. V přírodě se vyskytující flavony jsou například apigenin, luteolin, tangeritin, chrysin, 6-hydroxyflavon, baicalein, scutelarein a wogonin. Mechanismus účinku této skupiny látek spočívá v přímé inhibici efluxní pumpy, která je zodpovědná za vylučování škodlivých látek z buňky, což vede k buněčné smrti nebo také k programované buněčné smrti, tzv. apoptóze (Seleem et al., 2016).

Flavanoly

Flavanoly, též známe pod názvem flavan-3-oly, obsahují hydroxylovou skupinu na třetím uhlíku. Sloučeniny patřící do této skupiny jsou nazývány katechiny, které jsou přítomny především v *Camellia sinensis* (Seleem et al., 2016).

Flavanony

Flavanony jsou v potravinách zastoupeny v relativně malém množství a jako barviva nemají prakticky žádné využití. Nejčastěji se s nimi můžeme setkat v citrusových plodech. Mezi významné aglykony, vyskytující se u pomerančů, patří hesperetin a u grapefruitů naringenin (Valíšek J., Hajšlová J., 2009).

2.3 Flavonoidy a jejich pozitivní účinky

Flavonoidy hrají důležitou roli jak pro rostliny, tak i pro člověka. Díky jejich pozitivním účinkům na lidské zdraví se stávají velmi atraktivními sloučeninami v lidské výživě, a proto budí čím dál tím větší zájem jak pro vědce, tak i pro potravinářský průmysl (Haytowitz et al., 2013). V dřívějších studiích se vědci zaobírali dietní anomálií, kterou pojmenovali „francouzský paradox“. Tento jev byl jako první pozorován u Francouzů, později byl také objeven u dalších středozezemních populací. Tento jev byl zkoumán podrobněji a epidemiologické studie objevily, že strava bohatá na flavonoidy koreluje s dlouhověkostí a snižuje výskyt kardiovaskulárního onemocnění, bez ohledu na to, že francouzská i jiné středozezemní populace přijímají vysoký obsah tuků (Procházková et al., 2011). Můžeme tedy říci, že vysoký obsah flavonoidů v červeném víně, ale také konzumace olivového oleje, čerstvého ovoce a celková středozezemní strava dokáže redukovat negativní účinky nasycených tuků, které tyto přímořské populace tak často konzumují. Důkazem je fakt, že u Francouzů

žijících v jižní části Francie je velmi nízký výskyt srdečních chorob, a to i přes jejich stravu bohatou na nasycené tuky, nízkou pohybovou aktivitu a kouření (Petroni et al., 2014).

Flavonoidy jsou skvělými antioxidanty se značnou antioxidační kapacitou (Haytowitz et al., 2013). Procházková et al. (2011) ve své studii zmiňuje jeden z mnoha návrhů definic pro pojem antioxidant, který zněl takto: „za antioxidant je považována jakákoliv látka, která oddaluje, předchází nebo odstraňuje oxidační poškození v cílové buňce“. Fyziologická role těchto sloučenin, tak jak definice navrhuje, je zejména zabránění poškození buněčných organel, ke kterým může dojít při chemických reakcích zahrnujících volné radikály. Z chemického hlediska volný radikál představuje jakoukoliv molekulu, atom či iont s nepárovými elektrony ve valenční sféře, schopný alespoň krátkodobé samostatné existence (Pláteník, 2009). Uvádí se, že antioxidační kapacita flavonoidů je mnohonásobně vyšší, než je tomu například u vitamínů C a E. Flavonoidy dokáží předcházet poškozením, která jsou způsobena působením volných radikálů, a to následujícími mechanismy:

1. Přímým pohlcováním reaktivních forem kyslíku*
2. Aktivací antioxidačních enzymů
3. Chelatační aktivitou s kovem
4. Redukcí α -tokoferolových radikálů
5. Redukcí oxidáz
6. Zmírněním oxidačního stresu způsobeným oxidem dusnatým
7. Zvyšováním hladiny kyseliny močové
8. Zvyšováním antioxidačních vlastností u nízkomolekulárních antioxidantů

(Procházková et al., 2011).

* Reaktivní formy kyslíku (ROS; reactive oxygen species), někdy též označovány jako základní volné radikály kyslíku, jsou v podstatě meziprodukty redukce kyslíku na vodu. Dostane-li kyslík v těle jen jeden elektron namísto čtyř, vznikne kyslíkový radikál, konkrétně superoxid $O_2\cdot$ (Pláteník, 2009).

3 Antokyany

3.1 Obecná charakteristika

Antokyany nebo také anthokyaniny jsou velice početně rozsáhlou skupinou ve vodě rozpustných rostlinných barviv. Doposud bylo v přírodě identifikováno asi 300 různých antokyanů (Velíšek J., Hajšlová J., 2009). Název antokyany je odvozen od řeckého slova „*anthos*“ = květina a „*cyan*“ = modrá. V průběhu posledních desetiletí vzrostl zájem o tyto sloučeniny spadající do skupiny flavonoidů, zejména kvůli jejich pozitivním účinkům na lidské zdraví (Smeriglio et al., 2016).

Antokyany jsou zodpovědné za modré a červené zbarvení téměř u všech bobulovitých plodů, jako jsou například borůvky, brusinky, hrozny, maliny, černý rybíz, ale také třešně, pomeranče, lilky a brambory (Valls et al., 2009). Antokyany přítomné v ovoci či zelenině mohou být odvozené buď od jediného anthokyanidinu, jako je tomu například u jablek, nebo od několika různých anthokyanidinů jako u černého rybízu, kde se vyskytuje jak derivát kyanidinu, tak i delfinidinu (Velíšek J., Hajšlová J., 2009).

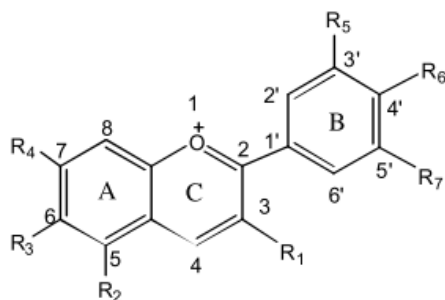
Významnou vlastností antokyanů je antioxidační aktivita, která vykazuje preventivní účinky u nervových a kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny a cukrovky (Huskinson et al., 2014). Tyto vlastnosti, které jsou velmi cenné, vyzdvihují důležitost přítomnosti antokyanů a zvyšují snahu o to, aby byly obsaženy v základních obilovinách, které tvoří značnou část jídelníčku dnešní populace (Bustos et al., 2012).

Denní příjem antokyanů v lidské stravě je poměrně variabilní a závisí na stravovacích návycích dané populace. Odhadovaný denní příjem antokyanů u dospělých Američanů je kolem 12,5 mg/den. U Evropanů se pohyboval od 19,8 mg/den až do 64,9 mg/den. Nejvyšší denní příjem antokyanů byl zaznamenán u Italů, což je přičítáno jejich středomořské stravě a konzumaci kvalitních červených vín (Smeriglio et al., 2016).

3.2 Chemická stavba a výskyt antokyanů

Chemická stavba je odpovědná za stabilitu, intenzitu zbarvení a potenciální biologickou aktivitu (Mora-Rochín et al., 2016). Obrázek 4 zobrazuje chemickou stavbu

antokyanů sestávající z dvou aromatických jader (A a B), které jsou spojeny heterocyklickým cyklem (C).



Obrázek 4. Chemická stavba antokyanidinů (Huskinson et al., 2014).

Antokyanany patří do skupiny glykosidů, které jsou složeny z cukerné a necukerné části. Necukerná složka, tzv. aglykon, představuje anthokyanidiny. Stavba anthokyanidinů je založená na flaviliovém nebo 2-fenylbenzopyrylovém iontu (Huskinson et al., 2014) a na přítomnosti hydroxylové a methoxylové skupiny (Guo et Ling, 2015). Anthokyanidiny jsou považovány za základní strukturu antokyanů (Huskinson et al., 2014). Uvádí se, že v přírodě existuje celkem 17 různých anthokyanidinů. Pro tyto sloučeniny je typická substituce hydroxylové skupiny v poloze C-4'. Methoxyskupiny se pak mohou vyskytovat v polohách C-5, C-7, C-3' a C-5'. Větší význam v potravinách se přisuzuje pouze šesti zástupcům anthokyanidinů s hydroxyskupinou v poloze C-3. Jedná se o:

- kyanidin (název je odvozený od latinského názvu chrpy, *Cyanus spp.*)
- pelargonidin (pelargonie, *Pelargonium spp.*)
- peonidin (pivoňky, *Paeonia spp.*)
- deflinidin (stračky, *Delphinium spp.*)
- petunidin (petunie, *Petunia spp.*)
- malvidin (sléz, *Malva spp.*), dříve zvaný oenidin.

Do skupiny anthokyanidinů patří další, avšak méně významní zástupci, jimiž jsou: apigeninidin, tricitinidin, aurantinidin, osinisin, pulchellidin, europinidin, hirsutidin a kapesinidin.

Antokyanany se dále dělí dle složitosti jejich struktury. Za jednoduché antokyanany jsou označovány ty, které podléhají esterifikaci jedním nebo několika sacharidy. V případě, že antokyanany kromě sacharidů obsahují také acylovanou skupinu, jsou označovány jako acylované antokyanany (Cortés et al., 2006). Složitější antokyanany se vyskytují ve formě glykosidů,

jejichž cukerná složka je tvořena D-glukózou, L-ramnósou, D-xylózou, L-arabinósou nebo L-rutinózou (Bartl et al., 2015). Vazebné místo pro sacharidy je vždy poloha C-3, v případě, že je glykosylována ještě další hydro skupina, jedná se nejčastěji o hydroxyl na C-5. Volná hydroxyskupina na C-3 způsobuje narušení stability antokyanidinového chromoforu, tedy atomové skupiny odpovědné za zbarvení sloučeniny. Za rychlý rozklad anthokyanidinu a nevratné ztráty barvy je odpovědná hydrolýza cukru vázaného jako O-glykosid na C-3. Existuje několik skupin antokyanů, které se liší v počtu vázaných molekul cukru:

- 1) Monosidy s glukózou, galaktózou, rhamnósou nebo arabinózou v poloze C-3
- 2) Biosidy s disacharidy
- 3) Triosidy s lineárními nebo rozvětvenými trisacharidy vázanými v poloze C-3
- 4) 3,5-diglykosidy
- 5) 3,7-diglykosidy
- 6) 3-biosidy-5-monosidy (Velíšek J. Hajšlová J., 2009).

3.3 Antokyanany jako barviva

Huskinson et al. (2014) se ve své studii zmiňuje o Paulingu (1938), který jako první objevil, že za zbarvení antokyanových molekul je zodpovědná struktura flavyliového iontu. Výsledná barva antokyanů je do značné míry ovlivněna také barvou aglykonů – anthokyanidinů. Anthokyanidiny se ve volné formě v rostlinných pletivech vyskytují jen v nepatrném množství, a to pouze jako produkty hydrolýzy antokyanů nebo z leukoanthokyanidinů. Za hlavní pigmenty ve všech rostlinných materiálech se považují glykosidy a acylované glykosidy anthokyanidinů (Velíšek J. Hajšlová J., 2009).

Výsledné zbarvení antokyanů je závislé na prostředí, ve kterém se antokyanany vyskytují. V kyselém prostředí, kdy hodnoty pH dosahují nízkých hodnot, se antokyanové pigmenty barví do červena, při středních hodnotách pH je jejich zbarvení namodralé a při vysokých hodnotách pH antokyanany nevykazují zbarvení žádné (J. Li et al., 2011).

Antokyanany díky své nezávadnosti a organoleptickým vlastnostem jsou využívány jako přírodní barviva v potravinářském průmyslu k vytvoření pestrých a zároveň atraktivních produktů (Valls et al., 2009). Své zbarvení propůjčují různým druhům želé, nápojům či bonbónům (Yang et Zhai, 2010). Některé studie ale uvádějí, že použití antokyanů jako přírodního barviva stále není tak běžné, jako použití syntetických barviv. Je to především z toho důvodu, že při zpracování potravin je zbarvení antokyanů velmi citlivé na změnu pH, tlaku a teploty, a v tom spočívá jejich omezené použití (Valls et al., 2009).

4 Antokyany v obilovinách

4.1 Pšenice

Ve světě se pšenice řadí mezi základní zdroj potravy a je považována za jeden z důležitých zdrojů škrobu a bílkovin. Pyšní se také svým potenciálem snižovat riziko oxidativního stresu, který je spojován s chronickými chorobami, ale také s chorobami souvisejícími se stárnutím, jako jsou například kardiovaskulární onemocnění, cukrovka typu II, ale také obezita a různé typy rakoviny. Tyto zdraví prospěšné účinky se přičítají obsahu fytochemických látek, které v posledních letech vzbudily značný zájem výzkumných pracovníků a také výrobců potravin (Yu et Beta, 2015).

Pšenice se může vyskytovat v různých barevných provedení, za které jsou zodpovědné přírodní pigmenty, zejména antokyany a karotenoidy. Tyto pigmenty se též podílejí na antioxidační aktivitě u zbarvených druhů pšenice. Většina autorů tvrdí, že za červené a žluté zbarvení zrn pšenice jsou zodpovědné karotenoidy, zejména xantofyly a flavony, naopak modré a fialové zbarvení pšenici propůjčují antokyany. V modré a fialové pšenici byl objeven tentýž antokyan kyanidin-3-glukosid. Stejní autoři rovněž objevili, že kyanidin-3-glukosid má dominantní zastoupení ve fialové pšenici. Později bylo ve fialové pšenici identifikováno třináct antokyanů jako 3-O-glycosidy, mezi nimiž měl stále nejvyšší zastoupení kyanidin-3-glukosid, dále kyanidin-3-galaktosid, malvidin-3-glukosid a v nepatrném množství byl zastoupen i pelargonidin-3-glukosid a další antokyany glykosylované arabinózou. Podobné výsledky byly také zaznamenány u fialové pšenice rodu *Chaloral*, zatímco u červené pšenice *Red Fife* nebyl identifikován žádný obsah antokyanů (Bartl et al., 2015). Další studie se zabývaly bezbarvou odrůdou *Ölands hvede*, u které byla naměřena 4x nižší koncentrace antokyanů než u odrůdy *Indigo* a 8x nižší než u *Konini* (Yu et Beta, 2015).

Pigmenty antokyanů se mohou vyskytovat v různých částech rostlin. Antokyany u pšenice jsou přítomny především v oplodí nebo v aleuronové vrstvě. Ludwig Wittmack jako první v roce 1879 představil veřejnosti fialová zrna pšenice, která shromáždil botanik Johann Maria Hildebrandt během své cesty do východní Afriky v letech 1872–1873. Modrá odrůda pšenice byla vyvinuta v první polovině 20. století. Za zdroj modré aleuronové vrstvy je považována pšenice jednozrnka *Triticum boeoticum* Boiss. nebo *Triticum monococcum* L. Důvodem křížení těchto obilovin byla zejména rezistence vůči chorobám, teplotní adaptabilita a zlepšení vlastností a výnosu pšenice (Syed Jaafar et al., 2013).

4.2 Rýže

Rýže je další plodinou, u které je možné pozorovat širokou škálu zbarvení. Jedná se především o bílou, červenou a dokonce i černou barvu. V případě odstranění rýžových otrub dochází k odbarvení zrna, jako příklad se uvádí mletá a leštěná rýže. V následující studii byl porovnáván obsah antokyanů u černé, bílé a červené rýže. Měřením bylo zjištěno, že antokyanany byly identifikovány pouze u černé rýže. Jak lze vyčíst z tabulky 1, tak 97 % antokyanů bylo identifikováno v otrubách černého zrna, zatímco v embryu obsah antokyanů dosáhl jen 3 %. V černé rýži byl nejvíce zastoupen kyanidin-3-glukosid, peonidin-3-O-glukosid a kyanidin-3-rutinosid. Kyanidin-3-glukosid byl identifikován v rýžových otrubách (0,279 mg/g) a v celém zrně rýže (0,057 mg/g). Nejvyšší podíl antokyanů v zrně černé rýže měly kyanidin-3-glukosid (98 %) a peonidin-3-glukosid (93 %). Z tohoto důvodu byly označeny za hlavní antokyanany vyskytující se v černé rýži (Shao et al., 2014).

Tabulka 1. Celkový obsah antokyanů a antokyanová kompozice v různých částech zrna u černé rýže (Shao et al., 2014).

	TAC (mg/g ekvivalent Cy-3-Glu)	Cy-3-Glu (mg/g)	Pn-3-Glu (mg/g ekvivalent Cy-3-Glu)
celé zrno	0,870	0,515	0,143
embryo	0,340	0,116	0,085
endosperm	nd	nd	nd
otruby	6,281	3,576	0,702

(a) Statická významnost na hladině $P < 0,05$

(Cy-3-Glu) Kyanidin-3-glukosid

(Pn-3-Glu) Peonidin-3-glukosid

(TAC) celkový obsah antokyanů

(nd) neidentifikovatelné

Rýže byla klasifikována dle svého zbarvení do 7 skupin: bílá, světle hnědá, skvrnitá hnědá, hnědá, červená, světle fialová a fialová. Mezi nejhojněji pěstovanou rýži patří rýže se světle hnědým zbarvením. Velký zájem byl také projeven o červenou a fialovou rýži kvůli jejich vysokému obsahu fenolických látek.

I další studie se zabývaly obsahem antokyanů u různě zbarvených rýžových zrn. Ve fialovém rýžovém zrně byl jako hlavní antokyan nalezen kyanidin-3-glukosid, jak tomu bylo i u černé rýže. Celkově ve fialové rýži byla naměřena nejvyšší koncentrace antokyanů než u ostatních kultivarů rýže či jiných obilovin (Min et al., 2012).

4.3 Kukuřice

Ve světě existují různé odrůdy kukuřic, které mohou vykazovat bílé, žluté, červené, fialové, hnědé, ale i zelené a modré zbarvení. Jednotlivé antokyany byly nalezeny jak u klasů, semen a listů, tak i u květů fialové kukuřice, vypěstované v pohoří And. V těchto částech rostlin byl nejvíce zastoupen kyanidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid a peonidin-3-glukosid (Yang et Zhai, 2010). Toto tvrzení potvrzují i další studie, ve kterých byl kyanidin označen za významný aglykon, představující 73 – 75,7 % ze všech antokyanů u modrých a fialových kukuřičných odrůd (Mora-Rochín et al., 2016). Bohatý obsah antokyanů byl zaznamenán také u červených, modrých a fialových kukuřic (Del Pozo-Insfran et al., 2006).

4.4 Pohanka

Pohanka se zařazuje k čeledi *Polygonaceae* a spadá do skupiny pseudocereálií, jejíž odrůdy jsou odvozené od rodu *Fagopyrum*. Struktura semen pohanky je do značné míry totožná s ostatními obilovinami, shodují se v obsahu škrobu v endospermu a absenci škrobu v aleuronové vrstvě. Zárodek semene pohanky je umístěn ve středu endospermu. Existují dva zemědělsky významné druhy, jedná se o pohanku obecnou (*Fagopyrum esculentum* Moench) a tatarskou (*Fagopyrum tataricum*). Pohanka tatarská má vyšší koncentraci bioaktivních fotochemikálií a také hořčejší chuť než pohanka obecná, což je přičítáno vyššímu obsahu flavonoidů (Zhu, 2016).

Pohanka tatarská byla podrobena studii, která se zaměřuje na její antokyanový obsah. Ve stoncích, lístcích a klíčcích pohanky tatarské byl pomocí vysoko účinné kapalinové chromatografie a ionizačním elektrosprejem (HPCL-ESI) identifikováno 6,28 mg kyanidin-3-O-glukosidu a 0,17 mg kyanidin-3-O-rutinosidu. Nejvyšší obsah antokyanů byl naměřen u pohanky tatarské (genotyp Hokkai T10), který činil 6,73 mg/g.

Jiné studie se zaměřovaly na obsah antokyanů u pohankových klíčků, u kterých byla identifikována jako hlavní antokyanová sloučenina kyanidin-3-O-rutinosid. V tabulce 2 je znázorněn obsah kyanidin-3-O-rutinosidu v kotyledonu (děložních lístcích) a hypokotylu (podděložním článku) u pohankových klíčků. Z tabulky 2 lze vyčíst, že koncentrace kyanidin-3-O-rutinosidu je vyšší u hypokotylu než u kotyledonu (Watanabe, 2007).

Tabulka 2. Obsah kyanidin-3-O-rutinosidu v kotyledonu a hypokotylu u třech různých vzorků klíčků (Watanabe, 2007).

Vzorek	kyanidin-3-rutinosid (mg/100 g suché hmotnosti)
Kotyledon	
A	14,74
B	7,61
C	1,36
Hypokotyl	
A	44,7
B	65,8
C	18,13

(kotyledon) děložní lístky

(hypokotyl) podděložní článek

Zbarvení pohanky je závislé na abiotických (světlo, ultrafialové záření, teplota..) a biotických faktorech (hladina hormonů v rostlině, stres rostlin...). Tyto faktory totiž regulují expresi genů, které kontrolují syntézu antokyanů. Experiment, který byl proveden, dokázal, že u pohanky tatarské vystavené 4 °C došlo k zvýšené syntéze antokyanů, která se projevila tím, že pohankové děložní lístky měly červenou barvu, za kterou byl zodpovědný kyanidin-3-O-rutinosid. Zelené zbarvení děložních lístků bylo pozorováno u pohanky tatarské, která byla uchovávána při pokojové teplotě (25 °C), tudíž zvýšená syntéza antokyanů zde nebyla nutná (S. J. Li et al., 2015).

5 Tepelné zpracování různých druhů obilovin obsahující antokyany

5.1 Tepelné zpracování kukuřice

5.1.1 Vaření a dušení

Tepelné zpracování kukuřice je důležitým krokem, ve kterém dochází k jejím fyzikálně-chemickým změnám, čímž je pro lidský zažívací trakt snadněji stravitelná (Mora-Rochín et al., 2016). K typickým tepelným přípravám kukuřice patří vaření a dušení. Bylo potvrzeno, že vaření mělo významný dopad na obsah monomerních antokyanů. Vařená rozpůlená jádra dosáhla nejvyššího poklesu koncentrace monomerních antokyanů, a to o 60,7 %; vařené klasy o 31,7 %; rozpůlená dušená jádra o 19,2 % a dušené klasy o 3,5 %. Bylo prokázáno, že vaření i dušení snížilo významně koncentraci kyanidin-3-glukosidu. Nejvyšší pokles kyanidin-3-glukosidu byl zaznamenán u vařených rozpůlených jader, a to o 66,9 %, následovaly vařené klasy 49,2 %, dušená rozpůlená jádra 40,8 % a dušené klasy 31,8 %, viz tabulka 3. Haraktor et al., (2014) se zmiňuje o Xu a Chang (2008), kteří přišli s názorem, že tepelné zpracování nemusí mít vždy za následek destrukci bioaktivních látek, ale v některých případech tepelné zpracování může vyvolat syntézu nových sloučenin a zlepšit antioxidační vlastnosti.

Tabulka 3. Obsah antokyanů u voskové kukuřice při různé tepelné úpravě (Harakotr et al., 2014).

Části kukuřice tepelné zpracování	Sušená jádra	Klas kukuřice		Rozpůlená jádra	
		vaření	dušení	vaření	dušení
<u>Antokyany (µg/g)</u>					
MAC	754,0	514,7	727,9	298,1	609,5
Cy-3-Glu	121,6	61,8	82,9	40,3	72,0
Pg-3-Glu	46,7	35,7	40,7	15,2	37,6
Pn-3-Glu	39,0	23,4	28,9	11,2	24,3

(MAC) obsah monomerních antokyanů

(Cy-3-Glu) Kyanidin-3-glukosid

(Pn-3-Glu) Peonidin-3-glukosid

(Pg-3-Glu) Pelargonin-3-glukosid

Statická významnost na hladině $P < 0,05$

Oproti tomu pelargonidin-3-glukosid vykazoval jen nepatrné zmínky degradace, dokonce v některých případech jeho koncentrace v kukuřičném klasu během vaření i dušení vzrostla. Tento nárůst byl přisuzován absorpci této sloučeniny z vodného výluhu, ve kterém byla kukuřice vařena. Zvýšení koncentrace bioaktivních sloučenin po tepelném ošetření může být vysvětlováno rozpadem molekulární struktury obsahující funkční skupiny, které jsou zodpovědné za lepší uvolňování bioaktivních látek.

Dušení vykazovalo nižší stupeň degradace pelargonidin-3-glukosidu a peonidin-3-glukosidu než u vaření. Po vaření byl obsah antokyanů u klasů lépe zachován než u rozpůlených jader. Protože, když byly jádra z klasů odstraněny, došlo k protrhnutí oplodí, které fungovalo jako bariéra, jež zabraňovala uvolnění antokyanů vodného média. Z tohoto lze usoudit, že loupání, řezání, sekání, krájení, drcení, lisování a prosévání nepřímo ovlivňuje obsah polyfenolických a dostupnost antioxidačních látek (Harakotr et al., 2014).

5.1.2 Nixtamalizace

Nixtamalizace nebo též vaření s vápnem představuje alkalické vaření kukuřičných jader v roztoku hydroxidu vápenatého. Tento proces není zodpovědný jen za fyzikálně-chemické, nutriční a sensorické vlastnosti kukuřičných výrobků, ale také za odstranění oplodí, zlepšení biologické dostupnosti niacinu a zintenzivnění vůně a barvy sloučenin, které dodávají organoleptické vlastnosti těmto produktům a začlenění vápníku do jádra (Del Pozo-Insfran et al., 2006), což má pozitivní přínos pro zachování vápníku u nixtamalizovaných produktů (Cortés-Gómez et al., 2005). Nixtamalizace je využívána k přípravě kukuřičných produktů, jako jsou tortily nebo čipsy. Alkalické pH a vysoká teplota během nixtamalizace jsou dva hlavní faktory negativně ovlivňující množství antokyanů v kukuřičných jádrech. Alkalické pH má totiž za následek, že tyto sloučeniny jsou méně stabilní a více náchylné k degradaci. Dále zásadité prostředí spolu s tepelným zpracováním způsobuje ztrátu oplodí a uvolnění antokyanů do vápenaté tekutiny, tzv. nejayote, což vede až k 83% ztrátám antokyanů (Mora-Rochín et al., 2016). Bylo potvrzeno, že barva nixtamalizované kukuřičné mouky a pokles jejího celkového obsahu antokyanů (TAC) jsou ovlivněny tím, v jaké části kukuřice jsou antokyaniny přítomny. Nejvyšší ztráty byly zaznamenány u vzorků kukuřice, u kterých byly antokyaniny identifikovány v oplodí kukuřice (Cortés et al., 2006).

Zbarvená jádra kukuřice obsahují měkčí endosperm, tudíž není nutná příliš dlouhá doba máčení ani vaření. Bílá jádra mají podstatně tvrdší endosperm, a proto se u nich doba máčení a vaření prodlužuje, dochází pak ke snadnějšímu průniku horkého vápenatého roztoku

a želatinaci škrobu. Také při nixtamalizaci bílých kukuřičných genotypů je vyžadována delší doba a vyšší teplota, což má za následek vyšší ztráty polyfenolických látek (Del Pozo-Insfran et al., 2006).

Cortés et al. (2006) studovali obsah antokyanů u různých druhů kukuřičných mouk s přídavkem hydroxidu vápenatého o odlišné koncentraci. Z tabulky 4 je patrné, že nejvyšší obsah antokyanů byl naměřen u netepelně opracované kukuřičné mouky (F) a u mouky s nulovou koncentrací $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (E). Ze všech tepelně opracovaných vzorků vykazoval vzorek E nejnižší pokles TAC (42,1 %). Z tabulky 4 lze vyčíst, že s rostoucí koncentrací $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se zvyšoval podíl ztrát TAC. Je zajímavé, že vzorky A a B se nijak v obsahu ani ztrátách antokyanů nelišily. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ je zodpovědný za alkalické prostředí, které přispívá hydrataci flavyliového kationtu, což je důsledkem blednutí karbinolu nebo pseudobází.

Tabulka 4. Celkový obsah antokyanů v netepelně zpracované a nixtamalizované mouce s odlišnou koncentrací hydroxidu vápenatého (Cortés et al., 2006).

Vzorek	Proces zpracování	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ (%)	Čas	Teplota	TAC (mg/100g mouky)	Ztráta TAC ve vztahu k SK (%)
A	nixtamalizace po frakcionaci	1,5	45	90	3,913	85,6
B	nixtamalizace po frakcionaci	1	45	90	3,970	85,4
C	nixtamalizace po frakcionaci	0,5	45	90	5,332	80,3
D	tradiční nixtamalizace	1	40	90	4,936	81,8
E	nixtamalizace po frakcionaci	0	45	90	15,758	42,1
F	bez tepelného zpracování	0	0	0	27,177	0

Statická významnost na hladině $P=0,05$

($\text{Ca}(\text{OH})_2$) hydroxid vápenatý

(TAC) celkový obsah antokyanů

(SK) syrová kukuřice

6 Antokyany v pekárenských výrobcích

6.1 Pšeničné výrobky

6.1.1 Chléb

Pšeničná zrna vyžadují určitou úpravu a zpracování před jejich konzumací. Chléb se řadí mezi nejběžnější produkty zpracované z různých druhů obilovin a patří mezi hlavní potravinářské výrobky určené k lidské stravě. Z tohoto důvodu je chléb skvělým adeptem pro přídavné látky s pozitivními účinky na lidské zdraví. Objevuje se stále více důkazů potvrzujících, že pšenice má velký zdravotní potenciál, bylo ale také prokázáno, že průmyslové zpracování pšenice může ohrozit její funkční vlastnosti, což má za následek ztrátu antioxidační aktivity (Yu et Beta, 2015).

Pšenice *Triticum aestivum L.* se vyskytuje v různých barevných variantách, jako je bílá, červená, fialová a modrá. Pečený chléb z bílé a červené pšenice je celkem rozšířený, avšak mouka z fialové či modré pšenice je k pečení chleba použita jen velmi vzácně. Bart et al. (2015) se ve svých studiích věnoval složení a obsahu antokyanů u *Triticum aethiopicum*, a to konkrétně u modré a fialové odrůdy a výrobků z nich zhotovených. U fialové pšenice bylo identifikováno 26 antokyanů a u zrn modré pšenice jen 19. Jako identifikační metoda byla použita kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Celá skupina antokyanů byla odvozena od šesti hlavních aglykonů:

- Pelargonidin
- Kyanidin
- Peonidin
- Delfinidin
- Petunidin
- Malvidin

Z tabulky 5 lze vyčíst, že kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a peonidin 3-rutinosid byly přítomny u obou vzorků pšenice. U vzorku modré pšenice byly identifikovány pouze delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid, zatímco u vzorku fialové pšenice byl nalezen pelargonidin-3-glukosid, pelargonidin-3-rutinosid a peonidin-3-glukosid.

Tabulka 5. Zastoupení antokyanů u fialové a modré pšenice

Modrá pšenice	Fialová pšenice	Modrá i fialová pšenice
delfidin-3-glukosid	pelargonidin-3-glukosid	kyanidin-3-glukosid
delfidin-3-rutinosid	pelargonidin-3-rutinosid	kyanidin-3-rutinosid
	peonidin-3-glukosid	peonidin-3-rutinosid

Bylo objeveno, že modrá pšenice nejvíce obsahuje kyanidinové, delfinidinové, peonidinové, malvidinové a petunidinové glykosidy se dvěma nebo třemi cukernými zbytky. Za použití kyselé hydrolyzy byla identifikována jako hlavní cukerná složka antokyanů ramnóza, rutinóza a glukóza. Galaktóza a arabinóza nebyla detekována ani v jednom ze vzorků. Celkový obsah antokyanů činil 9,26 mg/kg u modré pšenice a 13,26 mg/kg u fialové pšenice. Bylo potvrzeno, že obsah antokyanů u různých druhů pšenice se výrazně liší a může se pohybovat v rozmezí 35 až 507 mg/kg. O jejich obsahu rozhoduje značné množství faktorů, jako jsou povětrnostní a teplotní podmínky, ale také zalévání a sklizňová vlhkost.

Z tabulky 6 lze vyčíst, že u chlebu z modré pšenice, který byl pečený při 240 °C, obsah antokyanů činil 8,33 mg/kg, což představuje 7,1% pokles antokyanů v porovnání s celozrnnou modrou pšeničnou moukou. Chléb z celozrnné fialové pšeničné mouky zaznamenal snížení koncentrace antokyanů o 61 % ve srovnání s celozrnnou fialovou pšeničnou moukou. Vzorky chleba pečené 31 minut při 180 °C vykazovaly vyšší známky degradace antokyanů, než vzorky chleba pečených 21 minut při 240 °C. Z tohoto výsledku lze usoudit, že delší doba pečení má za následek vyšší stupeň degradace (Bartl et al., 2015).

Tabulka 6. Celkový obsah antokyanů v modrém a fialovém celozrnném chlebu (Bartl et al., 2015).

	celozrnná mouka z MP	chléb z MP (240 °C, 21 min)	chléb z MP (180 °C, 31 min)	celozrnná mouka z FP	chléb z FP (240 °C, 21 min)	chléb z FP (180 °C, 31 min)
TAC (mg/kg)	9,26	8,33	5,31	13,23	5,20	3,63

(MP) modrá pšenice

(FP) fialová pšenice

(a) Statická významnost na hladině $P < 0,05$

Bylo prokázáno, že antokyanový obsah se liší v různých částech pečárenských výrobků. Například u chleba připraveného z pšenice *Konini* a *indigo* byl nejnižší obsah

antokyanů naměřen v chlebové kůrce, což se připisuje zvýšené tepelné intenzitě, zatímco střídka chleba, která nebyla tak tepelně zatěžována, vykazovala vyšší obsah antokyanů. Výjimkou byla odrůda *Öelands hvede*, u které byl nejnižší obsah antokyanů naměřen ve střídce chleba. Z tabulky 7 je patrné, že odrůda *Indigo* vykazovala zvýšený obsah antokyanů při celém procesu pečení, kdy se hodnota antokyanů pohybovala od 4,39 do 10,84 mg kyanidin-3-glukosidu na 100 g chleba. Hodnoty pro *Konini* se pohybovaly v rozmezí od 2,33 do 5,61 mg kyanidin-3-glukosidu na 100 g chleba (Yu et Beta, 2015).

Tabulka 7. Celkový obsah antokyanů v bezbarvé a fialové pšenici v různých fázích procesu výroby chleba (Yu et Beta, 2015).

Části přípravy bochníku	Odrůdy pšenice		
	<i>Öelands hvede</i>	<i>Indigo</i>	<i>Konini</i>
mouka *	1,45	10,84	5,61
mísení *	1,06	8,50	4,38
30 min kynutí *	1,35	8,95	5,05
60 min kynutí *	1,39	9,47	5,20
bochník *	1,02	4,85	2,60
bochníková kůrka *	0,86	4,39	2,33
střídka bochníku *	0,55	5,47	2,77

* výsledky byly vyjádřeny v mg/100 g prostřednictvím ekvivalentu kyanidin-3-glukosid statická významnost na hladině $P < 0,05$

6.1.2 Sušenky

K přípravě sušenek byla použita celozrnná mouka z tvrdé fialové pšenice (*Triticum turgidum ssp. Durum*). Celkový obsah antokyanů této celozrnné mouky se shodoval s výroky ostatních autorů. Výrazný pokles v TAC byl zaznamenán u sušenek připravených z fialové celozrnné mouky a běžné bílé mouky. Na snížení TAC měly vliv i ostatní ingredience při přípravě těsta, zejména kvůli ředícímu efektu. Extra panenský olivový olej měl za následek 10% pokles TAC a sacharóza způsobila cca 20% pokles TAC. Dále se pokles TAC přisuzoval účinkům světla, vzduchu a tepelnému zpracování. U sušenek z fialové celozrnné mouky byl zaznamenán výrazný pokles TAC, a to o 16,97 % v porovnání s celozrnnou fialovou moukou. I přes toto snížení TAC, bylo zjištěno, že obsah jednotlivých antokyanů v sušenkách byl velmi podobný antokyanovému zastoupení v celozrnné mouce, viz tabulka 8 (Pasqualone et al., 2015).

Tabulka 8. Celkový obsah antokyanů a antokyanový profil v celozrnné mouce a sušenkách
(Pasqualone et al., 2015).

Bioaktivní látky	Celozrnná mouka		Sušenky	
	Fialová (mg/kg)	Konvenční bílá	Fialová (mg/kg)	Konvenční z bílé mouky
Celkový obsah antokyanů	30,84	nd	13,86	nd
Kyanidin-3-glukosid	7,70	nd	6,81	nd
Peonidin-3-glukosid	0,84	nd	0,58	nd
Malvidin-3-glukosid	0,22	nd	0,21	nd

(a) Statická významnost na hladině $P < 0,0$

6.2 Kukuřičné výrobky

6.2.1 Tortily a čipsy

Kukuřičné tortily představují důležitý zdroj bílkovin, vápníku a vlákniny nejen pro Mexičany a Jihoameričany. Dále jsou velmi populární i další kukuřičné potraviny jako jsou čipsy nebo lupínky (Chávez-Santoscoy et al., 2016).

Del Pozo-Insfran et al., (2007) se ve své studii zabývá obsahem antokyanů u kukuřičných tortil a čipsů připravených již výše zmíněnou nixtamalizací. K výzkumu byla použita bílá a modrá kukuřice z Mexika a Ameriky. K experimentu sloužily 4 vzorky kukuřice: bílá mexická, bílá americká, modrá mexická a modrá americká. U bílé kukuřice pocházející z Ameriky a Mexika, nebyl naměřen žádný obsah antokyanů. Zatímco obsah antokyanů u modré mexické kukuřice činil 342 mg/kg a u modré americké kukuřice 261 mg/kg. Tento rozdíl spočívá v rozdílném životním prostředí a podmínkách pro pěstování. Z výše uvedených vzorků bylo připraveno těsto, které bylo rozděleno na polovinu. Jedna polovina byla okyselená kyselinou fumarovou (0,2 g/100 g) a její výsledné pH bylo 5,2. Do druhé poloviny těsta nebyla přidána žádná okyselující složka, a tato část těsta sloužila jako kontrolní vzorek. Okyselení přispělo ke snížení ztrát antokyanů, a to o 11,7 % u tortil, a o 22,7 % u lupínků z modré mexické kukuřice. U tortil a lupínků z americké modré kukuřice se ztráty antokyanů snížily o 10,7 % a o 11,3 %. Ostatní studie potvrzují, že nixtamalizace bez okyselujících látek způsobuje významný pokles antokyanového obsahu, a to o více než o 54 % zejména u kukuřičných tortil (Mora-Rochín et al., 2016).

7 Degradace antokyanů

Izolované antokyanany patří mezi velmi nestabilní sloučeniny, a tudíž snadno podléhají degradaci. Jejich stabilita je ovlivněna několika faktory, jako je:

- pH
- teplota
- skladování
- chemická struktura
- koncentrace
- světlo
- přítomnost kyslíku, rozpouštědel, enzymů, flavonoidů, proteinů a také kovů.

Vázané antokyanany v podobě aglykonů jsou velmi nestabilní sloučeniny, zatímco volné antokyanany, které se nacházejí v rostlinách, vykazují vyšší odolnost vůči faktorům způsobující degradaci (Manach C, Scalbert A, Morand C, 2004). Snahou vědců je dosažení stability antokyanů, díky které lze plně využít jejich antioxidačních účinků v pekárenských produktech (Huskinson et al., 2014). Degradace je negativní proces, jenž má za následek ztrátu bioaktivity a blednutí antokyanových pigmentů. Dřívější studie ukázaly, že stabilitu antokyanů je možné posílit přidáním určitých látek, jako je například pektin, rutin, organické kyseliny nebo ionty kovů, které interagují s molekulami antokyanů (Chung et al., 2016). Jedná se tedy o intermolekulární kopigmentaci, která je zodpovědná za zvýšení stability antokyanů. Některé vodnaté ovoce, zelenina a obilné extrakty s vysokým antokyanovým zastoupením obsahují směsi různých sloučenin, které mohou sloužit jako kopigmenty pro intermolekulární asociaci s antokyanany. Ne však všechny sloučeniny jsou této kopigmentace schopné. Hydratace má značnou převahu nad kopigmentací, což může být důvodem, proč účinky kopigmentace nemají vliv na stabilitu antokyanů během tepelných procesů (Hou et al., 2013). Další možností, jak zabránit degradaci antokyanů je esterifikace s různými organickými (citrónovou či jablečnou) a fenolickými kyselinami (Manach C, Scalbert A, Morand C, 2004).

Prvním znakem degradace je otevření centrálního kruhu C (viz obrázek 3), což je následováno hydrolýzou molekuly, čímž antokyanové pigmenty ztrácí své zbarvení (Harakotr et al., 2014).

Nedávné studie potvrdily, že acylované antokyanany jsou stabilnější v průběhu zpracování a skladování než ostatní přírodní pigmenty. Tyto antokyanany si udržují své zbarvení

i při vyšších hodnotách pH a jsou odolnější vůči ostatním faktorům, jako je teplo a světlo, než jejich neacylované analogy. Bylo potvrzeno, že acylované antokyany jsou přítomny ve velkém množství v pigmentované kukuřici a jsou vhodné nejen pro potraviny s nízkým pH, ale i pro neutrální a mírně zásadité produkty (Žilić et al., 2016).

Bylo objeveno, že stabilita antokyanů je závislá na faktoru pH. Antokyany v kyselém prostředí jsou zcela stabilní, v neutrálním se jejich stabilita snižuje a v zásaditém prostředí jejich stabilita podléhá totální degradaci. I přes toto tvrzení bylo potvrzeno, že některé acylované antokyany jsou stabilní i při hodnotě pH vyšší než 7, ačkoliv stabilita kyanidin-3-glukosidu klesá, když je hodnota pH vyšší než 5 (Cortés et al., 2006).

Bylo zjištěno, že pečení negativně ovlivňuje zastoupení antokyanů v různých pekárenských produktech. Hlavní příčinou poklesu antokyanů je mísení s dalšími ingrediencemi, čímž se snižuje koncentrace antokyanů. Kynutí způsobuje uvolnění antokyanů a dochází k postupnému zvyšování TAC. Tento efekt lze pozorovat ve 30. a 65. minutě kynutí, kdy dochází ke zvýšení TAC až o 19 % ve srovnání s okamžikem krátce po smísení ingrediencí. Samotné pečení má za následek pokles TAC u chleba z fialové pšenice až o 54 % u odrůdy *Konini* a o 55 % u odrůdy *Indiga*. Tento výsledek se shoduje i s dalšími studiemi, které uvedly, že antokyany jsou relativně nestabilní a často podléhají degradaci při zpracování. Byla zkoumána stabilita antokyanů při různých teplotách a zjistilo se, že při zvýšení teploty z 65 °C na 95 °C dochází ke zvyšování jejich degradace (Yu et Beta, 2015). V jiných studiích se ale můžeme setkat s tvrzením, že teplota pečení není tak významným faktorem pro degradaci antokyanů jako doba pečení viz kapitola 6.1.1. (Bartl et al., 2015).

Vzhledem k tomu, že teplota a doba expozice jsou dva klíčové faktory ovlivňující stabilitu antokyanů, tak různé typy pecí s různými koeficienty přestupu tepla h mohou ovlivňovat retenci antokyanů během pečení. Z tohoto důvodu byly sledovány tři typy průmyslových pecí a to:

- boxová ($h = 62 - 83 \text{ kJ h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)
- konvektomat ($h = 170 - 172 \text{ kJ h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)
- sázecí ($h = 248 - 252 \text{ kJ h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)

Je zřejmé, že hodnota h je nejnižší pro boxovou pec, která má relativně chudou konvekční účinnost přenosu tepla v důsledku špatné cirkulace vzduchu. Při tomto pokusu byl sledován obsah antokyanů během pečení sušenek z kukříčné mouky obohacené o antokyany ve třech různých typech pecí s ohledem na kyselost prostředí. V tabulce 9 je znázorněn celkový obsah antokyanů v závislosti na pH, teplotě, času a druhu peci.

Tabulka 9. Celkový obsah antokyanů a pH ovlivněný kyselým prostředím a typy pecí (J. Li et al., 2011).

Druh pece	Teplota (°C)	Čas (min)	pH těsta	pH sušenek	TAC těsta (mg/kg)	TAC sušenek (mg/kg)
sázecí	179	4	6,39	6,49	236,9 ± 4,8	210,6 ± 4,4
sázecí	179	4	6,89	7,18	236,5 ± 9,4	210,0 ± 4,0
sázecí	179	4	5,04	5,05	261,1 ± 10,7	213,5 ± 6,8
boxová	204	10	6,40	6,57	235,0 ± 4,1	193,4 ± 6,7
boxová	204	10	6,81	7,28	243,3 ± 5,8	183,5 ± 5,7
boxová	204	10	5,05	5,13	270,5 ± 4,9	202,5 ± 4,1
konvektomat	182	4	6,40	6,71	235,0 ± 4,1	222,2 ± 6,1
konvektomat	182	4	6,81	7,31	243,3 ± 5,8	220,4 ± 1,7
konvektomat	182	4	5,05	5,15	270,5 ± 4,9	227,7 ± 3,4

(TAC) celkový obsah antokyanů

Z tabulky je patrné, že nejvyšší obsah antokyanů byl naměřen u sušenek s přidavkem kyseliny citrónové, která ve všech případech snížila hodnotu pH v průměru na 5,11 (J. Li et al., 2011).

7.1 Vliv degradace na intenzitu zbarvení

Obecně je intenzita antokyanového zbarvení přičítána rezonantní struktuře flavyliového iontu. Jedním z faktorů ovlivňujícím intenzitu zbarvení je skladování, které může mít za následek blednutí barev. Tyto negativní dopady poté omezují trvanlivost komerčních produktů a také budoucí aplikaci antokyanů do potravinářských výrobků (Chung et al., 2016).

Studie, zabývající se zlepšením stability antokyanů, objevily, že vlastnosti syrovátkového proteinu a arabské gumy by mohly zlepšovat stabilitu antokyanových pigmentů a tím zabránit jejich blednutí. Naopak kyselina askorbová, která je často zahrnuta v potravinách představující zdroj vitamínu C, podporuje blednutí antokyanového zbarvení. Rovněž ostatní studie potvrdily, že stabilita antokyanů je redukována přítomností kyseliny askorbové. V přítomnosti kyseliny askorbové docházelo k blednutí antokyanových pigmentů, což je možné vysvětlit dvěma možnými mechanismy. Buď mohlo docházet ke kondenzační reakci mezi antokyanem a kyselinou askorbovou, nebo k autooxidaci kyseliny askorbové generující volné radikály, které štěpí flavyliové jádro antokyanů (Chung et al., 2016).

Různí autoři přišli s tvrzením, že zvýšená teplota podporuje tvorbu chalkonů, které zapříčiňují ztrátu antokyanového zbarvení (Cortés et al., 2006).

8 Antokyany a jejich vliv na zdraví

Antokyany jsou zodpovědné za vysokou antioxidační aktivitu a bylo prokázáno, že snižují riziko rakoviny tlustého střeva, vykazují prevenční účinky proti srdečnímu poškození, obezitě a cukrovce a působí protizánětlivě (Harakotr et al., 2014).

Vědci prováděli pokusy na krysách a zjistili, že u krys krmených kukuřicí obohacenou o antokyany se množství tkáně poškozené vlivem ischemických stavů snížilo přibližně o 30 % v porovnání s krysami krmenými kukuřicí bez přídavku antokyanů. Srdeční ochrana je spojená se zvýšenou hladinou glutathionu a omega-3 mastných kyselin v krvi, což naznačuje, že příjem antokyanů ve stravě má pozitivní vliv na kardiovaskulární systém a přeměnu kyseliny α -linolenové na omega-3 mastné kyseliny. Další experimenty prováděné na krysách potvrdily, že u krys, jejichž strava byla po dobu 12 týdnů obohacována extraktem z fialové kukuřice, došlo k výraznému poklesu tělesné hmotnosti a redukci tuků (Petroni et al., 2014).

V posledních letech nadváha a obezita u populace dosáhla pandemické úrovně, což vede k dramatickému zvýšení výskytu *diabetes mellitus* (cukrovky II. typu). Životní styl a stravovací návyky jsou hlavní faktory, které zapříčiňují vývoj a progresi obezity a *diabetes mellitus*. Bylo zjištěno, že denní příjem 22,3 mg antokyanů má pozitivní účinky na snižování rizika vzniku *diabetes mellitus* (Guo et Ling, 2015).

Bylo prokázáno, že u čínské populace, jejichž strava obsahuje vyšší příjem antokyanů, byla naměřena vyšší koncentrace HDL cholesterolu, což se odráží na lepším lipidovém profilu (Guo et Ling, 2015).

8.1 Antokyany jako antioxidanty

Volné radikály (viz kapitola 2.3) patří mezi hlavní původce degenerativních onemocnění (Harakotr et al., 2014), jako je stárnutí, ateroskleróza, cukrovka, vysoký tlak a rakovina (Urias-Lugo et al., 2015). Strava bohatá na antioxidanty může vykazovat zdraví prospěšné účinky. Antioxidanty totiž přispívají ke zmírnění oxidačního stresu tím, že zabraňují volným radikálům poškozovat DNA, bílkoviny a tuky (Harakotr et al., 2014). Další studie se shodují, že antioxidační schopnosti antokyanů dokáží předcházet či léčit různé typy degenerativních onemocnění (Urias-Lugo et al., 2015). Antioxidační vlastnosti antokyanů jsou přisuzovány jejich molekulové struktuře, zejména hydroxylovým skupinám navázaných na kruzích A, B a C (Guo et Ling, 2015). Účinky tepelného zpracování vůči antioxidantům jsou obecně považovány za destruktivní (Del Pozo-Insfran et al., 2006).

Různá měření potvrdila, že koncentrace antokyanů souvisí s antioxidační kapacitou. Obsah antokyanů ve fialové pšenici je soustředěn ve vnějších vrstvách, ve kterých byla naměřena 3-5x vyšší antioxidační kapacita u mouk s nižším stupněm vymletí. Z toho vyplývá, že čím jemněji jsou zrna rozemleta, tím antioxidační kapacita klesá (Ficco et al., 2016).

Dewanto et al. (2002) tvrdí, že antioxidační kapacita obilnin je do jisté míry ovlivněna tepelným ošetřením při zpracování potravin. Další autoři tento fakt potvrzují, ale uvádějí, že dalším důležitým faktorem pro zachování antioxidační kapacity jsou rozpouštědla, používaná pro extrakci vzorku. Li et al. (2007) se ve svých výzkumech zabýval tím, jak tepelné zpracování ovlivní antioxidační kapacitu fialových zrn pšenice a antioxidační kapacitu muffinů z ní připravených. K tomuto pokusu zvolil tři různá rozpouštědla: 100% methanol, 36,5% methanol: 38% HCl v poměru 99:1 a 95% ethanol:HCl v poměru 99:1. ORAC (oxygen radical absorbance capacity) test slouží k měření relativní síly antioxidantů, které ochraňují biologické molekuly před útoky volných radikálů. Vysoké hodnoty naměřené v ORAC testu znamenají i vysokou antioxidační kapacitu v extraktu vzorku. Hodnoty pro ORAC test u pšenice bez tepelného ošetření dosahovaly 25,31 mg/g v methanolu; 52,49 mg/g v methanolu:HCl a 89,15 mg/g v ethanolu:HCl a u pšenice tepelně ošetřené bylo naměřeno 24,35 mg/g v methanolu, 58,54 mg/g v methanolu:HCl a 84,44 mg/g v ethanolu:HCl. Z těchto výsledků lze vyčíst, že nejvyšší hodnoty byly naměřeny ve vzorcích, které byly extrahovány pomocí ethanolu:HCl, a tudíž tyto vzorky vykazují i nejvyšší antioxidační kapacitu. Zajímavé je, že nedávné studie tvrdí, že vzorky extrahované v 50% acetonu nabývají vyšších hodnot ORAC než rozpouštědla s ethanolem. U fialové pšenice tepelně ošetřené a neošetřené bylo naměřeno 1,035 mg/g a 1,155 mg/g v ethanolu:HCl. Tyto hodnoty dokazují, že u pšenice tepelně upravené nedošlo k příliš významné degradaci antokyanů. Naopak tomu bylo u muffinů připravených z pšeničné fialové mouky, u kterých nebyla naměřena žádná koncentrace antokyanů, tudíž jejich antioxidační kapacita byla též nulová. To se přičítá degradaci těchto látek během pečení. Je zřejmé, že tepelné zpracování (177 °C, 7–12 minut) vedlo k úplné destrukci antokyanů, a tudíž i k jejich antioxidační kapacitě.

9 Extrakce antokyanů

Antokyanany jsou polární sloučeniny, a proto jsou rozpustné především v polárních rozpouštědlech. Pro extrakci antokyanů jsou používána methanolová, acetonová (Da Costa et al., 2000), ethanolová (Castañeda-Ovando et al., 2009) a acetonitrilová rozpouštědla (Kožmiński et Maria Oliveira Brett, 2006). Antokyanany jsou nejběžněji extrahovány z rostlinných materiálů za pomoci metanolu, který obsahuje nízkou koncentraci kyseliny chlorovodíkové či mravenčí. Přítomností anorganických (kyselina trifluoroctová, fosforečná, chloristá) nebo organických (kyselina mravenčí, octová) kyselin (Kožmiński et Maria Oliveira Brett, 2006) u daných rozpouštědel je docíleno snížení pH, což poskytuje preventivní účinky při degradaci neacylovaných antokyanových pigmentů (Da Costa et al., 2000). Nicméně i velmi nízká koncentrace kyseliny (0,12 mol/l) v daném rozpouštědlu může způsobovat částečnou nebo úplnou hydrolýzu acylovaných skupin u acylovaných antokyanů. Aceton je využíván k extrakci antokyanů z různých rostlinných zdrojů. V porovnání s okyseleným methanolem je extrakce acetonem efektivnější, vyhýbá se totiž problémům s pektiny a teplota vzorků je mnohonásobně nižší (Da Costa et al., 2000).

I v dalších studiích, které se zabývaly extrakcí antokyanů z červeného hroznového vína, byl však methanol označen za nejúčinnější rozpouštědlo, dosáhl totiž o 20 % vyššího výtěžku, než tomu bylo u ethanolu, a o 73 % vyššího výtěžku než u vody. Nicméně, methanol je z důvodu jeho toxicity v potravinářském průmyslu často zaměňován právě za ethanol (Huskinson et al., 2014).

10 Analytické metody antokyanů

Existuje celá řada analytických metod, které jsou určeny k charakterizaci antokyanů. Mezi nejběžnější se řadí techniky spektrofotometrické a chromatografické (Valls et al., 2009). Některé chromatografické techniky, jako je papírová (PC), tenkovrstvá (TLC) a kolonová (CC), nejsou dostatečně citlivé, aby rozlišily stopové koncentrace různých fytochemikálií. Plynová chromatografie (GC) tento požadavek splňuje, ale použití této metody je poněkud omezené vzhledem k těkavosti některých antioxidačních sloučenin. Chromatografická metoda HPLC byla označena za nejspolehlivější systém pro separaci fytochemikálií, do kterých se též řadí i antokyanů (Tsao et Deng, 2004).

Metoda HPLC je většinou doprovázena dalšími detekčními metodami, které slouží k efektivnější identifikaci antokyanů. Antokyanů jsou schopné absorbovat ultrafialové záření (UV), a tudíž k identifikaci antokyanů je velmi často používány detektor ultrafialového záření (UV). Nicméně populární jsou i další identifikační techniky, jako je hmotnostní spektrofotometrie (MS), detektor s diodovým polem (DAD) a elektrochemický detektor (ED). HPLC s ED je citlivější, selektivnější a má nižší detekční limit než u detekce s diodovým polem (DAD) (Koźmiński et Maria Oliveira Brett, 2006).

10.1.1 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) je jednou z nejpoužívanějších analytických metod pro separaci a charakterizaci fenolických sloučenin, tudíž i antokyanů. Reverzní fáze kapalinové chromatografie (LC) je nejčastěji používaná metoda pro separaci antokyanů. Z důvodu, že každá laboratoř se snaží o rozvoj analytických metod prostřednictvím specifického separačního vybavení, je nemožné popsat jediný standardní postup. Nicméně některé podmínky zůstávají u separačních metod zachované.

Separace strukturně podobných antokyanů a ostatních fenolických sloučenin je založená na elučním gradientu a na mobilní fázi, ve které bývá nejčastěji použito methanolové či acetonitrilové rozpouštědlo (Koźmiński et Maria Oliveira Brett, 2006). Hodnoty faktoru pH v elučním systému se běžně pohybují pod hodnotou 2, které je dosaženo pomocí organických či anorganických kyselin (viz kapitola 9). Zda-li se hodnoty pohybují pod 3,2 pH, tak antokyanů mohou existovat ve dvou vzájemně přeměnitelných formách, a to jako červený flavyliový kationt, nebo jako různé modré chinoidní formy. Uvádí se, že 96 % antokyanů při hodnotě pH 1,5 se vyskytuje ve formě flavyliového kationtu, při hodnotě pH 2,5 je to jen

67 % (Da Costa et al., 2000). Eluční pořadí antokyanů je obvykle založeno na počtu hydroxylových skupin a jejich stupni methoxylace. Za obvyklých podmínek je eluční pořadí antokyanů následovné: delfinidin < kyanidin < petunidin < pelargonidin < peonidin < malvidin (Da Costa et al., 2000). S cílem zlepšit separaci antokyanů byly testovány nové typy kolon. Valls et al. (2009) ve své studii uvádí, že McCallum et al. (2007) dosáhl efektivnější separace antokyanů smíšením několika režimů kolon. Jednou z nich byla Prime-Sep kolona, jejíž účinek byl založen nejen na reverzní fázi HPCL, ale i na iontové výměně. Za použití Prime-Sep kolony bylo identifikováno celkem 37 antokyanových píků, což bylo podstatně více než u konvenční kolony C18 (cca 27 píků). Při separaci antokyanů mohou být využívány i polystyrenové kolony, ale v praxi se nejběžněji volí kolony typu C18 (Da Costa et al., 2000). Pro separační metodu HPLC není důležitý jen průměr kolony, ale také její konstrukce. Různí autoři se zmiňují o monolitických kolonách, které jsou tvořeny z jednoho kusu porézního materiálu. Nahrazením konvenčních kolon za monolitické lze dosáhnout kratší doby inkubace, vyššího průtoku a rychlejší ekvilibrace, která souvisí s vyšší rozpustností vzorků (Valls et al., 2009).

10.1.2 LC-MS

LC-MS je kombinace separační techniky LC s hmotnostní spektrofotometrií (MS) (Da Costa et al., 2000). Selektivita a citlivost MS umožňuje identifikaci antokyanů na základě hmotnosti jejich molekulárních iontů a počtu uvolněných fragmentů. Uvolnění těchto fragmentů je způsobeno dostatečnou ionizační energií (Escribano-Bailón et al., 2004). Počet a druh uvolněných fragmentů závisí na tom, zda se antokyanů vyskytují ve formě monoglykosidů, diglykosidů či boisodů. U antokyanů, u kterých proběhla substituce jednoho cukru na C3, byl objeven jeden hlavní iont, který odpovídal nejen aglykonu, ale také píku při určité efektivní rychlosti (m/z ; hmotnost a náboj) molekulárního iontu. V případě diglykosidů se substitucí cukrů na C3 a C5 bude detekováno několik iontů, a to ionty odpovídající aglykonu a ionty odpovídající substituovanému antokyanu (Escribano-Bailón et al., 2004).

Hmotnostní spektrofotometrie (MS) se může využívat buď offline jako samostatný nástroj, nebo online pomocí chromatografických či elektroforetických technik. Součástí MS je iontový zdroj sloužící k převedení analytu do ionizovaného stavu. U molekul antokyanů je nejčastěji využívána elektrosprejová ionizace (ESI), která má za úkol převádět již nabitě ionty z kapalně polární fáze do plynné fáze (Tsao et Deng, 2004).

Da Costa et al., (2000) se ve své studii zmiňuje o Baldi et al., (1995), kteří použili metodu LC-MS s APCI (Atmospheric Pressure Ionization) k analýze antokyanů ve slupce

červených hroznů. Okyselený ethanolický extrakt z červených hroznů byl separován organickou kyselinou, a tak byl získán vzorek, který kromě antokyanů neobsahoval žádné další sloučeniny. Antokyany byly z extraktu separovány pomocí třístupňového lineárního gradientu prostřednictvím vodního, methanolového, acetonitrilového rozpouštědla o průtoku 1,5 ml/min. Průtok rozpouštědel byl rozdělen v poměru 1:25, aby odpovídal rychlosti 60 μ l/min. Ionizační technikou bylo celkem identifikováno 19 derivátů kyanidinu, petunidinu, malvidinu, delphinidinu a peonidinu. Hmotnostní spektrofotometrií byly znázorněny píky molekulárních iontů spolu s fragmenty, které odpovídaly aglykonu. V případě acylace byly další fragmenty zaznamenány při hodnotách m/z, které odpovídaly ztrátě acylované skupiny z molekulárního iontu. V tabulce 10 je přehledně znázorněný výběr kolon, které sloužily k identifikaci antokyanů u různých experimentů.

Tabulka 10. LC-MS analýza antokyanů za použití odlišných typů kolon (Valls et al., 2009).

Typ kolony	Rozpouštědlo	Detekce	TAC
LiChrospher 100 RP-18 250×10 mm; 10 μm	A: voda/KM 90:10 B: metanol/H ₂ O/KM 50:40:10	HPLC-DAD-ITMS	22
Novapack C18 250×4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O/AcN 95:5 B: voda/AcN 50:50 pH 1,3 s TFA	HPLC-PDA-QMS	20
C18 250 × 4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O/KM/AcN 87:10:3 B: H ₂ O/KM/AcN 40:10:50	HPLC-DAD-ITMS	13
Capcell Pak C18 150x 4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O /TFA 0,1% B: AcN/H ₂ O 50:50, 0,1% TFA	LC-PDA-QMS	-
Novapack C18 150x3,9 mm	A: H ₂ O/KM 90:10 B: H ₂ O/methanol/KM 45:45:10	HPLC-PDA-QMS	21
Symesty C18 75x4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O, 1% KM B: AcN	HPLC-DAD-ITMS	15
Novapack C18 150x3,9 mm; 4 μm	A: H ₂ O/KM 90:10 B: H ₂ O/methanol/KM 45:45:10	HPLC-DAD-QMS	-
Symmetry C18 250x4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O/ 1% KM B: AcN	HPLC-DAD-ITMS	-
Luna C18 250x4,6 mm; 5 μm	A: H ₂ O/KM 90:10 B: Ac/ KM 90:10	HPLC-DAD-QMS	-
Symmetry C18 150x3,0 mm; 5 μm	A: H ₂ O/KM 95:5 B: methanol/KM 95:5	HPLC-DAD-QMS	-

(AcN) acetonitril

(KM) kyselina mravenčí

(ITMS) ionizační past hmotnostní spektrofotometrie

(QMS) čtyřpólový hmotnostní analyzátor

(DAD) detektor diodového pole

(HPLC) vysokoúčinná kapalinová chromatografie

(LC) kapalinová chromatografie

(PDA) detektor diodového pole

(H₂O) voda

10.1.3 UV-Vis detektor

Spektrum absorbance UV-Vis (ultrafialového – viditelného) detektoru u antokyanů poskytuje informace o povaze aglykonu, glykosylace a možnosti acylace. Jednotlivé detektory jsou schopné monitorovat antokyanu o vlnové délce 520 až 546 nm, při které nelze identifikovat žádné další fenolické látky (Da Costa et al., 2000).

10.1.4 Metody diodového pole (DAD)

HPCL-DAD je jednou z důležitých separačních technik, která slouží k identifikaci fytochemikálií, tedy i antokyanů. Princip DAD je založen na detekci a záznamu chromatografů fytochemických látek o různé vlnové délce. Tato vlastnost výrazně zvyšuje výkonnost systému při oddělování několika látek v jednom vzorku (Tsao et Deng, 2004).

10.1.5 Protiproudá chromatografie (CCC)

Protiproudá chromatografie je využívána k frakcionaci a izolaci nativních antokyanů z různých zdrojů. Při CCC antokyanů jsou vždy používány směsi polárních rozpouštědel. Často je do těchto směsí přidávána kyselina trifluoroctová, která snižuje pH antokyanů a rovnováha antokyanů se posune ve prospěch flavyliového iontu, čímž dojde k zlepšení separace antokyanů. Čím více jsou rozpouštědlové systémy hydrofobní, tím spíše umožňují eluci diglukosidních a polymerních antokyanů, zatímco monomerní antokyanů zůstávají ve stacionární fázi. V případě použití méně hydrofobního rozpouštědla mohou být monomerní antokyanů vymývány i v mobilní fázi. Separace antokyanů je závislá na stupni substituce v kruhu B (viz obr. 3) a na povaze substituentů. Dále byla také zjištěna závislost kruhu B na pořadí eluce. Antokyanů, které jsou substituovány na kruhu B (delfinidin, petunidin a malvidin), jsou vymývány přednostně, než ty antokyanů, které substituovány nebyly (Valls et al., 2009).

10.1.6 Kapilární elektroforéza CE

Kapilární elektroforéza je poměrně nový analytický nástroj s vynikající hmotnostní citlivostí, vysokým rozlišením, nízkou spotřebou vzorku a s minimálním odpadem z rozpouštědla. Da Costa et al., (2000) se zmiňuje o Bridle (1996), který použil kapilární zónovou elektroforézu (CZE), díky níž provedl separaci antokyanů z jahod a bezinek. Autor použil klasickou křemenovou kapiláru a jako tlumící prvek zvolil boritan. Hodnota pH činila 8. Použitelnost této metody je limitována zejména antokyanovou nestálostí v bazickém prostředí. Mimoto důležité ionty nemohou absorbovat světlo při 580 nm. Tento nedostatek absorpance antokyanových iontů snižuje citlivost této detekční metody.

11 Závěr

Antokyany jsou přírodní sloučeniny, které jsou významné především svými antioxidačními vlastnostmi, které vykazují preventivní účinky u řady onemocnění (*diabetes mellitus*, obezita, kardiovaskulární a karcinogenní onemocnění). Denní příjem antokyanů je ve světě značně rozdílný, nejvíce jsou antokyany přijímány v oblasti Středomoří, nejméně pak v severských oblastech. Z tohoto důvodu je tu snaha o zvýšení koncentrace antokyanů v obilovinách, které jsou běžně dostupné po celém světě.

Mezi 4 nejčastěji se vyskytující antokyany u obilovin patří kyanidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid a delphinidin-3-glukosid. Kyanidin-3-glukosid je označen jako dominantní antokyan u fialové pšenice rodu *Triticum aestivum L.* a u odrůdy *Chaloral*. Bezarává odrůda *Öelands hvede* dosahovala 4x nižší koncentrace antokyanů než odrůdy *Indigo* a 8x nižší než u *Konini*. U fialové pšenice bylo identifikováno až 26 antokyanů. Výsledky potvrdily, že TAC u fialové pšenice se může pohybovat od 35 až 507 mg/kg. Tento značný rozdíl je přisuzován odlišným podmínkám pěstování. Významný obsah antokyanů byl též naměřen v otrubách černé a fialové rýže. U černé rýže byl kyanidin-3-glukosid a peonidin-3-glukosid označen za dominantní antokyany. Ve fialové rýži převládal též kyanidin-3-glukosid.

Způsob tepelného zpracování má výrazný vliv na degradaci antokyanů. Vysoká teplota a alkalické prostředí při nixtamalizaci (vaření s vápnem) může způsobit až 83% ztráty antokyanů. Dále bylo zjištěno, že čím vyšší je koncentrace $\text{Ca}(\text{OH})_2$, tím je koncentrace antokyanů u nixtamalizovaných produktů nižší. Okyselení při nixtamalizaci přispělo ke snížení ztrát antokyanů, a to o 11,7 % u tortil a o 22,7 % u lupínků z modré mexické kukuřice. U tortil a lupínků z americké modré kukuřice se ztráty antokyanů snížily o 10,7 % a o 11,3 %. Další typický způsob tepelného zpracování představuje vaření a dušení. Vařená rozpůlená jádra kukuřice dosáhla nejvyššího poklesu koncentrace monomerních antokyanů, a to o 60,7 % a vařené klasy kukuřice o 31,7 %. Pokles koncentrace monomerních antokyanů při dušení byl podstatně nižší než u vaření. Dušená rozpůlená jádra kukuřice zaznamenala ztráty o 19,2 % a dušené klasy o 3,5 % monomerních antokyanů. Zajímavé je, že při vaření a dušení pelargonidin-3-glukosid nevykazoval žádnou degradaci, ale naopak jeho koncentrace se zvýšila. Není zřejmé, zda vyšší degradaci antokyanů způsobuje doba či teplota pečení. V jistých studiích se uvádí, že doba pečení je dominantním faktorem degradace antokyanů. Toto tvrzení potvrzují vzorky chleba, které byly pečeny při 180°C po dobu 31 minut. U těchto vzorků byla pozorována vyšší degradace antokyanů (5,31 mg/g u MP; 3,63 mg/g FP) než

u vzorků chlebů pečených při 240°C 21 minut (8,33 mg/g u MP; 13,23 mg/g u FP), jiné studie toto tvrzení nesdílí a označují teplotu za hlavní faktor degradace antokyanů.

Stabilita antokyanů je ovlivněna dalšími faktory, jedním z nich je i hodnota pH. Bylo potvrzeno, že v kyselém prostředí je stabilita antokyanů nejvyšší, naopak zásadité prostředí způsobuje jejich totální degradaci. Výjimku představují acylované antokyany, které jsou stabilní i při hodnotách pH vyšších než 7. S degradací antokyanů je též spojeno blednutí těchto přírodních pigmentů. Nedávné studie objevily potenciál syrovátkového proteinu a arabské gummy, jejichž vlastnosti by v budoucnu mohly mít pozitivní dopad na blednutí antokyanového zbarvení.

12 Seznam použité literatury

- Bartl, P., Albrecht, A., Skrt, M., Tremlová, B., Ošťádalová, M., Šmejkal, K., Vovk, I., Ulrih, N. P. 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. doi: 10.3109/09637486.2015.1056108.
- Bustos, D. V., Riegel, R., Calderini, D. F. 2012. Anthocyanin content of grains in purple wheat is affected by grain position, assimilate availability and agronomic management. *Journal of Cereal Science*. 55 (3). 257–264. doi: 10.1016/j.jcs.2011.12.001.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113 (4). 859–871. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001.
- Cortés-Gómez, A., Martín-Martínez, E. S., Martínez-Bustos, F., Vázquez-Carrillo, G. M. 2005. Tortillas of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: Analysis using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 66 (3). 273–281. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.03.018.
- Cortés, G. A., Salinas, M. Y., Martín-Martínez, E. S., Martínez-Bustos, F. 2006. Stability of anthocyanins of blue maize (*Zea mays* L.) after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions. *Journal of Cereal Science*. 43 (1). 57–62. doi: 10.1016/j.jcs.2005.05.003.
- Da Costa, C. T., Horton, D., Margolis, S. A. 2000. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 881 (1–2). 403–410. doi: 10.1016/S0021-9673(00)00328-9.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldívar, S. O., Talcott, S. T. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*. 39 (6). 696–703. doi: 10.1016/j.foodres.2006.01.014.
- Del Pozo-Insfran, D., Serna Saldívar, S. O., Brenes, C. H., Talcott, S. T. 2007. Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chemistry*. 84 (2). 162–168. doi: 10.1094/CCHEM-84-2-0162.
- Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C. 2004. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*. 1054 (1–2). 129–141. doi: 10.1016/j.chroma.2004.08.152.
- Ficco, D. B. M., De Simone, V., De Leonardis, A. M., Giovanniello, V., Del Nobile, M. A.,

- Padalino, L., Lecce, L., Borrelli, G. M., De Vita, P. 2016. Use of purple durum wheat to produce naturally functional fresh and dry pasta. *Food Chemistry*. 205 . 187–195. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.014.
- Guo, H., Ling, W. 2015. The update of anthocyanins on obesity and type 2 diabetes: Experimental evidence and clinical perspectives. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 16 (1). 1–13. doi: 10.1007/s11154-014-9302-z.
- Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M. P., Lertrat, K. 2014. Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking. *Food Chemistry*. 164 . 510–517. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.069.
- Haytowitz, D. B., Bhagwat, S., Holden, J. M. 2013. Sources of Variability in the Flavonoid Content of Foods. *Procedia Food Science*. 2 . 46–51. doi: 10.1016/j.profoo.2013.04.008.
- Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., Ren, G. 2013. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International*. 50 (2). 691–697. doi: 10.1016/j.foodres.2011.07.037.
- Huskinson, B., Marshak, M. P., Suh, C., Er, S., Gerhardt, M. R., Galvin, C. J., Chen, X., Aspuru-Guzik, A., Gordon, R. G., Aziz, M. J. 2014. A metal-free organic-inorganic aqueous flow battery. *Nature*. 505 (7482). 195–8. doi: 10.1038/nature12909.
- Chávez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Perez-Carrillo, E. 2016. Production of maize tortillas and cookies from nixtamalized flour enriched with anthocyanins, flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats. *Food Chemistry*. 192 . 90–97. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.113.
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., McClements, D. J. 2016. Stabilization of natural colors and nutraceuticals: Inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. *Food Chemistry*. 212 . 596–603. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.025.
- Jiang, W., Wei, H., He, B. 2015. Dietary flavonoids intake and the risk of coronary heart disease: A dose-response meta-analysis of 15 prospective studies. *Thrombosis Research*. 135 (3). 459–463. doi: 10.1016/j.thromres.2014.12.016.
- Koźmiński, P., Maria Oliveira Brett, A. 2006. Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection of Anthocyanins. *Analytical Letters*. 39 . 2687–2697. doi: 10.1080/00032710600824805.
- Li, J., Walker, C. E., Faubion, J. M. 2011. Acidulant and oven type affect total anthocyanin content of blue corn cookies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91 (1). 38–43. doi: 10.1002/jsfa.4173.

- Li, S. J., Bai, Y. C., Li, C. L., Yao, H. P., Chen, H., Zhao, H. X., Wu, Q. 2015. Anthocyanins accumulate in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) sprout in response to cold stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 37 (8). doi: 10.1007/s11738-015-1913-9.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, et al. 2004. Bioavailability, Polyphenols: Food sources and. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 79 . 727–747. doi: 10.1038/nature05488.
- Min, B., Gu, L., McClung, A. M., Bergman, C. J., Chen, M. H. 2012. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. *Food Chemistry*. 133 (3). 715–722. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.079.
- Mora-Rochín, S., Gaxiola-Cuevas, N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Milán-Carrillo, J., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Serna-Saldivar, S. O., Cuevas-Rodríguez, E. O. 2016. Effect of traditional nixtamalization on anthocyanin content and profile in Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landraces. *LWT - Food Science and Technology*. 68 . 563–569. doi: 10.1016/j.lwt.2016.01.009.
- Pasqualone, A., Bianco, A. M., Paradiso, V. M., Summo, C., Gambacorta, G., Caponio, F., Blanco, A. 2015. Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat. *Food Chemistry*. 180 . 64–70. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.025.
- Petroni, K., Pilu, R., Tonelli, C. 2014. Anthocyanins in corn: a wealth of genes for human health. *Planta*. 240 (5). 901–911. doi: 10.1007/s00425-014-2131-1.
- Pláteník, J. 2009. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní Medicína pro Praxi*. 11 (1). 30–33.
- Procházková, D., Boušová, I., Wilhelmová, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82 (4). 513–523. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018.
- Seleem, D., Pardi, V., Murata, R. M. 2016. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-*Candida albicans* activity in vitro. *Archives of Oral Biology*. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.08.030>.
- Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., Beta, T. 2014. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*. 59 (2). 211–218. doi: 10.1016/j.jcs.2014.01.004.
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., Trombetta, D. 2016. Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytotherapy Research*. 1286 (April). 1265–1286. doi: 10.1002/ptr.5642.

- Syed Jaafar, S. N., Baron, J., Siebenhandl-Ehn, S., Rosenau, T., Böhmendorfer, S., Grausgruber, H. 2013. Increased anthocyanin content in purple pericarp × blue aleurone wheat crosses. *Plant Breeding*. 132 (6). 546–552. doi: 10.1111/pbr.12090.
- Tsao, R., Deng, Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 812 (1–2 SPEC. ISS.). 85–99. doi: 10.1016/j.jchromb.2004.09.028.
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Serna-Saldivar, S. O., Muy-Rangel, M. D., Valdez-Torres, J. B. 2015. Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *CyTA - Journal of Food*. 13 (3). 336–339. doi: 10.1080/19476337.2014.980324.
- Valls, J., Millán, S., Martí, M. P., Borràs, E., Arola, L. 2009. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*. 1216 (43). 7143–7172. doi: 10.1016/j.chroma.2009.07.030.
- Velišek, J., Cejpek K. 2008. Biosynthesis of food components. OSSIS. Tábor. 497. ISBN: 978-80-86659-12-1
- Velišek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin II*. OSSIS. Tábor. 623. ISBN: 978-80-86659-16-9.
- Watanabe, M. 2007. An anthocyanin compound in buckwheat sprouts and its contribution to antioxidant capacity. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 71 (2). 579–582. doi: Doi 10.1271/Bbb.60471.
- Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 5 . 218–223. doi: 10.1016/S1369-5266(02)00256-X.
- Yang, Z., Zhai, W. 2010. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11 (1). 169–176. doi: 10.1016/j.ifset.2009.08.012.
- Yu, L., Beta, T. 2015. Identification and Antioxidant Properties of Phenolic Compounds during Production of Bread from Purple Wheat Grains. *Molecules*. 20 (9). 15525–15549. doi: 10.3390/molecules200915525.
- Zhu, F. 2016. Chemical composition and health effects of Tartary buckwheat. *Food Chemistry*. 203 . 231–245. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.050.
- Žilić, S., Kocadağlı, T., Vančetović, J., Gökmen, V. 2016. Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of

cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT - Food Science and Technology*.
65 . 597–603. doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.057.

13 Seznam použitých zkratek

AcN	acetonitril
APCI	atmosférická tlaková ionizace
Ca(OH) ₂	hydroxid vápenatý
CC	kolonová chromatografie
CCC	protiproudá chromatografie
CE	kapilární elektroforéza
Cy-3-Glu	kyanidin-3-glukosid
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DAD	detektor diodového pole
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ED	elektrochemický detektor
ESI	elektrosprejová ionizace
FP	fialová pšenice
GC	plynová chromatografie
h	přestup tepla
HCl	kyselina chlorovodíková
HDL	vysokodenzitivní lipoprotein
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
ESI	ionizační elektrosprej
ITMS	ionizační hmotnostní spektrofotometrie
KM	kyselina mravenčí
LC	kapalinová chromatografie
MAC	obsah monomerních antokyanů
MP	modrá pšenice
MS	hmotnostní spektrometrie
Nd	neidentifikovatelné
ORAC	schopnost absorpce kyslíkových radikálů
PC	papírová chromatografie
DAD	detektor diodového pole
Pg-3-Glu	pelargonidin-3-glukosid
Pn-3-Glu	peonidin-3-glukosid
QMS	čtyřpólový hmotnostní analyzátor

ROS	reaktivní formy kyslíku
SK	syrová kukuřice
TAC	celkový obsah antokyanů
TLC	tenkovrstvá chromatografie
UV	ultrafialové
Vis	viditelné