

Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
Odbor rostlinolékařství ČAZV
Pícninářská komise ORV ČAZV
Agrární komora ČR

AKTUÁLNÍ POZNATKY V PĚSTOVÁNÍ, ŠLECHTĚNÍ, OCHRANĚ ROSTLIN A ZPRACOVÁNÍ PRODUKTŮ

Úroda 12/2019, vědecká příloha časopisu

 **ČAZV** | ČESKÁ AKADEMIE
ZEMĚĚLSKÝCH VĚD

 **ČTPRB**

Hlavní mediální partneři konference

 **úroda**

 **PP**
ROFI PRESS s.r.o.

**Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
Odbor rostlinolékařství ČAZV
Pícninářská komise Odboru rostlinné výroby ČAZV
Agrární komora ČR**

**Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění,
ochraně rostlin a zpracování produktů**

Úroda 12/2019, vědecká příloha časopisu

Editor:

Ing. Barbora Badalíková

Ing. Ivana Šindelková

Organizační výbor:

Ing. Barbora Badalíková - předseda

Ing. Pavel Kolařík

Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.

Ing. Ivana Šindelková

Mgr. Martin Vašínska

Ing. Karel Vejražka, Ph.D.

Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D.

Vědecký výbor:

RNDr. Jan Nedělník, Ph.D. - předseda

Ing. Barbora Badalíková

doc. Ing. Bohumír Cagaš, CSc.

Ing. Jaroslav Čepl, CSc.

RNDr. Jan Hofbauer, CSc.

Ing. Prokop Šmirous, Ph.D.

Ing. Pavel Kolařík

Ing. Petr Míša, Ph.D.

Ing. Jan Pelikán, CSc.

Ing. Karel Vejražka, Ph.D.

Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D.

Príspevky byly recenzovány členy vědeckého výboru

Doporučená citace příspěvků:

Autoři příspěvků: Název příspěvku. Úroda 12, roč. LXVII, 2019, vědecká příloha, s. od – do

ANTIOXIDAČNÍ POTENCIÁL MOUK PŘIPRAVENÝCH Z VÝLISKŮ VYBRAVÉ SKUPINY OLEJNIN

Antioxidant potential of meals prepared from cakes of chosen oilseed species

Bártová V., Bárta J., Jarošová M., Kopečký J.

Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt

Výliskové mouky čtyř druhů olejnin (len setý, konopí seté, tykev olejná, ostropestřec mariánský) byly analyzovány z hlediska obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity. Hodnoceny byly rozemleté výlisky a mouky rozdělené proséváním do velikostních frakcí nad a pod 250 µm. Nejnižší úroveň obsahu polyfenolů i hodnoty antioxidační aktivity byla stanovena ve výliscích tykve olejně, kde také nebyl zjištěn průkazný rozdíl v uvedených charakteristikách v rámci přípravy mouk. U ostatních hodnocených druhů měla velikostní frakce mouky nad 250 µm nejvyšší hodnotu obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity. Nejvyšší obsah polyfenolových látek a antioxidační aktivita byla stanovena u všech třech variant přípravy mouky z výlisků ostropestřce mariánského. Velmi vysoké hodnoty obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity byly u tohoto druhu zaznamenány zejména u frakce nad 250 µm - obsah polyfenolových látek byl na úrovni 42,18 mg ekvivalent gallové kyseliny/g sušiny a hodnota antioxidační aktivity (ABTS analýza) byla 111 mg ekvivalent askorbové kyseliny/ g sušiny. **Klíčová slova:** antioxidační aktivita, polyfenolové látky, len setý, konopí seté, tykev olejná, ostropestřec mariánský

Abstract

Meal samples prepared from cakes of four oilseed species (flax, hemp, oil pumpkin, milk thistle) were analysed for polyphenol contents and antioxidant activities. We evaluated pulverized cakes and meals prepared by sieving into two size fraction – below and under 250 µm. The lowest values of polyphenolic matters and antioxidant activity was evaluated for cakes of oil pumpkin. No significant variability was found for different methods of meals preparation in polyphenolic matters content and antioxidant activity. The meal size fraction under 250 µm contained the highest value of polyphenolic matters and showed the highest antioxidant activity in the case of other evaluated species. The highest content of polyphenolic matters and the highest antioxidant activity were evaluated for milk thistle in the case of all three variants of meal preparation. Very high values were showed for this species in the case of meal variant under 250 µm – content of polyphenolic matters was 42.18 mg GAE/g dry matter and antioxidant activity (ABTS) was 111 mg AAE/ g dry matter.

Key words: antioxidant activity, polyphenolic compounds, flax, hemp, oil pumpkin, milk thistle

Úvod

Volné radikály mají v živém organismu řadu fyziologických funkcí (např. účast na protizánětlivých reakcích v procesu fagocytózy), ale zároveň se tyto reaktivní látky podílejí na poškození struktur lipidů, bílkovin či nukleových kyselin. Nejčastějším typem radikálů jsou kyslíkové radikály (ROS – reactive oxygen species) a dusíkové radikály (RNS – reactive nitrogen species). Působením na biologicky aktivní látky tyto radikály pozměňují jejich strukturu a tím modifikují jejich funkce. Kaskáda reakcí, na jejich počátku stojí radikály, pak vede ke změně struktur buněk, poškození tkání a funkcí organismu na různé fyziologické a metabolické úrovni (Paulová et al., 2004; Wilson et al., 2017). Přítomnost látek s antioxidační

aktivitou omezuje působení exogenních a endogenních radikálů. Do centra pozornosti se v poslední době dostávají zejména antioxidanty, které se v potravě přirozeně vyskytují. K takovýmto látkám se řadí zejména vitamin E (směs α , β , γ , δ tokoferolů), vitamin C (L-askorbová kyselina), karotenoidy (např. β - a α - karoten, lykopen, lutein, zeaxanthin), flavanoidy a isoflavanoidy, fenolové kyseliny, taniny, lignany, peptidy, aminokyseliny (Shahidi, 1997; Paulová et al., 2004; Wilson et al., 2017).

Výlisky zůstávající po izolaci olejů lisováním a představují z tohoto hlediska zajímavý zdroj biologicky aktivních látek, a to včetně přirozených antioxidantů (Matthäus, 2002). Dostupná jsou data týkající se antioxidační aktivity zbytků po lisování olejů majoritních olejnin, jakými jsou řepka olejka či slunečnice roční. (Thyam et al., 2004; Nagatsu et al., 2004; Kreps et al., 2014). Výlisky minoritních plodin patří k méně prostudovaným, zároveň přítomnost látek s antioxidačním potenciálem je významná i z hlediska stability mouk připravovaných z těchto výlisků (týká se především lnu a konopí). V případě lnu lze za klíčové látky s antioxidační aktivitou považovat především polyfenolové sloučeniny (v rozsahu 790-103 mg/100g) zahrnující chlorogenovou, ferulovou, kumarovou, galovou, kávovou kyselinu a další. Mezi lněné fenoly s antioxidační aktivitou se řadí i lignany, flavonoidy, fenylpropanoidní glykosidy a taniny (Kasote, 2013; Bekhit et al., 2018). Antioxidační aktivita je připisována i lněným bílkovinám a jejich hydrolyzátům (Silava et al., 2013), obdobně jako v případě hydrolýzy konopných bílkovin (Girgih et al., 2013). Z ostatních antioxidantů byly ve výliscích konopí setého popsány polyfenolové látky, a to zejména kávová kyselina, kvercetin a luteolin, z nichž nejvyšší koncentrace a antioxidační aktivita byla zjištěna u kvercetinu (Teh et al., 2014). K dalším látkám přítomným v semeni konopí s antioxidační aktivitou patří α -, γ -, and δ -tokoferoly, a flavanoidy (zejména isoflavony, flavonoly, flavony) (Teh et al., 2014).

Příspěvek se zabývá hodnocením obsahu polyfenolových látek a hodnotou antioxidační aktivity u výlisků získaných během lisování lnu setého, konopí setého, tykve olejné a ostropestřce mariánského.

Materiál a Metody

Analyzovány byly výlisky následujících druhů olejnin: len setý (*Linum usitatissimum*), konopí seté (*Cannabis sativa*), tykev olejná (*Cucurbita pepo* var. *oleifera*) a ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*). Vakuově zabalené výlisky byly získány od firmy AGRO-EL spol. s r.o.. Výlisky byly následně namlety pomocí nožového mlýnu Grindomix GM 200 (Retsch, Německo) při výkonu 10 000 ot/min. po dobu 1 minuty. Část takto získaných mouk byla ponechána jako výlisková mouka a část byla mechanicky rozdělena proséváním na sítěch s velikostí ok 250 μ m, čímž byly získány frakce o velikost nad a pod 250 μ m. Extrakce výlisků pro stanovení celkového obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity byla realizována pomocí 80% etanolu po dobu 24 hodin při pokojové teplotě. Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí dvou metod, z nichž jedna využívá radikál ABTS, druhá pak radikál DPPH. **ABTS analýza:** 54,8 mg ABTS a 1 g MnO₂ bylo rozpuštěno ve 20 ml dH₂O; získaný roztok byl přefiltrován a pomocí 5 mM Na-fosfátového pufru (pH 7,4) byla absorbance roztoku upravena na hodnotu 0,800. Absorbance vzorků byla hodnocena při vlnové délce 734 nm. **DPPH analýza:** 25 mg DPPH bylo rozpuštěno ve 100 ml metanolu a byl vytvořen zásobní roztok. Pracovní roztok DPPH byl vytvořen odebráním 10 ml zásobního roztoku a doplněním metanolem do 100 ml. Absorbance vzorků byla měřena při 515 nm. U obou typů stanovení antioxidační aktivity byla standardem kyselina askorbová a hodnota antioxidační kapacity je vyjádřena jako mg ekvivalent kyseliny askorbové (AAE)/ g sušiny vzorku. **Obsah celkových polyfenolů** byl stanoven spektrofotometricky s využitím Folin-Ciocalteuova činidla. Jako standard byla použita gallová kyselina a výsledky byly vyjádřeny jako mg ekvivalentů gallové kyseliny (GAE) na 1 g sušiny mouky. Metodika stanovení antioxidační aktivity a obsahu celkových polyfenolů byla převzata z práce Lachman a kol. (2006). **Zpracování dat** – všechny

způsoby přípravy mouk a analýz byly provedeny ve třech opakování. Získaná data byla zpracována statistickým programem STATISTICA 12. Dvoufaktorová analýza rozptylu (ANOVA, Tukey HSD test, $p \leq 0,05$) byla použita ke stanovení průkaznosti hodnocených variant pokusu. K hodnocení vzájemného vztahu hodnocených ukazatelů byla použita regresní analýza.

Výsledky a diskuze

Tabulky 1-3 shrnují druhovou variabilitu obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity v rámci odlišných velikostních frakcí mouk připravených z výlisků vznikajících během lisování olejů. Rozemleté výlisky bez další úpravy proséváním obsahovaly 1,53 (tykev) až 31,4 (ostropestřec) mg GAE/ g sušiny polyfenolů. Ekvivalentně byl zjištěn i rozsah ABTS antioxidační aktivity v rozsahu od 4,72 (len) do 94,18 (ostropestřec) mg AAE/ g sušiny. Data ukazují na významnou druhovou variabilitu obsahu polyfenolových látek i antioxidační aktivity, což dokládají i dříve publikovaná data (Teh et al., 2014; Bekhit et al., 2018). Výlisky získané při lisování semen ostropestře mariánského vykázaly nejvyšší hodnotu obsahu polyfenolových látek a s tím související hodnotu antioxidační aktivity v rámci hodnocené varianty přípravy mouk. Tuto vysokou biologickou aktivitu ostropestře lze připisovat zejména obsahu flavonoidních látek, jejichž obsah může představovat až 40 $\mu\text{g/g}$ sušiny (Serçe et al., 2016). Statisticky průkazné rozdíly v obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivitě byly zjištěny i v rámci odlišné úpravy mouk, jak dokládají data uvedená v tabulkách 2 a 3. Proséváním byly odděleny dvě velikostní frakce mouk – frakce nad 250 μm a pod 250 μm . U velikostní frakce mouky lnu a konopí nad 250 μm dochází k statisticky průkaznému navýšení obsahu polyfenolových látek a tedy i antioxidační aktivity. Velmi výrazné toto navýšení bylo zejména u mouky získané při lisování semen ostropestře mariánského. U této velikostní frakce došlo k výraznému navýšení obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity také u mouky připravené ze semen lnu setého a konopí setého, i když tyto rozdíly nebyly tak výrazné, jako v případě mouk připravených ze semen ostropestře. Mouky připravené z tykve olejné vykázaly vlivem velikostní frakcionace mírné navýšení antioxidační aktivity (4,72 vs. 5,66 a 6,74 mg AAE/ g sušiny u výliskové mouky vs. velikostní frakce nad a pod 250 μm). Zjištěné rozdíly však nebyly statistické průkazné a lze konstatovat, že úprava mouky dýně olejné neovlivňuje hodnotu antioxidační aktivity a tato mouka je z hlediska obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity nejslabší. Při srovnání velikostní frakce mouky pod a nad 250 μm je z pohledu obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity vhodnější velikostní frakce nad 250 μm , a to v případě mouk připravených ze semen lnu setého, konopí setého a ostropestře mariánského. Výrazně vyšší antioxidační aktivita byla zaznamenána při hodnocení tohoto ukazatele s radikálem ABTS. Obecně metoda využívající tento radikál je citlivější a dle dostupných dat vykazuje silnou pozitivní korelaci s absorbcí kyslíkového radikálu, obsahem polyfenolových látek a flavanoidů (Floegel et al., 2011). Obdobně byla zjištěna korelace mezi obsahem polyfenolových látek a antioxidační aktivitou u sledovaných vzorků výlisků olejnin, a to na úrovni všech typů přípravy mouky – nejsilnější byl tento vztah ($r=0,9989$; $p \leq 0,000$) u velikostní frakce nad 250 μm .

Tab. 1: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u mouky získané z výlisků studovaných olejnin

Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	6,73 ^b	14,71 ^{bc}	2,58 ^{cd}
Konopí seté	2,94 ^a	8,39 ^{ab}	1,79 ^{abc}
Tykev olejná	1,53 ^a	4,72 ^a	0,97 ^a
Ostropestřec mariánský	31,4 ^c	94,18 ^d	11,73 ^c

Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti $P \leq 0,05$

Tab. 2: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u frakce mouky nad 250 μm získané z výlisků studovaných olejnin

Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	8,14 ^c	19,01 ^c	2,80 ^c
Konopí seté	3,23 ^b	10,20 ^b	2,12 ^{bc}
Tykev olejná	1,48 ^a	5,66 ^a	0,95 ^a
Ostropěstřec mariánský	42,18 ^d	111,09 ^d	11,74 ^d

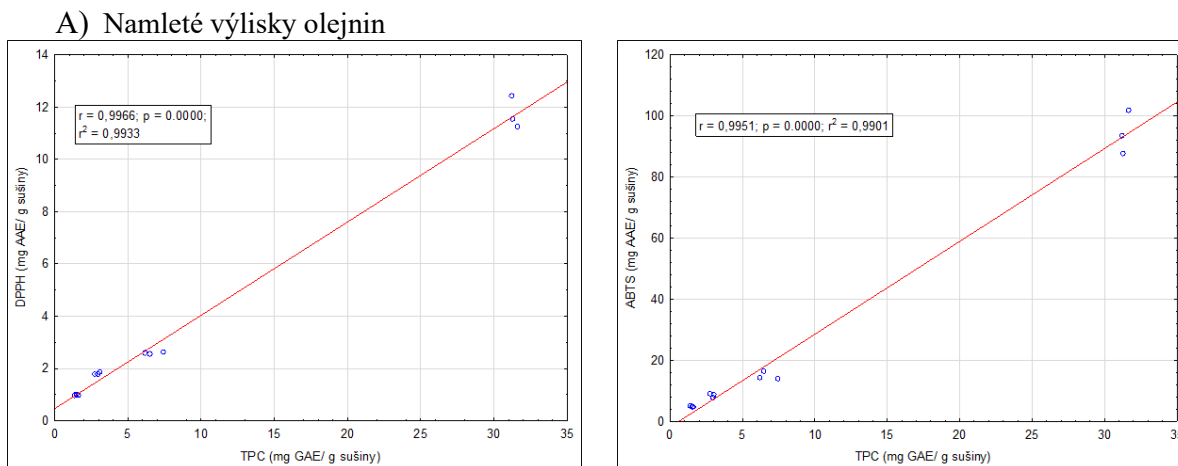
Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti $P \leq 0,05$

Tab. 3: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u frakce mouky pod 250 μm získané z výlisků studovaných olejnin

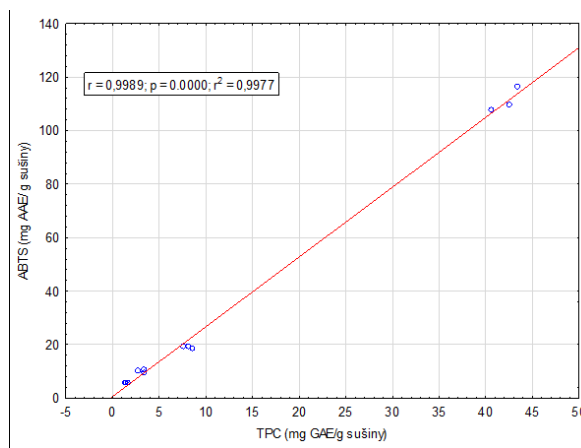
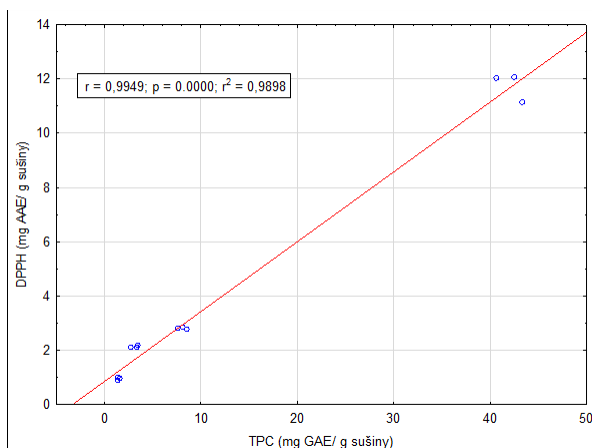
Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	3,94 ^b	8,89 ^{ab}	2,02 ^{bcd}
Konopí seté	2,83 ^a	9,09 ^{ab}	1,35 ^{ab}
Tykev olejná	1,60 ^a	6,74 ^a	0,95 ^a
Ostropěstřec mariánský	18,24 ^c	60,71 ^c	9,94 ^c

Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti $P \leq 0,05$

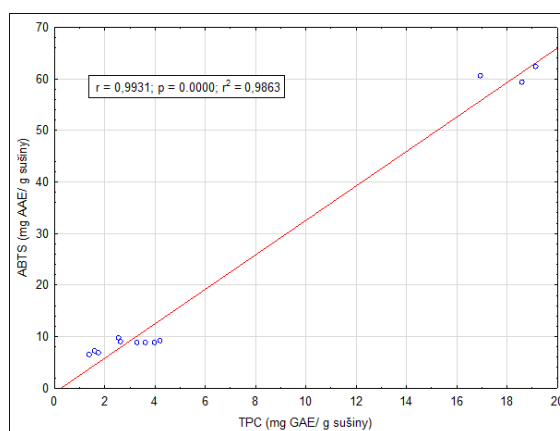
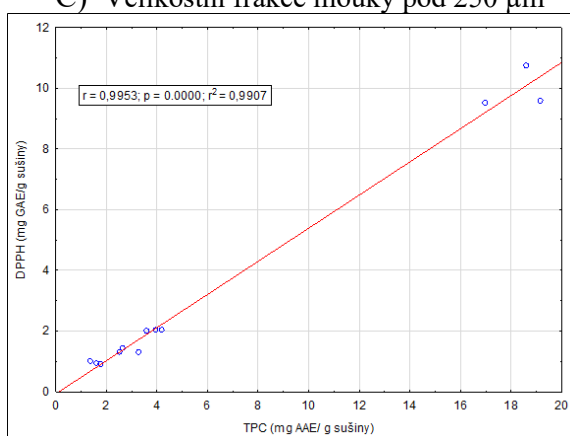
Obrázek 1: Korelační vztahy mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů dle stupně úpravy mouky



B) Velikostní frakce mouky nad 250 μm



C) Velikostní frakce mouky pod 250 µm



Závěr

V rámci hodnoceného souboru materiálů byla zjištěna výrazná odlišnost obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity v rámci hodnocených druhů i v rámci různých typů velikostních frakcí mouk připravených z výlisků olejnin. Nejnižší obsah polyfenolových látek byl zjištěn u výlisků připravených z tykev lejně, a to od 1,48 (mouka nad 25 µm) do 1,60 (frakce pod 250µm) mg GAE/ g sušiny. U tykve olejné nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity dle jednotlivých variant přípravy mouky. Mouka ostropestřce mariánského dosahovala nejvyšší hodnoty obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity. Obě sledované hodnoty byly výrazně ovlivněny proséváním mouky. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u frakce nad 250 µm, která obsahovala 42,18 mg GAE/ g sušiny polyfenolových látek a dosáhla antioxidační aktivity 111,09 mg AAE/g sušiny (ABTS analýza). Antioxidační aktivita (ABTS metoda) výlisků lnu se pohybovala od 8,89 (frakce pod 250 µm) do 19,01 (frakce nad 250 µm) mg AAE/ g sušiny. V případě výlisků konopí setého byl rozsah antioxidační aktivity od 8,39 (mleté výlisky) do 10,20 (frakce nad 250 µm). Z uvedených dat vyplývá význam úpravy mouky olejnin na zvýšení jejich antioxidačního potenciálu a stability.

Dedikace

Práce vznikla v rámci řešení projektu NAZV QK 1910302 a GAJU 027/2019/Z.

Použitá literatura

- Bekhit A.E-D.A., Shavandi A., Jodjaja T., Birch J., Teh S., Ahmed I.A.M., Al-Juhaimi F., Saeedi P., Bekhit A.A. (2018): Flaxseed: composition, detoxification, utilization, and opportunities. *Biocat Agric Biotechnol* 13: 129-152.
- Girgih A.T, Udenigwe C.C., Aluko R.A. (2011): In vitro antioxidant properties of hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate fractions. *J Am Oil Chem Soc* 88:381–389
- Kasote D.M. (2013): Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *IFRJ* 20: 27-34.
- Kreps F., Vrbíková L., Schmidt S. (2014): Industrial rapeseed and sunflower meal as source of antioxidants. *IJERA* 4: 45-54.
- Matthäus B. (2002): Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J Agri Food Chem* 50: 3444-52.
- Nagatsu A., Sugitani T., Mori Y., Okuyama H., Sakakibara J., Mizukami H. (2004): Antioxidants from rape (*Brassica campestris* var. Japonica Hara) oil cake. *Nat Prod Res* 18:231-9.
- Paulová H., Bochořáková H., Táborská E. (2004): Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro, *Chem. Listy* 98, 174 – 179.
- Silva F.G.D., O'Callaghan Y., O'Brien N.M. (2013): Antioxidant capacity of flaxseed products: the effect of in vitro digestion. *Plant Foods Hum Nutr* 68: 24-30.
- Thiyam U., Kuhlmann A., Stöckmann H., Schwarz K. (2004): Prospects of rapeseed oil by-products with antioxidative potential, *Comptes Rendus Chimie* 7:611-616.
- Teh S-S., Bekhit A. E-D., Birch J. (2014): Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants (Basel)* 3(1): 67–80.
- Serçe A., Toptancı B.Ç., Tanrikut S., E., Altaş S., Kizil G., Kizil S., Kizil M. (2016): Assesment of the antioxidant activity of Sylybum marianum seed extract and its protective effect against DNA oxidation, protein damage and lipid peroxidation, *Food Technol Biotechnol* 54: 455-461.
- Wilson D.W., Nash P., Buttar H.S., Griffiths K., Singh R., De Meester F., Horiuchi R., Takahashi T. (2017): The role of food antioxidants, benefits of functional foods, and influence of feeding habits on the health of the older person: an overview. *Antioxidants (Basel)* 6(4): 81.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Veronika Bártová, Ph.D.,
Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Na Sádkách 1780,
37005 České Budějovice,
e-mail: vbartova@zf.jcu.cz.