

## ZDRAVOTNĚ VÝZNAMNÉ LÁTKY V JEČMENI A PIVU

JAROSLAV PRÝMA, PAVLA HAVLOVÁ, JIŘÍ ŠUSTA, RENATA MIKULÍKOVÁ, VÚPS a.s., Sladařský ústav Brno  
JAROSLAVA EHRENBERGEROVÁ, ROSTISLAV NĚMEJC, MZLU Brno

**Klíčová slova:** volné radikály, antioxidanty, vitamin E, tokoferoly, tokotrienoly,  $\beta$ -glukany

### 1 ÚVOD

V současné době je všeobecně přijímán názor, že celkový zdravotní stav organismu i výskyt mnoha onemocnění souvisí se stravovacími zvyklostmi. Je prokázáno, že existuje vysoká souvislost mezi obsahem tuku v lidské stravě a výskytem rakoviny, stejně tak existuje spojení mezi stravou obsahující vysoký podíl vlákniny a nízkým výskytem rakoviny a nemocí zažívacího traktu.

Zdá se, že ani tzv. choroby stárání **nejsou** součástí procesu normálního stárnutí [1]. Rakovina, kardiovaskulární choroby, Alzheimerova choroba a infarkt sužují člověka častěji ve vyšším věku, protože se jim už organismus nedokáže ubránit. Mimo jiné stárne i imunitní systém, přestává být schopen nás účinně chránit a projevují se v něm větší či menší nedostatky. Při výzkumu mechanismu a příčin řady těžkých chorob vzbuzují mimořádnou pozornost teorie, které prokazují, že určité látky v organismu mají schopnost nemoci stárání oddálit, zmírnit či jim zcela předejít.

### 2 VOLNÉ RADIKÁLY

Při studiích teorií stárnutí se lze poměrně často setkat s tzv. „teorií volných radikálů“. **Volné radikály** jsou atomy nebo skupiny atomů, které mohou existovat samostatně a které obsahují alespoň jeden nepárový elektron. Z lékařského hlediska jsou zajímavé především dva typy volných radikálů: hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ) a superoxidový radikál ( $\cdot\text{O}_2$ ). Tyto kyslíkové volné radikály mohou napadnout a poškodit téměř všechny molekuly v lidském těle. Jejich účinek spočívá v tom, že předávají svůj nepárový elektron napadené molekule a zahajují tak řetězovou reakci, která se může prohnat živou tkání a napáchat v ní nesmírnou škodu. Význam teorie volných radikálů podtrhuje zjištění, že tyto volné radikály nejen produkují věkové pigmenty, ale také se podstatně podílejí na vzniku příčných vazeb některých molekul, a jako takové mohou poškozovat řetězce DNA. Volným radikálům lze tedy připsat na vrub i tvorbu neuritických plaků příznačných pro demence Alzheimerova typu. Nejzajímavějším poznatkem, který vyplynul ze zkoumání volných radikálů, však není to, co nám prozrazují o procesu stárnutí, ale to, co nám říkají o nemocech. Byla jednoznačně prokázána negativní úloha volných radikálů při řadě vážných onemocnění [2].

Při ateroskleróze (zúžení tepen) zřejmě volné radikály napadají lipopro-

teiny, které tak mohou proniknout přes vnitřní vrstvy tepenné stěny a uložit svůj náklad cholesterolu pod její povrchovou vrstvu.

Pomocí testování krve metodou elektronové paramagnetické rezonanční spektroskopie byla dokumentována negativní úloha volných radikálů v průběhu srdečního infarktu, kdy dochází k zaplavení postižené oblasti volnými radikály při zprůchodňování zablokované tepny. Nezbytná intenzivní produkce volných radikálů při leukocytové infiltraci může být odpovědná za další poškození srdce. Zdá se, že fagocyty (bílé krvinky) používají volné radikály pro likvidaci následků poškození organismu. Nadbytek volných radikálů produkovaných fagocyty jícími buňkami může však způsobovat další poškození.

Význam volných radikálů ve vztahu k rakovině je mnohem méně objasněn než v případě nemoci tepen a srdce. Kromě velkého množství projektů, zabývajících se rakovinou, existuje též řada výzkumů týkajících se specifické otázky, zda existuje souvislost mezi volnými radikály a rakovinou. V rámci experimentů při výzkumu nádorových onemocnění byly ve stovkách vzorků krve a moči mimo jiné stanoveny sloučeniny nesoucí známky vysokého stupně oxidace, což s účinky volných radikálů souvisí. Jiným důkazem souvislosti rakoviny s působením volných radikálů je stanovení stupně poškození DNA, neboť je známo, že volné radikály mohou způsobit ničivé řetězové reakce ve šroubovici DNA, a takto pozmeněná DNA může být příčinou některých forem rakoviny.

Volné radikály se účastní nebo hrají důležitou roli při mnoha jiných stavech, mezi něž patří poškození červených krvinek, poškození nervových buněk při mozkové mrtvici, stárnutí kůže, oxidace bílkovin čočky při šedém zákalu a podobně.

Obecně lze shrnout, že volné radikály působí pomocí oxidace, přičemž vždy ničí látku, která je oxidována. Oxidace bývá často velmi užitečná – je zdrojem veškeré naší energie a naše tělo se bez ní neobejde. Ale v jiných případech, například když volné radikály poškozují buňky v průběhu nemoci, je tato reakce nežádoucí a organismus se přirozeně snaží oxidaci zastavit. Na tomto místě zasahují látky, které se nazývají **anti-oxidanty**.

### 3 ANTIOXIDANTY

Oxidační reakce volných radikálů mohou být řízeny nebo jim lze zabránit ce-

lou řadou antioxidantních činidel. Jsou to obecně látky, které zpomalují nebo inhibují oxidaci. Z lékařského hlediska se jedná o poměrně nové látky, ale v jiných odvětvích jsou známy již dlouhou dobu. Určitá antioxidantní činidla se přidávají například do potravin, aby se jejich složky nemohly slučovat s kyslíkem (žluknutí tuků), nebo do mazacích olejů, aby zůstaly kompaktní a nevysychaly. Z chemického hlediska je jejich působení stejné jako v lidském organismu – zabraňují tvorbě volných radikálů, nebo je likvidují.

V lidském těle je vytvořen vlastní, přirozený systém pro ochranu proti negativnímu působení volných radikálů. Mezi nejdůležitější antioxidantní činidla v našem těle se řadí některé vitaminy, zejména vitamin E, C a  $\beta$ -karoten (provitamin A). Nedostatek uvedených vitaminů může mít pro organismus katastrofální následky, je však třeba upozornit též na nebezpečí předávkování, závažné zejména v případě  $\beta$ -karotenu. V těle se také vyskytuje řada důležitých enzymů s antioxidantními účinky. Enzymy jsou vysoce aktivní bílkoviny, které urychlují chemickou reakci. Většina dějů, k nimž v organismu dochází, probíhá za přispění enzymů. Nejzajímavější enzym s antioxidantními účinky je superoxidodismutasa (SOD). Jeho objev vzbudil enormní zájem, protože jeho jedinou funkci je přeměňovat nebezpečné superoxidové volné radikály na méně reaktivní peroxid vodíku, zneškodňovaný dalšími enzymy na vodu a kyslík. Zdá se, že déle žijící živočichové mají vyšší hladinu SOD, přičemž nejvyšší hladina tohoto enzymu byla zjištěna u člověka.

Největší pozornost je však upřena na vitaminy, zejména pak na vitamin E. Vitamin E je na rozdíl od vitaminu C rozpustný v tucích, což je obzvláště důležité, protože volné radikály v organismu nejvíce poškozují buněčné membrány a lipoproteiny o nižší hustotě, které ve své molekule obsahují tuky. Jeho úloha při prevenci a léčení řady výše uvedených chorob je prokázána mnoha studiemi. Bylo zjištěno, že vitaminy C, E a  $\beta$ -karoten skutečně poskytují ochranu proti některým formám rakoviny plic, jícnu, žaludku a tlustého střeva. Jednoznačně pozitivní úloha vitaminu E byla prokázána při onemocněním věnčitých tepen, kde je vcelku dobře objasněn mechanismus jeho působení. Jak již bylo zmíněno, hlavním rizikovým faktorem při vývoji plátů, jež zužují průsvit věnčitých tepen a způsobují jejich onemocnění, jsou lipoproteiny s nižší hustotou (LDL,

obsahující cholesterol), pozměněné oxidací volnými radikály. Pokud je vitamin E přidáván buňkám kultivovaným v laboratorních podmínkách, k oxidačním změnám LDL nedochází. Přidáním vitaminu E lze zabránit též řetězovým reakcím, kterým snadno podléhají nenasycené lipidy, citlivé k útokům volných radikálů. Z dalších prokázaných účinků vitaminu E uvedme alespoň jeho úlohu při šedém zákalu, kdy bylo potvrzeno, že nižší koncentrace antioxidačních vitaminů E a  $\beta$ -karotenu v krevním séru jsou rizikovými faktory pro výsledné stadium šedého zákalu.

Bílkoviny, které jsou poškozeny volnými radikály, mohou být detekovány vysoce citlivými testy, při nichž se stanovují zbytky aminokyselin (karbonylové skupiny), které se při poškození uvolňují. Zkoumání odumřelých tkání lidských mozků prokázalo, že u starších lidí se vyskytuje větší množství těchto skupin než u lidí mladších. Je pravděpodobné, že látky s antioxidačními účinky, které organismus přijímá ve stravě, mohou kompenzovat postupný úbytek přirozených antioxidantů, ke kterému dochází úměrně s věkem.

#### 4 JEČMEN, SLAD, PIVO – ZDROJE NUTRIČNĚ CENNÝCH LÁTEK

Potraviny a potravinové suroviny jsou hodnoceny kromě jiných hledisek podle toho, zda a kolik obsahují nutričně cenných látek.

Hlavním zdrojem vitaminu E jsou rostlinné oleje, ale jeho významné množství je obsaženo také v obilovinách. Byl prokázán jeho obsah v obilcích ječmene, žita, pšenice, ova a triticales. Vitamin E se vyskytuje v podobě izomerů  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tokoferolů a tokotrienolů, přičemž v zrně ječmene je (na rozdíl od většiny rostlinných olejů) zastoupeno všech osm přírodních forem tokolů.

V cereáliích ječmene a ova se vyskytují ve zvýšené míře polysacharidy  $\beta$ -glukany. Tyto látky představují rozpustné formy dietetické vlákniny, u nichž byly prokázány pozitivní účinky v souvislosti se snižováním hladiny lipidu cholesterolu, jednoho z nejrizikovějších faktorů kardiovaskulárních chorob.

V pivu, stejně jako ve vínu, jsou obsaženy fenolové sloučeniny zvané flavonoidy, jejichž antioxidační účinky proti oxidaci LDL jsou též jednoznačně doloženy.

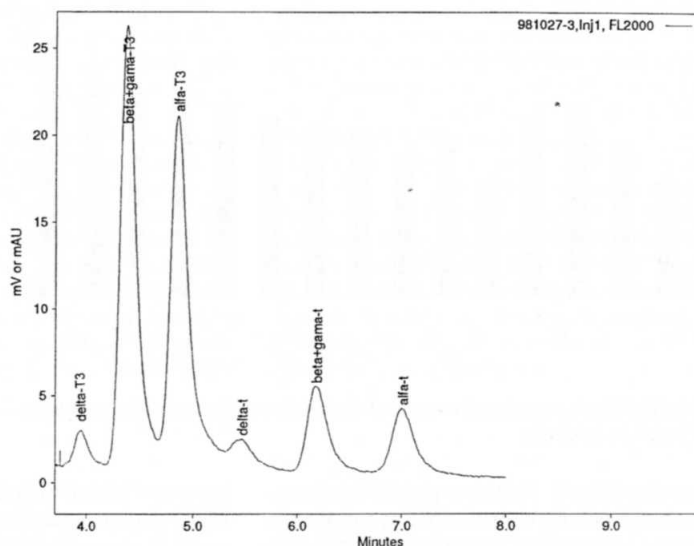
Studiu antioxidační aktivity ječmene, sladu, sladových extraktů a piva je v současnosti věnována stále větší pozornost, o čemž svědčí např. hned dva tematicky podobné příspěvky, zveřejněné na

loňském kongresu EBC v Cannes. V prvním z nich popisuje Bonnely a kol. [3] své pokusy se dvěma extrakty, které byly připraveny ze sladových klíčků. Extrakce byla provedena tak, aby se vzorky lišily složením fenolových látek. Mohla tak být porovnávána antioxidační aktivita roztoku obsahujícího volné fenolové sloučeniny a vázané fenolické látky, dále byla aktivita těchto roztoků porovnávána s antioxidační kapacitou  $\alpha$ -tokoferolu a BHT (butylovaný hydroxytoluen). Smyslem těchto pokusů je hledání přírodní náhrady syntetických antioxidantů, které se přidávají jako stabilizátory do potravin, a mezi které patří právě butylovaný hydroxytoluen (BHT) a butylovaný hydroxyanisol (BHA), označované v některých pracích jako potenciálně toxické látky [4].

Další příspěvek s názvem Antioxidační látky v extraktu z ječmene a sladu [5] specifikuje sloučeniny s antioxidačními účinky, obsažené v ječmeni a sladu. Autoři izolovali skupiny flavanolů, flavanolů, fenolových kyselin, tokoferolů a karotenoidů a stanovili antioxidační aktivitu jednotlivých složek s použitím tří metod. Z výsledků lze uvést, že byla prokázána korelace mezi celkovým obsahem flavan-3-olů a hladinou volných radikálů ( $r = 0,937$  a  $r = 0,837$ ). Dále byla prokázána odrůdová závislost antioxidační aktivity sladovnického ječmene.

#### 5 SLEDOVÁNÍ NUTRIČNĚ CENNÝCH LÁTEK VE SLADARSKÉM ÚSTAVU BRNO

Výzkumem nutričně cenných látek v ječmeni a sladu se v poslední době zabýváme též na pracovišti Sladarského ústavu v Brně. Poměrně rozsáhlá práce,



Obr. 2 Chromatogram tokolů v ječmeni

zaměřená na stanovení obsahu tokolů a  $\beta$ -glukanů v obilcích ječmene v závislosti na odrůdových a genetických vlastnostech materiálů, byla v letech 1998–2000 provedena ve spolupráci s Ústavem pěstování a šlechtění rostlin MZLU Brno.

#### 5.1 Stanovení tokoferolů a tokotrienolů

Pod pojem tokoly jsou zahrnovány vždy čtyři izomery tokoferolů a tokotrienolů (vzorce obr. 1). Při analýze těchto látek byla využita metoda alkalického zmýdelnění a extrakce nezmýdelnitelného podílu diethyletherem s následným stanovením kapalinovou chromatografií. Na našem pracovišti byly vyzkoušeny dvě varianty sestavy HPLC, jednak s normální fází (hexan/propanol 99:1), dále sestava s obrácenou fází s methanolem a kolonou C 18. Obě metody jsou pro stanovení tokolů použitelné. Vzhledem k dlouhodobému charakteru výzkumu byla zvolena varianta s obrácenou fází, která sice neumožňuje dělení  $\beta$ - a  $\gamma$ -izomerů, zajišťuje však spolehlivější stabilitu systému. Příklad chromatogramu je uveden na obr. 2.

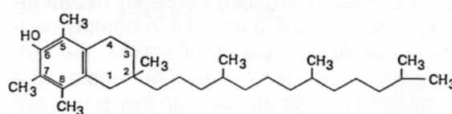
#### 5.2 Stanovení $\beta$ -glukanů

Stanovení  $\beta$ -glukanů v ječmeni, sladu, sladině a v pivu se provádí pomocí enzymatické metody Biocon a metodou FIA.

Metoda Biocon je založena na použití bakteriálního enzymu lichenasy (endo-(1-3), (1-4)- $\beta$ -D-glukan-4-glukanohydrolasy), jehož působením dochází k degradaci  $\beta$ -glukanů až na oligomery, které jsou dále štěpeny  $\beta$ -glukosidasou na glukosu, která je stanovena enzymaticky.

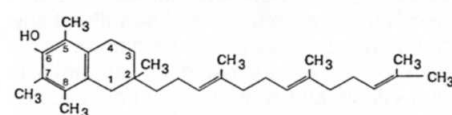
Princip metody FIA je založen na vstřikování vzorku do tekoucího nosného proudu pufru a činidla. Vzorek je při průchodu kapilárou rozptýlen v nosném proudu činidel a vytváří koncent-

Tokoferoly -  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$



$\alpha$ -TOKOPHEROL (5, 7, 8-trimethyltolcol)

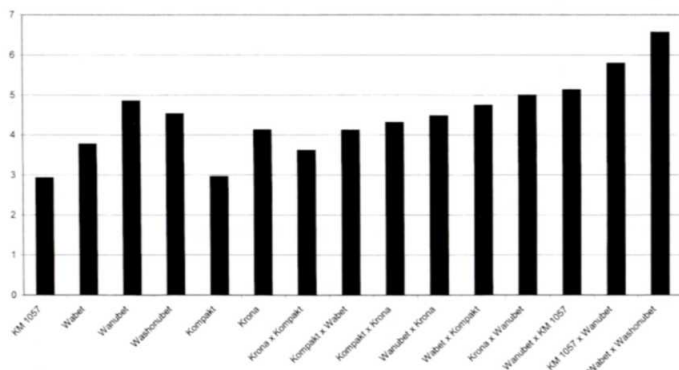
Tokotrienoly -  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$



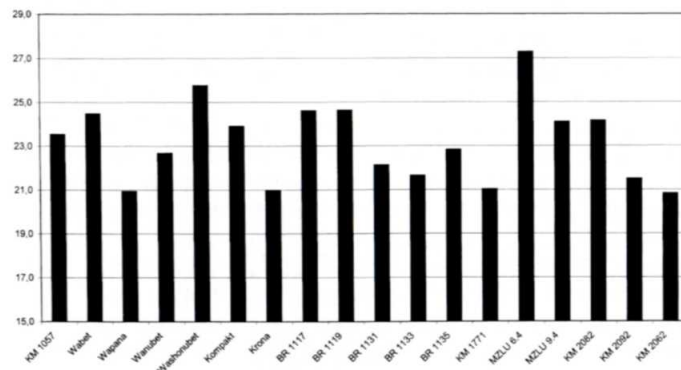
$\alpha$ -TOKOTRIENOL (5, 7, 8-trimethyltocotrienol)

Obr. 1 Vzorke tokolů





Obr. 3 Obsah  $\beta$ -glukanů v různých odrůdách sladovnického ječmene a jejich hybridech



Obr. 4 Aktivita vitamínu E (mg/kg) v různých odrůdách sladovnického ječmene a jejich hybridech

rační gradient. Reakční produkt je kvantitativně měřen v průtokovém detektoru.

Na pracovišti Sladařského ústavu v Brně je rutinně používána metoda FIA, validovány jsou obě metody.

### 5.3 Výsledky zkoumání

Byly provedeny analýzy  $\beta$ -glukanů a izomerů vitamínu E u několika stovek vzorků jarního ječmene.

Variabilita obsahu  $\beta$ -glukanů, vitamínu E a jeho izomerů byla hodnocena v obilkách rodičovských odrůd jarního ječmene – sladovnických Kompakt a Krona, donorů genu „waxy“ Wabet, Wanubet a Washonubet, bezpluché linie KM 1057 a jejich hybridů. Byly zjištěny genetické rozdíly v obsahu  $\beta$ -glukanů v souboru odrůd a linií, který jsme sledovali, a po křížení s donory vysokého obsahu  $\beta$ -glukanů jsme získali v F2 generaci některé křížence s vyšším obsahem, než měly rodičovské intenzivní formy sladovnického ječmene. Porovnání průměrných hodnot  $\beta$ -glukanů u rodičů a hybridů F2 generace je znázorněno na obr. 3. Obsah  $\beta$ -glukanů byl statisticky významně ovlivňován genotypem, nejvyšší hodnoty byly dosaženy u odrůd Wanubet a Washonubet.

Obsah vitamínu E a jeho izomerů ve sledovaných odrůdách intermediálně kolísá, byla prokázána odrůdová závislost jak v celkové aktivitě, tak i ve vzá-

jemném poměru jednotlivých izomerů. Výsledky stanovení celkové aktivity vitamínu E ve vybraných odrůdách sladovnického ječmene a jejich hybridech jsou shrnuty v obr. 4. Vzhledem k tomu, že dosud nejsou známy zdroje s geneticky determinovaným vysokým obsahem tokolů, vyžaduje výzkum dané oblasti ještě mnoho práce. Z výsledků naší práce však mj. vyplývá, že odrůdy Washonubet a Washonubet jsou donory zejména  $\alpha$ -, ale i  $\beta$ - a  $\gamma$ -trienolů.

Dále byly stanoveny korelace mezi oběma hypocholesterolemickými složkami obilí ječmene ( $\beta$ -glukany a tokoly) a také jejich korelace s výnosovými prvky, přičemž nebyly prokázány žádné významné záporné korelace, což je příznivé pro šlechtitelské využití.

Další směr výzkumu je zaměřen na možnosti vytvoření materiálů s geneticky determinovaným vyšším obsahem  $\beta$ -glukanů a izomerů vitamínu E s přijatelným výnosem zrna.

### 6 ZÁVĚR

Neustále se zvyšující péče o zdraví vede ke zvýšené spotřebě potravin zdravé výživy. Prudký rozvoj některých vědeckých disciplín, zejména v oblasti biologie a genetického inženýrství, přináší přitom stále přesnější informace o mechanismech působení konkrétních chemických sloučenin v organismu, a tyto

nové poznatky do značné míry usměrňují další cíle výzkumu. Zdá se, že studium působení látek s antioxidačními účinky je jedním z nejzajímavějších trendů vědeckého výzkumu a je možné, že přirozené zdroje antioxidantů budou v budoucnu hodnoceny mnohem výše, než je tomu v současnosti. A protože mezi takovými zdroji nepochybně patří pivo a suroviny, z nichž se vyrábí, je povinností pivovarského a sladařského výzkumu věnovat studiu uvedených látek náležitou pozornost.

### Literatura

- [1] HAYFLICK L.: Jak a proč stárneme, Knižní klub, Columbus, 1997
- [2] YOUNGSON R.: Antioxidanty, Jota, 1995
- [3] BONNELLY S., et al.: Production of an antioxidant extract from malt rootlets, EBC Congress 1999
- [4] ONYENEHO S. N., HETTIARACHCHY N. S.: J. Agric. Food Chem. **40**, 1992, s. 1496
- [5] GOUPY P., et al.: Antioxidant compounds of barley and malt extracts, EBC Congress 1999
- [6] GOFFMAN D. F., VELASCO L., THIES W.: Fett/Lipid **101**, 1999, s. 142
- [7] HOLASOVÁ M., VELÍŠEK J., DAVÍDEK J.: Potrav. Vědy **13**, 1995, s. 409

Zpracováno podle posteru prezentovaného na 3. mezinárodní pivovarské a sladařské konferenci, Bratislava, květen 2000

Do redakce došlo 8. 8. 2000

Prýma J. – Havlová P. – Šusta, J. – Mikulíková R. – Ehrenbergerová J. – Němejc R.: Zdravotně významné látky v ječmeni a pivu. Kvasny Prum. **46**, č. 12, s. 350–353.

Neustále se zvyšující péče o zdraví vede ke zvýšenému zájmu o potraviny zdravé výživy. Potraviny a potravinové suroviny jsou hodnoceny kromě jiných hledisek podle toho, zda a kolik obsahují nutričně cenných látek. Ječmen, slad, sladový extrakt a pivo jsou zdrojem řady chemických sloučenin, o jejichž pozitivním působení na lidský organismus není pochyb – jedná se zejména o látky s antioxidačními účinky a některé formy dietetické vlákniny. VÚPS, a.s. se na pracovišti Sladařského ústavu Brno zabývá ve spolupráci s Ústavem pěstování a šlechtění rostlin MZLU Brno stanovením obsahu tokolů a  $\beta$ -glukanů v obilkách ječmene v závislosti na odrůdových a genetických vlastnostech materiálů.

Prýma, J. – Havlová, P. – Šusta, J. – Mikulíková, R. – Ehrenbergerová, J. – Němejc, R.: Healthy Substances in Barley and Beer. Kvasny Prum. **46**, 2000, No. 12, p. 350–353.

The steadily improved care for health leads to an increased interest in healthy nourishment. Apart from other angles, the nutrients and their raw materials are evaluated in compliance with the content of nutritively valuable substances. Barley, malt, malt extract and beer are sources of a number of chemical compounds that without any doubt have positive action on human organism – mainly the substances with antioxidant effects and some forms of dietetic fibres. In its department, the Malting Institute in Brno, the VUPS Ltd. engages in determination of content of tocopherols and  $\beta$ -glucans in

individual grains of barley in dependence on the variety and genetic characters of the materials.

Prýma, J. – Havlová, P. – Šusta, J. – Mikulíková, R. – Ehrenbergerová, J. – Němejc, R.: Die vom Standpunkt der Gesundheit wichtigen Substanzen in der Gerste und im Bier. Kvasny Prum. **46**, 2000, Nr. 12, S. 350–353.

Der stetig wachsende Stellenwert der Gesundheit hat auch ein erhöhtes Interesse für die gesunde Ernährung zur Folge. Die Lebensmittel und Lebensmittelrohstoffe werden neben anderen Beurteilungskriterien auch danach bewertet, ob und in welcher Quantität sie nutritiv wertvolle Stoffe enthalten. Gerste, Malz, Malzextrakt und Bier stellen die Quelle einer ganzen Reihe che-

mischer Verbindungen dar, über deren positive Einwirkungen auf den menschlichen Organismus kein Zweifel besteht – es handelt sich vor allem um Substanzen mit antioxidativer Wirkung und einige Formen von diätetischen Faserstoffen. Das Forschungsinstitut für Brauerei und Mälzerei, AG (VÚPS) befasst sich in der Mälzerei-Zweigstelle in Brünn in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pflanzen-Anbau und -Züchtung (MZLU), Brünn mit der Bestimmung des Gehalts von Tokolen und  $\beta$ -Glukanen im Gerstenkorn in Abhängigkeit von den Sorten- und genetischen Eigenschaften der Materiale.

**Прыма, Й. – Гавлова, П. – Шуста, Й. – Микуликова, Р. – Эренбергерова Я. – Немейц, Р.: Здоровью полезные вещества в ячмене и пиве.** Kvasny Prum. 46, 2000, no. 12, стр. 350–353.

Непрерывно нарастающая забота о здоровье вызывает у потребителей повышенный интерес к продовольственным продуктам здорового питания. Продовольственные продукты и продовольственное сырье оцениваются кроме других аспектов с точки зрения содержания питательных ценных веществ и их количества. Ячмень, солод, солодовое экстракты и пиво являются источниками ряда химических

соединений, у которых положительное влияние на организм человека не возбуждает сомнений. Это относится прежде всего к веществам с антиокислительным влиянием и к некоторым формам диетических растительных волокон.

НИИ по пиву и солоду, прежде всего работники его солодорастиельного института в г. Брно, занимаются в сотрудничестве с Институтом по выращиванию и селектированию растений MZLU Брно определением содержания токолов и бетаглюканов в семенах ячменя в зависимости от генетических свойств и свойств сорта растения.