

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**BIOĻĢISKI AKTĪVO SAVIENOJUMU SATURS
LATVIJĀ SELEKCIJĒTO MIEŽU ŠĶIRŅU GRAUDOS**

MAĢISTRA DARBS

Autors: **Linda Austriņa**

Studenta apliecības Nr.: 1109107

Darba vadītājs: Dr.ķīm.,asoc.prof. Ida Jākobsone

RĪGA

2014

ANOTĀCIJA

Bioloģiski aktīvo savienojumu saturs Latvijā selekcionēto miežu šķirņu graudos.

Darba autore: Austriņa, L., zinātniskā vadītāja Dr. chem., asoc. prof. Jākobsone, I. Maģistra darbs ķīmijā, 63 lappuses, 18 tabulas, 13 attēli, 68 literatūras avoti. Latviešu valodā.

Maģistra darbā dots literatūras apskats par labības graudiem, par bioloģiski aktīvo savienojumu saturu labības graudos, par šo savienojumu analīzes metodēm. Eksperimentālajā daļā ir pētīti miežu graudi un to spirta – ūdens ekstrakti. Tajos tika noteikts kopējo fenola savienojumu saturs ar Folina–Čikalteo (*Folin–Ciocalteu*) metodi un noteikta antiradikālā aktivitāte izmantojot 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DFPH), galvinoxila un 2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolīn-6-sulfāta) (ABTS) brīvos radikālus, noteikts proantocianidīnu saturs un reducējošā aktivitāte. Miežu graudos noteikti mikro- un makroelementi ar atomabsorbcijas spektrometriju (AAS).

MIEŽI, FENOLA SAVIENOJUMI, PROANTOCIANIDĪNI, MIKRO- UN
MAKROELEMENTI, ANTIRADIKĀLĀ AKTIVITĀTE, SPEKTROFOTOMETRIJA,
ATOMABSORBCIJAS SPEKTROMETRIJA

ABSTRACT

Evaluation of biologically active composition of barley grain cultivars grown in Latvia. Author: Austrīņa L., supervisor: Dr. *chem.*, asoc. prof. Jākobsone, I. Master's work in chemistry, 63 pages, 18 tables, 13 illustrations, 68 bibliographic references. In Latvian.

Master's work reviews literature of biologically active composition of barley grain cultivars and methods of analysis has been studied. In the experimental section alcohol-water extracts were examined. The total content of phenolic compounds and their antiradical activity were determined using spectrophotometric method. Antiradical activity were determined using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DFPH), galvinoxyl and 2,2-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radicals. Reducing activity and proanthocyanidins were determined too. Also micro- and macroelements were determined in the barley grain samples by Atom Absorption Spectrometry (AAS).

BARLEY, PHENOLIC COMPOUNDS, PROANTHOCYANIDINS, MICRO- AND MACROELEMENTS, ANTIRADICAL ACTIVITY, SPECTROFOTOMETRY, ATOM ABSORPTION SPECTROMETRY

Saturs

ANOTĀCIJA	2
Darbā izmantotie apzīmējumi:.....	6
IEVADS.....	7
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	9
1.1. Graudaugu kultūras	9
1.2. Grauda uzbūve un ķīmiskais sastāvs	12
1.2.1. Bioloģiski aktīvie savienojumi graudos	14
1.3. Analīžu metodes bioloģiski aktīvu savienojumu noteikšanai labības graudos	26
1.3.1. Fenola savienojumu noteikšana.....	26
1.3.2. Alkilrezorcīnu noteikšana.....	30
1.3.3. Flavonolu noteikšana.....	30
1.3.4. Proantocianidīnu noteikšana.....	31
1.3.5. Antocianīnu noteikšana	31
1.3.6. Flavonoīdu noteikšana.....	32
1.3.7. Lignānu noteikšana.....	32
1.3.8. Minerālvielu noteikšana	33
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA.....	34
2.1. Darbā izmantotās graudu šķirnes.....	34
2.2. Kopējā fenola savienojumu satura noteikšana.....	35
2.3. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar DFPH.....	37
2.4. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar galvinoksilu	38
2.5. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar ABTS.....	39
2.6. Reducējošās aktivitātes noteikšana.....	39
2.7. Proantocianidīnu noteikšana graudu ekstraktos	40
2.8. Mikro- un makroelementu noteikšana.....	41
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	43
3.1. Izmantotās formulas rezultātu matemātiskai apstrādei.....	43
3.2. Kopējā fenola savienojumu satura izvērtējums	44
3.3. Antiradikālās aktivitātes (ARA) noteikšana ar difenilpikrilhidrazila (DFPH) radikāli.....	47
3.4. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar galvinoksilu	48

3.5. Graudu ekstraktu antiradikālās aktivitātes noteikšana ar ABTS	49
3.6. Graudu ekstraktu reducējošās aktivitātes noteikšana	50
3.7. Proantocianidīnu noteikšana graudu ekstraktos.	51
3.8. Mikro- un makroelementu noteikšana miežos.....	53
Secinājumi	55
Literatūras saraksts.....	56
PIELIKUMI.....	62

Darbā izmantotie apzīmējumi:

AAS - atomabsorbcijas spektrometrija

AOAC - analītiskās biedrības asociācija (Association of Analytical Communities)

ABTS – 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolīn-6-sulfonāts

AEŠH – augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija

AEŠH-UV - augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija ar ultravioleto detektoru

AR - alkilrezorcīni

ARA – antiradikālā aktivitāte

AOA – antioksidantu aktivitāte

DFPH – 1,1-difenil-2-pikrilhidrazils

ETAAS –elektrotermālā atomabsorbcijas spektrometrija

FAAS - liesmas atomabsorbcijas spektrometrija

FCR – Folina – Čikalteo reaģents

GSE – galluskābes ekvivalenti

KE – katehīna ekvivalenti

KFSS – kopējais fenola savienojumu saturs

n.d. – nav noteikts

PA - proantociānīdīni

IEVADS

Mūsdienās liela nozīme tiek pievērsta pētījumiem, kuri dod iespēju pasargāt dzīvus organismus un pārtikas produktus no brīvo radikāļu un to izraisīto kaitīgo procesu ietekmes. Brīvie radikāļi pavājinā organisma dabiskās aizsargspējas un veicina audzēja šūnu veidošanos.

Šo mērķu sasniegšanai populāri ir augu izcelsmes bioloģiski aktīvie savienojumi – fenola savienojumi, lignāni un alkilrezorcīni. Fenola savienojumu saturs augu valsts produktos lielā mērā atkarīgs no augu sugas, augšanas apstākļiem un pārstrādes veida, un var ievērojami mainīties. Mūsdienu tehnoloģijas ļauj cilvēkam sintezēt gandrīz jebkuru dabā sastopamu ķīmisko savienojumu, bet tas, ko cilvēks uzņem no dabas radītiem produktiem, vienmēr ir sabalansētāks, vieglāk uzņemams un izmantojams cilvēka organismam. Šīs vielas novērš nevēlamo lipīdu peroksidāciju, neitralizē daudzus reaktīvo savienojumu veidus un saista oksidēšanos veicinošos metālu jonus.

Viena no galvenajām mūsu ikdienas uztura sastāvdaļām ir labības kultūru graudi un to pārstrādes produkti, kuru ķīmiskā sastāva daudzveidības un aktivitātes noskaidrošanai tiek pievērsta zinātnieku uzmanība. To lietošana uzturā kopā ar citiem augu izcelsmes pārtikas produktiem, nodrošina mūsu organismu ar dabīgiem antioksidantiem. Tādēļ arī Maģistra darba mērķis ir dot savu ieguldījumu bioloģiski aktīvo savienojumu satura noteikšanā Latvijā selekcionēto šķirņu graudos.

Maģistra darba mērķis:

- noteikt un novērtēt bioloģiski aktīvo savienojumu saturu Latvijas valsts Graudaugu selekcijas institūtā selekcionētos miežu šķirņu graudos. Izstrādātais maģistra darbs dos iespēju salīdzināt mūsu reģionā audzēto graudu kvalitātes rādītājus ar citos reģionos audzētajiem graudiem.

Maģistra darba uzdevumi:

- apkopot literatūru par graudaugiem un to ķīmisko sastāvu, par bioloģiski aktīviem savienojumiem graudos, par to uzbūvi un īpašībām;
- apkopot literatūru par fenola savienojumu, aromātisko karbonskābju (benzoscābes un kanēļskābes atvasinājumu), flavonoīdu, antociānīnu, proantociānidīnu, alkilrezorcīnu, lignānu, mikro- un makroelementu, un citu savienojumu noteikšanas metodēm;

- izvēlēties piemērotākās metodes kopējo fenola savienojumu un to antiradikālās aktivitātes noteikšanai, proantocianidīnu un mikro- un makroelementu kvantitatīvā satura noteikšanai miežu šķirņu graudos;
- noteikt minēto savienojumu kvantitatīvo saturu miežu šķirņu graudos.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Graudaugu kultūras

Mieži. Lai gan miežiem (*Hordeum vulgare*) kā pārtikas izejvielai ir gara vēsture, tiem jākonkurē ar auzām, rīsiem un kviešiem, kuri tirgū jau ir labi pieņemtas pārtikas preces. Jaunu miežu šķirņu, kailgraudu genotipu un no tiem iegūto cietes veidu parādīšanās graudaugu pārtikas industrijā ir devusi iespēju attīstīt jaunus miežu produktus, kas uzlabo veselību [1].

Salīdzinot ar plašāk patērētajiem graudaugiem, kviešiem un rīsiem, miežiem ir augstāka antioksidantu aktivitāte. Mieži satur daudz fenola savienojumus brīvā un saistītā formā; šie savienojumi ietver benzoscābes un kanēļskābes atvasinājumus, proantocianidīnus, flavonoīdus, aminofenola savienojumus un citus. Miežu graudi ir bagāti ar vitamīniem, minerālvielām, ogļhidrātiem, taukiem, proteīniem un citiem bioloģiski aktīviem mazmolekulāriem savienojumiem. Plēkšņaino un kailgraudu miežu salīdzināšana ir parādījusi, ka kailgraudu mieži satur vairāk proteīna, cietes un β -glikāna. Kailgraudu mieži raksturojas ar lielāku endospermu, un līdz ar to ar augstāku bioloģiski aktīvo savienojumu, tajā skaitā fenolu un vitamīnu, saturu, kuriem piemīt antioksidatīvas īpašības [2].

Šķīstošās šķiedrvielas, galvenokārt β -glikāns, nodrošina miežu produktu viskozitātes paaugstināšanos; kā rezultātā cilvēka organismā samazinās holesterīna un tauku uzsūkšanās [3].

Augstais fenola savienojumu saturs miežos liecina par to, ka tie ir lielisks uztura avots ar antiradikālu potenciālu slimību profilaksei un veselības veicināšanai.

Mieži bija vieni no pirmajiem lauksaimniecībai audzētajiem kultūraugiem kopā ar kviešiem, zirņiem un lēcām jau pirms 10000 gadiem. Mieži ir vairāk saistīti ar alus nozari, iesalu, un dzīvnieku barību; 80-90% miežu tiek lietoti kā izejviela iesalam un dzīvnieku barībai. Tie ir svarīga sastāvdaļa arī zupām un sautējumiem, dažu tautu kultūrās no miežiem cep arī maizi [4].

2012. gadā mieži bija ceturtajā vietā pasaulē pēc saražotās produkcijas (132 milj. tonnu) un pēc apsētās platības (490 000 km²) (skat. *1.1. tab.*).

Graudaugu produktivitāte 2012. gadā [5]

Suga	Latvijā		Pasaulē	
	Kultivētā platība(tūkstots ha)	Graudu ražīgums (tūkstots tonnas)	Kultivētā platība (miljons ha)	Graudu ražīgums (miljons tonnas)
Mieži	85	237	49	132
Kvieši	355	1540	215	670
Rudzi	37	124	6	15
Auzas	62	137	10	21
Tritikāle	13	49	4	14

Kvieši (*Triticum*). Pasaulē un Latvijā visvairāk audzētā labība ir kvieši (skat. 1.1 tab.). Mīkstos kviešus (*Triticum aestivum L.*) parasti izmanto maizes un kūku ražošanā. Cietajiem kviešiem (*Triticum durum Desf.*) ir cietāki graudi nekā mīkstajiem kviešiem, un tie tiek izmantoti, lai ražotu makaronus. Šie pārtikas produkti apgādā mūs ar ogļhidrātiem un olbaltumvielām [6].

Kviešu graudos un to pārstrādes produktos ir noteikts liels fenola savienojumu daudzums un ievērojama antioksidantīvā darbība, norādot, ka kvieši var kalpot kā lielisks uztura avots [7].

Rudzi. Rudzu graudi (*Secale cereale*) tiek izmantoti miltu, rudzu maizes, rudzu alus un atsevišķu veidu viskiju un degvīna ražošanai. To miltos ir zemāks lipekļa saturs nekā kviešu miltiem. Rudzu graudi, tāpat kā citi labības graudi, cilvēka uzturu papildina ar nozīmīgu daudzumu olbaltumvielām, mikroelementiem un citām barības vielām. Tie ir lielisks izejmateriāls veselīgai un garšīgai pārtikai ar augstu šķiedrvielu saturu, tāpēc rudzu maizei ir augstāka uzturvērtība salīdzinājumā ar kviešu maizi [8, 9].

Auzas. Auzas (*Avena sativa*) ir piemērotas lietošanai uzturā kā auzu milti un auzu pārslas, bieži izmanto lopbarībā.

Tās bagātīgi satur fenola savienojumus, karotinoīdus un E vitamīnu. Auzas un auzu produkti ir ieguvuši popularitāti ar to sastāvā esošajiem savienojumiem, sirds un asinsvadu

slimību, koronāro sirds slimību, paaugstināta asinsspiediena, 2. tipa cukura diabēta un resnās zarnas slimību ārstēšanā [10].

Tritikāle (*Triticosecale Wittmack*) ir hibrīds kultūraugs, kas ir iegūts sakrustojot kviešus (*Triticum*) ar rudziem (*Secale*). Tritikāles uzturvērtība ir tuva kviešiem un rudziem. 1997. gadā igauņi pielāgoja tritikāles šķirni „Western” augšanas apstākļiem Baltijas valstīs, viņi ir veikuši arī nopietnus pētījumus par maizes cepšanu no tritikāles miltiem. Tritikāli visvairāk audzē Polijā, Baltkrievijā, Krievijā. Latvijā tritikāles audzēšana pēdējos gados pakāpeniski palielinās, taču sējplatības nav salīdzinoši lielas. Tritikāli izmanto tikai lopbarībā un spirta rūpniecībā [11, 12].

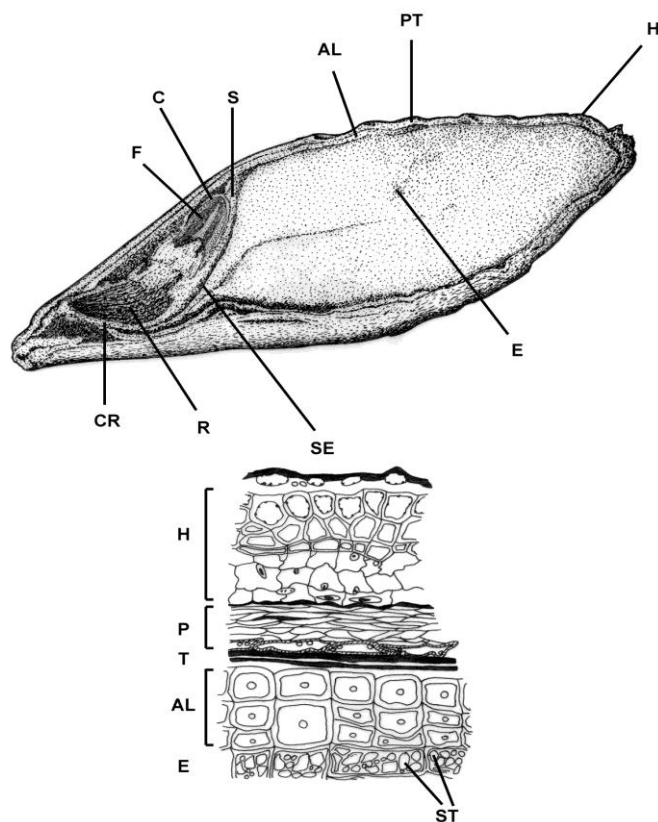
Bioloģiski un tradicionāli audzētas kultūras. Labības uzturvielu līmeni ietekmē tādi faktori, kā resursu pieejamība, augsnes kvalitāte, klimats, kukaiņu un dzīvnieku u. c. Tradicionālā, bioloģiskā un ilgtspējīga lauksaimniecība ir galvenās kultūru audzēšanas paražas. Katrai no tām darbības un mērķi ievērojami atšķiras attiecībā uz ražu, zemes un pesticīdu izmantošanu un ietekmi uz vidi. Parastās lauksaimniecības praksē izmanto augsta ienesīguma kultūraugu šķirnes, minerālmēslus un pesticīdus, apūdeņošanu, un mehanizāciju. Kaut arī parastajā praksē tiek radīta uzticama, augsta ienesīguma kultūra, ir bažas par negatīvo ietekmi uz bioloģisko daudzveidību un par atstātām sekām uz vidi kopumā. Organiskajā lauksaimniecībā nevar tik izmantota gēnu inženierija un apstarošana vai mēslošana ar notekūdeņu dūņām. Turklāt, lauksaimniecībā izmantotajās zemēs audzējot bioloģiskos kultūraugus, aizliegts izmantot sintētiskos pesticīdus un herbicīdus vismaz 3 gadus pirms ražas novākšanas.

Organiski un konvencionāli audzētos augos var atšķirties minerālvielu un vitamīnu daudzums. Ir izpētīts, ka bioloģiskajiem kultūraugiem ir vairāk C vitamīna, dzelzs, magnija un fosfora nekā parastajiem kultūraugiem [13].

Bioloģiskās pārtikas lietošana rada dažādas priekšrocības, piemēram, tiek uzņemts augstāks fenola savienojumu saturs un mazāks nitrātu un pesticīdu saturs [14].

1.2. Grauda uzbūve un ķīmiskais sastāvs

Graudiem ir ilgs uzglabāšanas laiks, jo tie tiek novākti ar relatīvi zemu mitruma saturu un satur stabilus komponentus. Miežus, līdzīgi kā rīsus un auzas, novāc ar neskartu miziņu, kura ir cieši pieķļāvusies graudam. Grauds sastāv no augļapvalka, sēklas apvalka, epidermas, dīgļa, un endospermas (skat. 1.2.1. att.). Aleirona šūnas mieža graudā sastāv no diviem līdz trīs šūnu slāņiem. Dažu šķirņu aleirona ir zila, citiem bezkrāsaina. Lielākā sastāvdaļa visu graudu uzbūvē ir endosperma, un aptuveni 80 % no tās ir ciete, kas veidota no mikroskopiskām granulām ar raksturīgo formu. Miežiem to lielums un sastāvs ir līdzīgs ar kviešiem un rudziem. Galvenā endospermas šūnas sienas sastāvdaļa, kas nosaka miežu funkcionalitāti iesalā, ir tās β -D-glikāna cietes nesaturošais materiāls [15, 16].



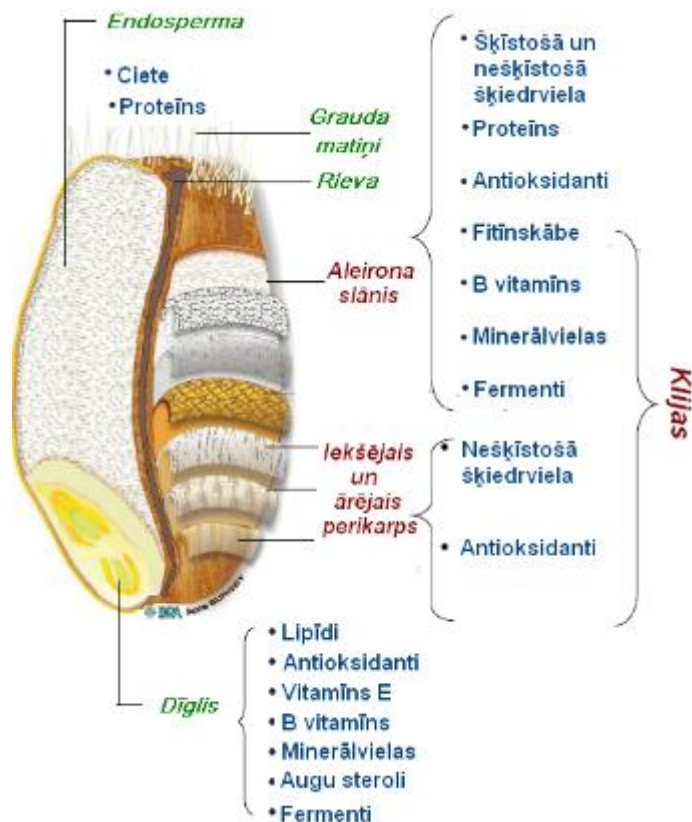
1.2.1. att. **Mieža grauda šķērsriezums (augšā) un ārējie slāņi (apakšā).** Kodols (C), lapotnes dzinums (F), sakne (R), epitēlija šūnas (SE), miziņa (H), augļapvalks (PT), aleirona slānis (AL), endosperma (E), augļapvalks (P), sēkļapvalks (T), endosperma (E), un cietes granulas (ST) [16].

Labības graudu ķīmiskais sastāvs mainās atkarībā no sugas, šķirnes, audzēšanas vietas un apstākļiem. Graudi vidēji satur 10-12% ūdens, 8-13% proteīna, 2-5% tauku, 2-6% šķiedvielu, ap 2-7%- minerālvielu jeb šķiedrvielu (skat. 1.2.1.tab.).

1.2.1. tabula

Graudaugu sastāvs [17]

Sastāvs	Kvieši	Rudzi	Mieži	Auzas
Mitrums %	10,0	10,5	10,6	9,8
Proteīns %	14,3	13,4	13,0	12,0
Tauki %	1,9	1,8	2,1	5,1
Šķiedrvielas %	3,4	2,2	5,6	3,6
Pelnvielas %	1,8	1,9	2,7	7,0
Tiamīns (B1) mg/kg	5,5	4,4	5,7	17,8
Niacīns (B3) mg/kg	63,6	1,3	64,5	1,8
Riboflavīns (B2) mg/kg	1,3	1,8	2,2	14,5
Pantotēnskābe (B5) mg/ kg	13,6	7,7	7,3	14,5



1.2.2.. att. Grauda bioaktīvie komponenti [18]

1.2.1. Bioloģiski aktīvie savienojumi graudos

Bioloģiski aktīvie savienojumi ir papildus uztura elementi, kas parasti ir atrodami nelielos daudzumos augu izcelsmes pārtikā. Šīs vielas dod labumu cilvēka veselībai, un ir nozīmīgas cilvēka organismam. Vairums bioloģiski aktīvo savienojumu ir labības graudu sastāvā. Epidemioloģiskie pētījumi ir pierādījuši, ka regulāri lietojot uzturā graudaugus, samazinās risks saslimt ar hroniskām slimībām, piemēram, sirds un asinsvadu slimībām, 2. tipa cukura diabētu, vēzi un dažādiem audzējiem.

Šie veselības ieguvumi ir panākti ar multifaktoriāliem fizioloģiskiem mehānismiem, tostarp antioksidantu aktivitāti, hormonu mediāciju, imūnsistēmas uzlabošanu un vielu tranzīta atvieglošanu caur gremošanas traktu, sviestskābes ražošanu resnajā zarnā, un vielu absorbciju un / vai atšķaidīšanu zarnās.

Galvenie bioloģiski aktīvie savienojumi pilngraudu labībā ir fenola savienojumi (fenolskābes, flavanoīdi u.c.), lignāni un alkilrezorcīni [19].

Antioksidanti. Antioksidanti ir ķīmiskas vielas, kas mijiedarbojas un neitralizē brīvos radikāļus, tādējādi novēršot to kaitējumu. Tie ir zināmi arī kā brīvo radikāļu iznīcinātāji. Dažus no antioksidantiem ķermenis ražo pats, kurus tas izmanto, lai neitralizētu brīvos radikāļus. Šos antioksidantus sauc par endogēniem antioksidantiem. Tomēr, ķermenis balstās uz ārējiem avotiem, galvenokārt pārtiku, lai iegūtu pārējos tam nepieciešamos antioksidantus, kurus sauc par eksogēniem antioksidantiem. Augļi, dārzeņi un graudi ir ar antioksidantiem bagātākie uztura avoti. Daži uztura antioksidanti ir pieejami kā uztura bagātinātāji.

Antioksidanti ir minerālvielas, fermenti, vitamīni un olbaltumvielas. Dabīgie (eksogēnie) antioksidanti ir C un E (alfa-tokoferols) vitamīni, A vitamīna provitamīns – β karotīns un selēna savienojumi [20, 21].

Graudi ir galvenais antioksidantu avots mūsu ikdienas uzturā. Svarīgākās antioksidatīvās sastāvdaļas graudos tiek klasificēti kā fenola savienojumi, piemēram, antociāni, tannīni (miecvielas), un fenolskābes, un citas vielas. Labvēlīga ietekme antioksidantiem attiecībā uz veselības veicināšanu tiek uzskatīti vairāki iespējamie mehānismi, piemēram, tiešā reaģēšana ar brīvajiem radikāļiem un to dzēšana, helātu veidošana par pārejas metāliem, peroksīdu reducēšana, un antioksidatīvās aizsardzības fermentu sistēmas stimulēšana [22].

E vitamīns (α-tokoferols) ir monofenolisks savienojums, kas atrodas miežu graudos un to iesalā. Tā antioksidantu aktivitāte ir balstīta galvenokārt uz tokoferola - tokoferila hinonu reducēšanās sistēmu. Vitamīna E saturu graudos ietekmē augu ģenētika un lietus un mitruma daudzums ražas novākšanas laikā. E vitamīna saturs miežos ir 34,96-39,2 mg/kg⁻¹[3].

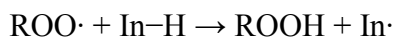
Pilngraudu lietošana uzturā ir saistīta ar samazinātu hipertensijas risku [24]. Fitīnskābe pilngraudu labībā arī darbojas kā antioksidants, jo tas helatē Fe un tādējādi aptur Fentona reakciju ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \text{HO}\cdot$), kas ražo ļoti oksidētus spējīgas un kaitīgas brīvo radikāļu hidroksilgrupas, visbeidzot samazinot lipīdu peroksidāciju [25].

Pētnieki ir pierādījuši, ka alkilrezorcīniem piemīt antioksidantu un antiradikālu īpašības, tomēr tie ir mazāk efektīvi par E vitamīnu. Alkilrezorcīni tiek uzskatīti par membrānās esošajiem antioksidantiem. Tie viegli absorbējas (80%) un spēj būt bioloģiski aktīvi [26].

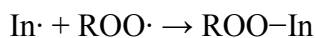
Antioksidants, atdodot ūdeņraža atomu, veido stabilu brīvo radikāli, kurš vairs nespēj turpināt radikālās reakcijas un rekombinējas ar citu radikāli, veidojot attiecībā pret oksidēšanos neitrālu molekulu. Fenolu tipa (radikāļu) antioksidantu darbība izskaidrojama ar to spēju satvert un piesaistīt radikāļus, pie kam pozitīva loma ir to spējai radikāļus stabilizēt rezonanses ceļā.

Aprakstot antioksidantus un to darbību, tos bieži apzīmē ar kopīgu simbolu – In-H (molekula, kas ir viegli spējīga atdot ūdeņradi).

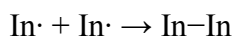
Piemēram, peroksiradikāļu gadījumā aktīvais radikālis (ROO·) tiek hiperoksīdā un no antioksidanta veidojas mazākaktīvs inhibitora radikālis (In·):



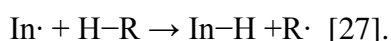
Izveidojies inhibitora radikālis var reaģēt ar otru peroksīda molekulu:



Inhibitora/antioksidanta radikālis savu brīvo valenci var zaudēt arī savstarpējā rekombinācijā, veidojot neitrālu molekulu:



Reizēm gan In·, it sevišķi, ja tas ir lielā koncentrācijā, ir pietiekami aktīvs, lai ģenerētu jaunus radikāļus:



Minerālvielas. Makroelementi (Ca, K, Mg, Na) un mikroelementi (piemēram, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, V, Zn), ir nepieciešami normālai cilvēka organisma attīstībai un funkcionēšanai, nodrošinot organisma audos neitrālu reakciju un noteiktu osmotisko spiedienu, piedaloties šūnu kairinājuma-uzbudinājuma procesos, veicinot vai kavējot fermentu darbību un tādējādi ietekmējot organisma vielmaiņas procesus. Ķīmiskos elementos pēc to nepieciešamības dzīvīem organismiem sarindo šādi: a) vitāli nepieciešamie elementi – As, B, Br, Cl, Co, Cr, Cu, F, Fe, I, Li, Mn, Mo, P, S, Se, Si, V un Zn; b) iespējams nepieciešamie elementi – Al, Ba, Ge, Ni, Rb, Sn, Sr un Ti; c) elementi, kas nav nepieciešami – Ag, Au, Cs, Hf, In, Ir, Sb, Ta, Te, U, Y, Zr un retzemju elementi; d) elementi, kas nav nepieciešami un toksiski – Be, Bi, Cd, Hg, Pb un Tl. Tomēr šis iedalījums var mainīties balstoties uz jaunākajiem atklājumiem zinātnē [60]. Miežu graudos galvenās minerālvielas (pelnvielas) ir P, K, Mg, S, Ca, kamēr maznozīmīgākas ir Fe, Zn, Mn, Cu, un Ba. Visas minerālvielas kopumā ir koncentrētas grauda ārējā slānī [23].

1.2.2. tabula

Uztura aspekti [63]

Minerālvielas	Nepieciešamais daudzums dienā, mg	Graudu daudzums (platība) mg/kg	Graudu daudzums, kas nepieciešams ikdienā, kg
Ca	1000	250 - 470	2 - 4
Cu	1,5 - 3,0	1,7 - 6,4	0,2 - 1,8
Fe	10 - 15	19 - 39	0,3 - 0,8
Mn	2,0 - 5,0	9 - 39	0,05 - 0,5
Zn	12 - 15	7 - 24	0,5 - 2,1
Se	0,02 - 0,1	<0,004 - 0,01	2 - >25

Fenola savienojumi. Fenola savienojumi ir savienojumi, kuru sastāvā ir viens vai vairāki aromātiskie gredzeni ar vienu vai vairākām hidroksilgrupām, un parasti tiek klasificēti kā fenolskābes, flavonoīdi, stilbēni, kumarīni un miecvielas(tannīni) [28].

Tie ir sekundārā metabolisma produkti augos, palīdz augu reproducēšanā un augšanā, tie darbojas kā aizsardzības mehānisms pret patogēniem un kaitēkļiem un nosaka augu krāsu [29].

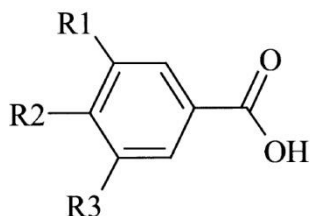
Augu fenolu savienojumiem ir vairākas bioloģiskās funkcijas, piemēram, antioksidanta, pretiekaisuma, pretvēža un pretmikrobu aktivitāte [30].

Augus apdraud dažādas slimības, ko var izraisīt mikroorganismi un sēnes. Šo slimību dēļ augi cieš no aukstuma, karstuma, gaismas un ūdens trūkuma. Lai spētu izdzīvot, augu šūnās, audos un orgānos notiek dažādu ķīmisku savienojumu (cukuru, olbaltumvielu, tauku) sintēze un uzkrāšanās, kas dod enerģiju. Tiek sintezēti un uzkrāti arī dažādi citi savienojumi, tādi kā ēteriskās eļļas, alkaloīdi, flavonoīdi, glikozīdi, miecvielas, vitamīni un citi, kas augu pasargā no kaitīgiem faktoriem. Cilvēks šo savienojumu dēļ augus izmanto veselības atjaunošanai un stiprināšanai [31].

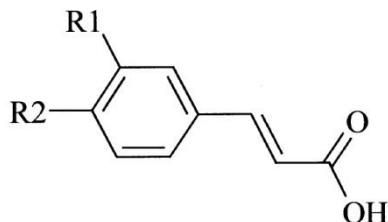
Fenolskābes. Fenolskābes var iedalīt divās lielās grupās - hidroksibenzoskābes un hidroksikanēļskābes atvasinājumos. Piemēram, hidroksibenzoskābes atvasinājumi ir hidroksibenzoskābe, protokatehīns, vanilīns un galluskābe; hidroksikanēļskābes atvasinājumi ir p-hidroksikanēļskābe jeb kumarīnskābe (p-coumaric acid), 3,4-dihidroksikanēļskābe (caffeic acid), 4-hidroksi-3-metoksikanēļskābe jeb ferulskābe (ferulic acid) un 3,5-dimetoksi-4-hidroksikanēļskābe (sinapic acid). No graudaugiem visvairāk dažādāko fenolskābju ir sorgo un prosā [32].

Visizplatītākā ir ferulskābe, kura pateicoties antioksidantīvām īpašībām, dod labumu cilvēka veselībai [19].

Fenolskābes miežu graudu ekstraktos analizē ar gāzes-šķidrums un augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfijas metodēm, kur vanilīn, p-kumarīn, ferulskābes un diferulskābes tika konstatētas visās analizētajās frakcijās. Kvantitatīvi vissvarīgākās bija ferul un kumarīnskābes. Ārējiem slāņiem, kas sastāv no miziņas, augļapvalka un aleirona šūnas, ir ietvertas visaugstākās kopējā fenola skābju koncentrācijas (0,6-0,9%), bet ievērojami zemākas koncentrācijas bija endospermas slāņos (0,1% vai mazāk) [33].



1.2.3. att. **Hidroksibenzoskābes struktūrformula** (R1=R2=OH, R3=H 3,4-dihidroksibenzoskābe; R1=R2=R3=OH 3,4,5-trihidroksibenzoskābe jeb galluskābe)



1.2.4. att. **Hidroksikanēļskābes struktūrformula** (R1=OH, R2=H 3-hidroksikanēļskābe; R1=R2=OH 3,4-dihidroksikanēļskābe; R1=OCH₃, R2=OH 3-metoksi-4-hidroksikanēļskābe)

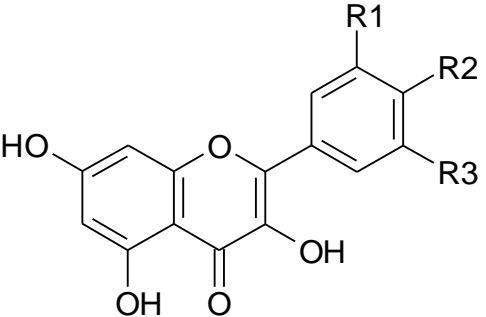
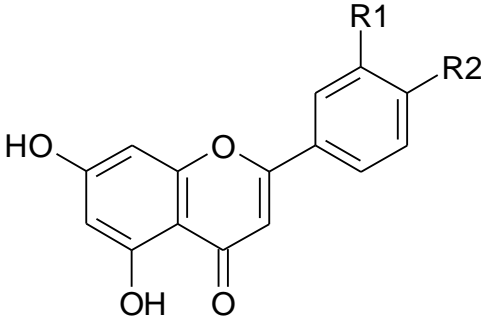
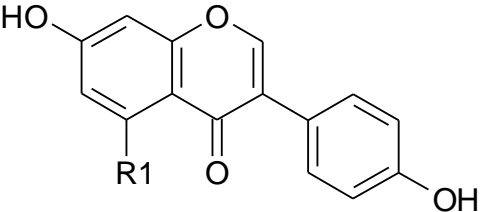
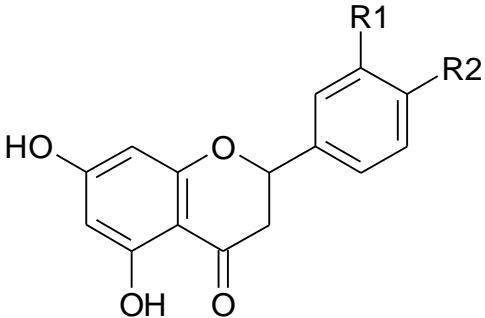
Flavonoīdi. Flavonoīdos ietilpst antocianīni, flavonoli, flavoni, flavanoni, flavanoli (flavāntrioli) un izoflavoni. Tiem ir polifenolu struktūra. Dabā ir konstatēti vairāk nekā 5000 flavonoīdi. Tie ir viena no lielākajām sekundāro metabolītu grupām un tiem ir svarīga loma augu aizsardzības un signalizējošo savienojumu reprodukcijā, patogēnēzē un simbiozē. Tādi apkārtējās vides faktori kā uzturvielas, temperatūra un gaisma ietekmē flavonoīdu sastāvu un to beigu krāsu augļos.

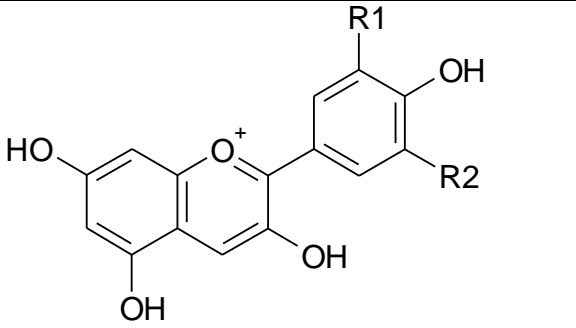
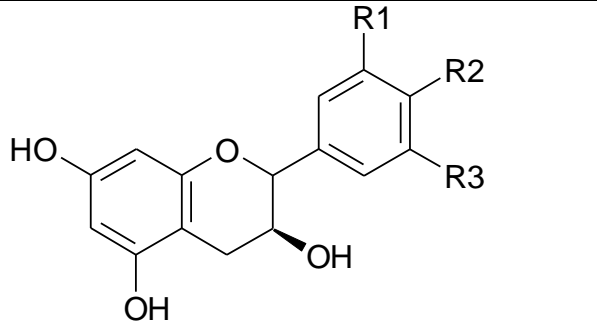
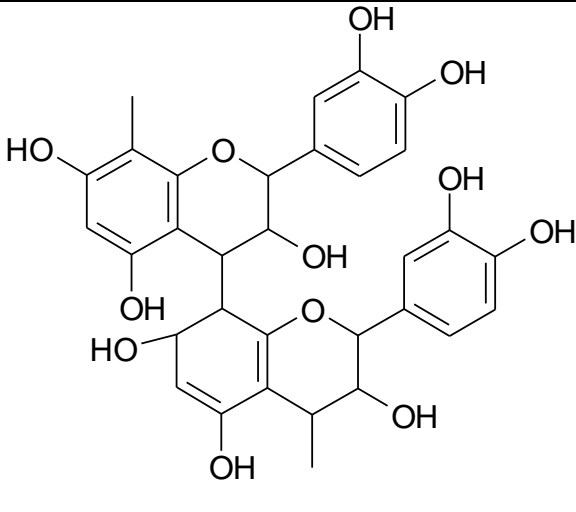
Flavononi atrodami augļos, dārzeņos un arī labībā. Flavoni ir atrasti miežos, auzās un selerijās. Kopumā flavonoīdi labībā ir tikai nelielos daudzumos, izņemot miežus, kuri satur izmērāmu daudzumu katehīnus un dažus di- un tri- proantocianidīnus. Flavonoīdiem ir antioksidantīvas, anti alerģiskas, pretiekaisuma, antikancerogēnas īpašības [34, 35].

Tie ir atrodami arī tādos pārtikas produktos kā, piemēram, kakao, tējā un sarkanvīnā. Tādēļ, šiem produktiem ir iespējama labvēlīga ietekme uz asinsvadu sienām, tie var pasargāt no sirds un asinsvadu slimībām.

Flavonoīdu bāzes struktūrā var būt saistība ar hidroksilgrupām, metoksigrupām un monosaharīda atlikumiem. Flavonoli sastopami monomēru formā (katehīni) un polimēru formā (proantocianidīni) [36]. Flavonolu saturs ģenētiski ir atkarīgs no miežu šķirnes, plēkšņainos miežos flavanolu ir mazāk nekā kailgraudu miežos [37].

Flavonoīdu struktūrformulas un to nosaukumi [47]

 <p>Flavonoli: $R_2=OH, R_1=R_3=H$ 3,4',5,7-tetrahidroksiflavons jeb kempferols; $R_1=R_2=OH, R_3=H$ 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavons jeb kvercetīns; $R_1=R_2=R_3=OH$ 3,3',4',5,5',7-heksahidroksiflavons jeb miricetīns</p>	 <p>Flavoni: $R_1=H, R_2=OH$ 4',5,7-trihidroksiflavons jeb apigenīns; $R_1=R_2=OH$ 3',4',5,7-tetrahidroksiflavons jeb luteolīns</p>
 <p>Izoflavoni: $R_1=H$ 4',7-dihidroksiizoflavons jeb daidzeīns; $R_1=OH$ 4',5,7-trihidroksiizoflavons jeb genisteīns</p>	 <p>Flavononi: $R_1=H, R_2=OH$ 4',5,7-trihidroksiizoflavanons jeb naringenīns; $R_1=R_2=OH$ 3',4',5,7-tetrahidroksiizoflavanons jeb eriodiktiols; $R_1=OH, R_2=OCH_3$ 3',5,7-trihidroksi-4'-metoksiflavanons jeb hesperidīns</p>

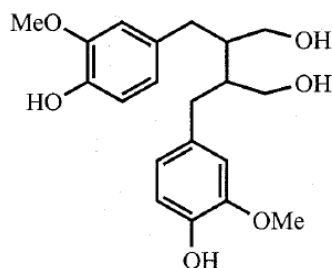
 <p>Antocianidīni: R1=R2=H 4',3,5,7-tetrahidroksicianidīns jeb pelargonidīns; R1=OH, R2=H 3',4',3,7-tetrahidroksiantocianidīns jeb cianidīns; R1=R2=OH 3',4',3,5,7-heksahidroksiantocianidīns jeb delfinidīns; R1=OCH₃, R2=OH 4',5',3,5,7-pentahidroksi-3-metoksiantocianidīns jeb petunidīns; R1=R2=OCH₃ 4',3,5,7-tetrahidroksi-3',5'-dimetoksiantocianidīns jeb malvidīns</p>	 <p>Flavanoli: R1=R2=OH, R3=H 2-[3,4-dihidroksifenil]-3,4-dihidro-1[2H]-3,5,7-triols jeb katehīns R1=R2=R3=OH Gallokatehīns</p>
 <p>Proantocianidīnu struktūrformula</p>	

Lignāni. Graudaugos ir sastopami arī lignāni, kuri pēc ķīmiskās struktūras ir pieskaitāmi fitoestrogēniem. Tie ir vaskulāro augu sekundārie metabolīti, un tiem piemīt dažādas fizioloģiskās funkcijas un derīgas īpašības [38]. Ir izpētīts, ka ar fitoestrogēniem bagāts uzturs samazina risku saslimt ar dažādiem vēža veidiem, sirds slimībām, osteoporozi un cukura diabētu [27].

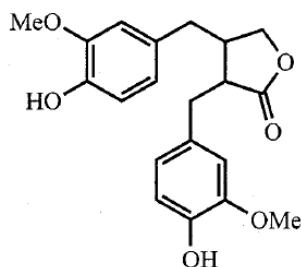
Lignāni ir atrasti koka daļās, saknēs, lapās, ziedos, augļos un sēklās. Ir noteikti vairāki simti lignānu. Tie atrodas vai nu brīvā veidā vai ar glikozīdisko saiti ir saistīti ar ogļhidrātiem [39]. Lignāni pārtikas produktos atrodas aglikona veidā kā mono- un diglikozīdi. Tie visvairāk atrodas graudaugos, sēklās, augļos, dārzeņos, kā arī tējā, kafijā un vīnā.

Galvenie pārtikas lignāni ir secoisolariciresinola diglikozīds (secoisolariciresinol diglucoside, SDG) (skat. *1.2.7.att.*) un matairesinols (matairesinol, Mat) (skat. *1.2.8.att.*), kuri savukārt pārvēršās par enterolignāniem - enterodiolu un enterolaktonu cilvēku zarnu baktēriju ietekmē. Pārtikas lignānus var arī lietot farmakoloģijā un kā pārtikas piedevu uzturā, pateicoties šo vielu spējai novērst slimību rašanos. Enterolignāniem, kurus var noteikt bioloģiskos šķidrums, piemīt antioksidantu, vājš (anti-) estrogēnu efekts, kas ir saistīts ar samazinātu risku saslimt ar krūts vēzi un sirds slimībām [27].

Lignāni koncentrējas galvenokārt tikai grauda ārējā apvalkā. Visvairāk to ir rudzu, auzu un kviešu graudos. Kopējās vidējās vērtības lignāniem, kas noteiktos graudos ir noteiktas robežās no 23 mg/100 g līdz 401 mg/100 g graudu sausā svara (skat.*1.2.2. tab.*). Atsevišķu individuālo lignānu kopējais saturs var būt katrai graudaugu sugai atšķirīgs (skat. *1.2.3. tab.*). Lignānu saturs un sastāvs pārtikas produktos ir atkarīga no izmantotajām izejvielām, to sasmalcinātības pakāpes un to pārstrādes apstākļiem [40].



1.2.5. att. Secoisolariciresinola diglikozīda struktūrformula



1.2.6. att. Matairesinola struktūrformula

1.2.4. tabula

Lignānu daudzums dažādos avotos [41].

Avots	Daudzums uz 100 g
Linsēklas	300,000 µg (0.3 g)
Sezama sēklas	29,000 µg (29 mg)
Krustziežu dārzeni	185 - 2321 µg
Graudi	7 - 764 µg
Sarkanvīns	91 µg

1.2.5. tabula

Lignānu (secoisolariciresinola, matairesinola, lariciresinola, pinoresinola) daudzums graudos [40]

Graudi	Lignānu nosaukumu saīsinājumi				mērvienības
	Seco	Mat	Lari	Pino	
Mieži	30	3	85	72	µg/100 g mitra parauga
Mieži	28	n.d.	132	45	µg/100 g sausas masas
Rudzi	38	27	324	381	µg/100 g mitra parauga
Rudzi	25	n.d.	100	n.d.	µg/100 g sausas masas
Auzas	19	71	183	194	µg/100 g mitra parauga
Auzas	n.d.	n.d.	97	304	µg/100 g sausas masas
Kvieši	n.d.	n.d.	58	n.d.	µg/100 g mitra parauga
Kvieši	35	3	62	37	µg/100 g sausas masas
Tritikāle	n.d.	n.d.	58	n.d.	µg/100 g mitra parauga

Alkilrezorcīni. Alkilrezorcīni ir no augiem iegūti fenola lipīdi, kur viena molekulas daļa ir fenola atlikums, bet otra ir lipīdu atlikums. Alkilrezorcīni lielā daudzumā atrodas grauda ārējos slāņos (graudapvalkos, aleirona slānī) Rudzos ir augstākais alkilrezorcīnu daudzums, kas var būt divas reizes lielāks nekā kviešos. Tie ir atrasti arī miežos [42].

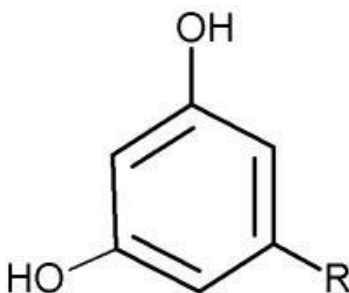
Tie ir 1, 3 - dihidroksibenzola atvasinājumi ar antibakteriālām, antioksidatīvām un pret sēnīšu īpašībām (skat.1.2.9 att.) [43].

Rafinētos produktos tie ir niecīgos daudzumos vai vispār nav. Tiem piemīt plašs bioloģiski aktīvo īpašību klāsts. Epidemioloģiskie dati parāda saistību starp pilngraudu produktu patērišanu un samazinātu risku saslimt ar dažādām hroniskām slimībām: aptaukošanās, 2. tipa diabēts, sirds slimības un vēzis.

Alkilrezorcīni spēj iesaistīties membrānās, ietekmējot tajās esošo fosfolipīdu mobilitāti, līdz ar to vai nu katalizējot, vai inhibējot membrānai piesaistīto enzīmu aktivitāti. Alkilrezorcīni ietekmē eritrocītu membrānu caurlaidību un šī īpašība ir apgriezti proporcionāla sānu ķēdes garumam – jo īsāka „aste”, jo lielāka hemolītiskā aktivitāte. Šādas alkilrezorcīnu veidotās membrānas spēj sev piesaistīt holesterīnu un taukskābes un veicina to apriti organismā.

Alkilrezorcīni ietekmē arī metabolisma procesus – tie inhibē fosforilāzi un aktivizē glikogēna sintetāzi, rosinot glikogēna sintēzi, kas kalpo kā sekundārās enerģijas rezerves (primārās ir tauki). Abu meta- pozīcijā esošo hidroksilgrupu radīto efektu dēļ to antioksidatīvā iedarbība patiesībā ir ļoti niecīga.

Graudaugu alkilrezorcīni absorbējas tievajā zarnā un izplatās pa sistēmisko asinsriti caur limfātisko sistēmu. Dažādos pētījumos ir pierādīts, ka alkilrezorcīnmetabolītu koncentrācija plazmā pieaug propocionāli uzņemtajiem pilngraudu rudzu vai kviešu produktiem [27].



1.2.7. att. Alkilrezorcīna struktūrformula

Graudos sastopamie alkilrezorcīni [44]

R	ARs nosaukumi	Saīs.	Molmasa(g /mol)
C15H31	5-n-pentadecilrezorcīns	C15:0	320
C17H35	5-n-heptadecilrezorcīns	C17:0	348
C19H39	5-n-nonadecilrezorcīns	C19:0	376
C21H43	5-n-heneikosilrezorcīns	C21:0	404
C23H47	5-n-trikosilrezorcīns	C23:0	432
C25H51	5-n-pentakosilrezorcīns	C25:0	460

Alkilrezorcīnu saturs graudaugos (mg/100 g)^a[44].

Graud a parau gs	Šķirne	C15:0	C17:0	C19:0	C21:0	C23:0	C25:0	Kopē jie ARs
Rudzi	04014-4	0,8±0,4 ^b	24±4	28±2	21,8±0,3	21±2 ^b	12±1 ^b	107,6
	Amilo	2,18±0,05	30,5±0,7	26,8±0,5	14,3±0,5	9,6±0,7	4,6±0,5	88,0
	Kaupo	1,14±0,07	31,8±0,1	29,5±0,1	19,7±0,2	14,6±0,7	8,9±0,1	105,6
	Dankovskie Diamant	2,8±0,3	34±2	30±2	19±1	14,5±0,3	8,8±0,6	109,1
	9918	1,75±0,02	25±2	25±1	16,3±0,8	10,9±0,9	8,1±0,4	87,1
	Picaso	2,0±0,4	34±4	31±2	22±2	14±2	9±1	112,0
Pavasa ra kvieši	L920 Uffo	n.d. ^c	1.96±0.05	13,7±0,2	20,2±0,6	4±1	0.38±0.03	40,2
	L934 Eminent	n.d.	n.d.	5±1	11±2	7.7±0.2	0.343±0.004	24.0
Ziemas kvieši	Spelta (ID)	n.d.	3,9±0,1	8,3±0,6	18,3±0,4	5,8±0,2	0,97±0,09	37,3
	96-58	n.d.	5±1	13,6±0,2	16,7±0,1	2,1±0,1	0,34±0,02	37,7
Tritikā le	Falmore	n.d.	n.d.	3,2±0,3	9,5±0,7	16±3	3,4±0,2	32,1
	Nazaret	n.d.	4±2	12±4	15±2	11,1±0,4	2,0±0,2	44,1
	302	n.d.	12,1±0,7	23±1	21,0±0,7	15±2	3,28±0,01	74,4

Graud a parau gs	Šķirne	C15:0	C17:0	C19:0	C21:0	C23:0	C25:0	Kopē jie ARs
Mieži	Jet	n.d.	n.d.	n.d.	1,5±2	0,17±0,02	2,0±0,8	3,7
	1196	n.d.	n.d.	n.d.	1,2±0,8	n.d.	1,0±0,7	2,2
Auzas	S-156	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Arta	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

^a Vidējās vērtības ± standartnovirze.

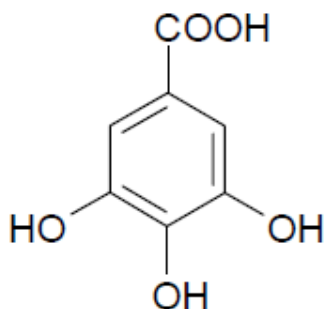
^b C15:0, C23:0 and C25:0 – semikvantitatīvi rezultāti.

^c n.d. = nav atrasti (IDL of C17: - C21:0 < 0.5 mg/100 g).

1.3. Analīžu metodes bioloģiski aktīvu savienojumu noteikšanai labības graudos

1.3.1. Fenola savienojumu noteikšana

Kopējo fenola savienojumu satura noteikšana. Nosaka dažādos augu valsts izcelsmes produktos, izmantojot kolorimetrisko metodi, kas pamatojas uz oksidēšanās – reducēšanās reakciju, augu ekstraktos esošo fenola savienojumu reakciju ar Folina – Čikolto reaģentu. Šī reaģenta sastāvā ietilpst polimēri joni, kas izveidojušies no fosfovolframskābes $2\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \text{WO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ un fosfomolibdēnskābes $\text{H}_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($x = 5 - 29$). Šie joni oksidē fenola savienojumus un paši reducējas līdz zilam Mo - W kompleksam. Fenola savienojumu stabilitāti panāk, radot šķīdumā sārmainu vidi un augstu Folina-Čikalteu reaģenta koncentrāciju. Pēc tam spektrofotometriski tiek mērīta ekstrakta gaismas absorbcija pie 765 nm. Par standartvielu parast izmanto galluskābi un kopējo fenola savienojumu saturu izsaka galluskābes ekvivalentos (GSE). Var izmantot arī ferulskābi un fenola savienojumu saturu izteikt tās ekvivalentos [9, 27, 45].



1.3.1. att. 3,4,5-trihidroksi-benzoskābe (galluskābe)

Kopējais fenolu saturs miežos ir atkarīgs no šķirnes, veida un augšanas apstākļiem. Dažādos ražas gados pētītajos miežu paraugos kopējo fenolu saturs svārstās robežās no 113,87 līdz 227,95 mg GAE 100 g⁻¹ kailgraudu miežu sausnā un no 181,04 līdz 216,04 mg GAE 100g⁻¹ plēkšņaino miežu sausnā. Iegūtie dati ir līdzīgi citu autoru pētījumu rezultātiem: 132–196 mg GAE 100g⁻¹sausnā, 103–187 GAE 100g⁻¹sausnā, 50–196 mg GAE 100g⁻¹sausnā, kā arī kailgraudu miežiem 70–110 mg GAE 100g⁻¹sausnā.

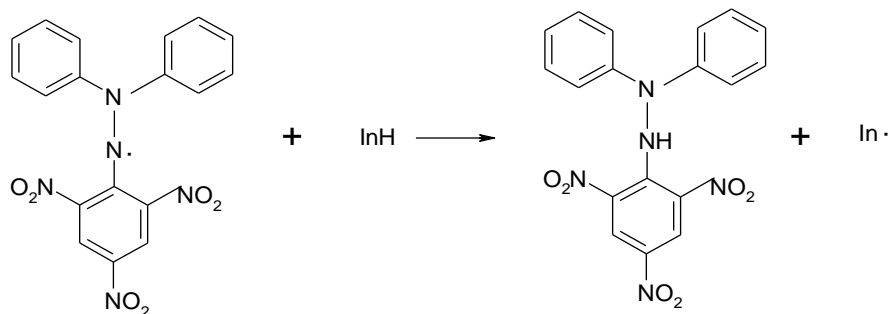
Kopējo fenolu saturs atšķirības dažādos ražas gados vienai un tai pašai šķirnei var izskaidrot ar augšanas apstākļu atšķirībām, kā arī ar izmantotā sēklmateriāla īpašībām. Vienādi klimatiskie apstākļi nenodrošina līdzīgu kopējo fenolu saturu dažādām miežu šķirnēm. Ir pētīts, ka kopējo fenolu saturs miežos nav saistīts ar grauda plēksnes esamību vai trūkumu. Kopējo fenolu saturu miežos nosaka sēklmateriāla fizikāli-ķīmiskie rādītāji, klimatiskie un agrārie apstākļi. Miežu veids – kailgraudu vai plēkšņainie – nav noteicošais faktors kopējo fenolu saturam [37].

Antiradikālās aktivitātes noteikšanas metodes. Antiradikāla darbība raksturo spēju savienojumam reaģēt ar brīvu radikāli (vienā brīvo radikālu reakcijā), bet antioksidantu aktivitāte (AOA) ir spēja inhibēt oksidēšanās procesu. Lai novērtētu fenola savienojumu nozīmi brīvo radikāļu metabolismā, jānoskaidro to ietekme gan uz radikāļu veidošanās procesiem, gan uz radikāļu izraisītām reakcijām. Tā kā ar parastajām bioķīmiskajām metodēm ir grūti izpētīt un kvantitatīvi noteikt šūnās esošo radikāļu koncentrāciju, tad fenola savienojumu raksturošanai izmanto to spēju inaktivēt brīvos radikāļus, t.i. noteikt to antiradikālo aktivitāti (ARA). Vēl var izmantot arī reakcijas, kurās Fe^{3+} joni reducējas par Fe^{2+} joniem [59].

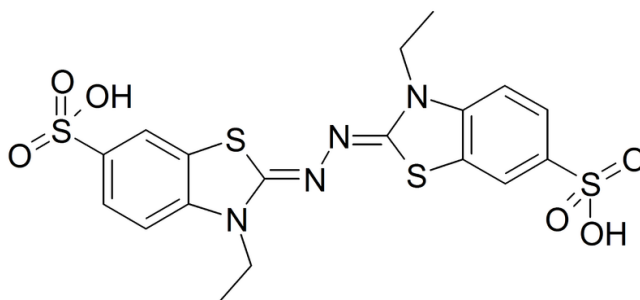
Visplašāk dabisko antioksidantu pētīšanai tiek izmantotas metodes ar 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPFH) un 2,2'-azino-bis-3-etil-benzotiazolīn-6-sulfāta (ABTS) radikāliem. DPFH radikālim ir raksturīgs absorbcijas maksimums pie 517 nm un reakcijā ar ūdeņraža donoriem novēro absorbcijas samazināšanos. Tas ir stabils radikālis pateicoties elektrona delokalizācijai uz visu tā molekulu. Kā rezultātā molekula neveido dimērus kā citi līdzīgi radikāļi. Metode pamatojas uz DPFH reducēšanu par attiecīgo hidrazīna atvasinājumu. Tā ir droša un ātra metode, kur spektrofotometriski mēra krāsu izmaiņu no purpursarkana līdz bāli dzeltenam. Antiradikālo aktivitāti izsaka kā IC50, tas ir koncentrāciju, pie kuras DPHF absorbcija samazinās par 50%, inhibēšanas koeficientu vai reakciju ātrumu. Ar šo metodi var noteikt aktīvus radikāļu ķērijus, piemēram, pilngraudu miltos un to pārstrādes produktos esošo fenola savienojumu antiradikālo aktivitāti.

ABTS metode pamatojas uz ABTS katjonradikāla veidošanos un tā inhibēšanu. ABTS katjonradikāliem mijiedarbojoties ar antioksidantu, novēro absorbcijas maksimuma samazināšanos. Absorbcijas izmaiņas mēra pie 734 nm [47, 59].

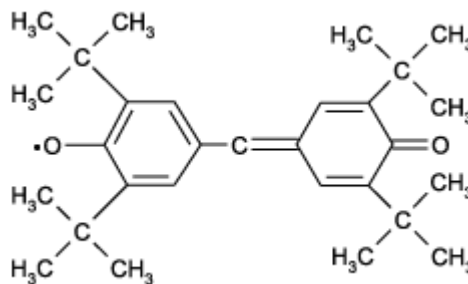
Vēl viens stabils radikālis, kas reaģē ar ūdeņraža donoriem, ir galvinoksils (skatīt *1.3.4 att.*). Tā absorbciju mēra pie 428 vai 432 nm [27, 46].



1.3.2. att. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DFPH) reakcija



1.3.3. att. 2,2'-azino-bis-3-etil-benzotiazol-6-sulfāta struktūrformula



1.3.4. att. Galvinoxila radikāļa struktūrformula

Hromatogrāfiska fenola savienojumu noteikšana. Fenola savienojumu noteikšanai graudos un to parstrādes produktos piemērota apgrieztās fāzes šķīdumu hromatogrāfijas metode. Atdalīšanas pamatā ir dažādu fenola savienojumu atšķirības hidrofobitātē. Savienojumu kvalitatīvai un kvantitatīvai noteikšanai izmanto standartvielas. Diemžēl AEŠH izmantošana kvantitatīvai kopējo fenola savienojumu noteikšanai ir ierobežota ar vienkāršākajiem fenola

savienojumu klases pārstāvjiem. Kaut gan AEŠH sniedz precīzus, konkrētus rezultātus par individuāliem fenola savienojumiem, tomēr tā nevar sniegt informāciju par kopējo fenola savienojumu saturu petāmajā paraugā, tāpēc pārsvarā to izmanto atsevišķu fenola savienojumu kvantitatīvai noteikšanai vai identificēšanai. Piemēram, visbiežāk sastopamais antociānīns purpura miežos bija cianidīn 3-glikozīds, bet antociānīns delfinidīna 3-glikozīds visvairāk ir zilajos un melnajos miežos [49, 50].

Lai identificētu fenola savienojumus, izmanto hromatogrāfisko izdalīšanās faktoru k' atbilstību, ko aprēķina pēc formulas:

$$k' = (t_R - t_0)/t_0, \quad (1.1.)$$

k' – izdalīšanās faktors;

t_R – fenola savienojumu izdalīšanās laiks, min;

t_0 – laiks, kādā no kolonnas izdalās kustīgā fāze, min.

Apgrieztās fāzes metodē savienojumi izdalās to polaritātes samazināšanās secībā, tāpēc var lietot polārus šķīdinātājus - metanolu, acetonitrilu u.c. Lai būtu vieglāk identificēt fenola savienojumus, nosaka teorētisko izdalīšanās secību, aprēķinot Rekkera hidrofobitātes konstanšu summu standartvielām – jo polārāks savienojums, jo negatīvāka konstante. Lai novērstu fenola savienojumu jonizāciju, reizēm izmanto kustīgās fāzes ar skābju (etiķskābes un fosforskābes) piedevām. Šajā gadījumā kā nekustīgo fāzi visbiežāk izmanto oktadecilsilikagelu (ODS, C18, RP-18), bet kā kustīgo fāzi – buferšķīdumu maisījumu ar polāriem šķīdinātājiem (metanolu, acetonitrilu) [49].

Tika noteikts fenola savienojumu un antociānu saturu izmantojot HPLC, vidējais KFSS kailgraudu miežos (268,6 $\mu\text{g} / \text{g}$), bija augstāks nekā plēkšņainajos (207,0 $\mu\text{g} / \text{g}$) ($P > 0,05$). Proantociānīnu saturs noteikts pēc modificētā vanilīna testa. To vidējais saturs bija ievērojami augstāks purpura un zilā miežu grupās, salīdzinot ar melnajiem miežiem ($P < 0,05$). Antociānu saturs svārstījās 13,0-1037,8 $\mu\text{g} / \text{g}$. Purpura un zilā miežu grupu sastāvā bija augstākas arī vidējais antociānu saturs nekā melnajos miežos ($p < 0,05$). Visbiežāk sastopamais antociānīns purpura miežos ir cianidīn 3-glikozīds, bet delfinidīna 3-glikozīds ir visbiežāk sastopamais antociānīns ir zilajos un melnajos miežos. Krāsainajiem miežiem, DPPH radikāļa aktivitātei ir liela pozitīva korelācija ar fenola savienojumu saturu un proantociānīniem [50].

1.3.2. Alkilrezorcīnu noteikšana

Hromatogrāfiska alkilrezorcīnu noteikšana. Lai noteiktu alkilrezorcīnu saturu graudos, visizplatītākā metode ir gāzes hromatogrāfija, pirms kuras tos vispirms pārvērš par attiecīgajiem trimetilsililesteriem.

Paraugu sagatavošana sastāv no vairākiem etapiem:

1. attaukošana - sākotnējā maisījumu attīrīšana no olbaltumvielām un taukiem, to apstrādā ar speciāliem šķīdumiem;
2. hidrolīze;
3. ekstrakcija – parauga attīrīšana.

Alkilrezorcīnolus ekstrahē no miltiem, maisot tos etilacetātā istabas temperatūrā. Etilacetātu atdala rotācijas ietvaicētājā, sausajam atlikumam pievieno trimetilsililētera reaģentu (Tri-Sil) un neilgu laiku silda. Lieko Tri-Sil atdala ar rotācijas ietvaicētāju, savukārt radušos alkilrezorcīnu trimetilsilil atvasinājumus atkārtoti izšķīdina etilacetātā. Iegūtais šķīdums lietojams hromatogrāfijai. Uzņem masspektu, par nesējgāzi lietojot hēliju [49, 51].

Alkilrezorcīnu noteikšana ar augsti efektīvu šķidrums hromatogrāfiju ar ultra violetu detektoru (AEŠH-UV). Pazīstamākā šķidrums hromatogrāfijas metode balstās uz hromatogrammu uzņemšanas pēc reakcijas ar diazokrāsvielu Fast Blue B. Vispirms tiek uzņemtas hromatogrammas standartvielām, pēc tam no kalibrācijas taisnēm iespējams aprēķināt analizējamajos paraugos esošo AR daudzumu [49, 51].

AEŠH-UV ir ātra un jutīga metode alkilrezorcīnu noteikšanai Latvijā audzētos graudos. Instrumenta detektēšanas robeža tika noteikta C17:0, C19:0 un C21:0 homoloģiem (variācijas koeficients < 3%).

Pēc pētījuma iegūtajiem rezultātiem AR saturs rudzos ir atrasts robežās no 87.1 līdz 112.0 mg/100g, kviešos no 24.0 līdz 40.2 mg/100g, tritikālē no 32.1 līdz 74.4 mg/100g, nedaudz miežos no 2.2 līdz 3.7 mg/100g, bet auzās netika atrasts [44].

1.3.3. Flavonolu noteikšana

Flavonolu kvantitatīvai noteikšanai izmanto diferenciālās spektrofotometrijas metodi ar kompleksveidojošiem reaģentiem. Flavonolu noteikšanai ekstraktos ir izmantota flavonolu spēja veidot kompleksus savienojumus ar Al³⁺ joniem. Skābā vidē nestabilie kompleksi ar orto-

dihidroksigrupējumiem sadalās. Kompleksi starp C-4 karbonilgrupu un C-3 un C-5 karbonilgrupām saglabājas un izsauc nobīdi UV spektrā, kas ļauj atšķirt flavonolus no kopējiem fenola savienojumiem. Tādējādi visus flavonolus var noteikt pēc absorbcijas intensitātes tajā UV spektra daļā, kur veidojas komplekso savienojumu maksimums [45, 53].

1.3.4. Proantocianidīnu noteikšana

Proantocianidīnu noteikšanā galvenokārt izmanto reakcijas ar vanilīnu. Proantocianidīni reaģē ar aldehīdiem skābā vidē. Vanilīns ar proantocianidīniem veido sarkanīgu krāsojumu. Gaismas absorbciju mēra pie 500 nm. Vanilīns stehiometriski reaģē ar savienojumiem, kuri m-stāvoklī satur di- un trihidroksiaizvietotājus benzola gredzenā. Kā katalizatoru izmanto sērskābi [45, 52, 53]. Proantocianidīnu monomērus var identificēt ar HPLC un masspektrometrijas analīzi [63].

1.3.5. Antocianīnu noteikšana

Kopējais antocianīnu saturs tiek noteikts izmantojot pH-diferenciācijas metodi. Paraugi tika ekstrahēti izmantojot etanola:1 N HCl (85:15, v/v) brūnā pudelē, tādējādi novēršot gaismas ietekmi. Ekstrakts (1 mL) tiek ievietots 25 mL mērkolbā, kura pēc tam uzpildīta ar buferšķīdumu (1.49 g of KCl/100 mL ūdens un 0.2 N HCl attiecībā 25:67, pH 1.0). Šķīdums tiek samaisīts. Cits ekstrakta paraugs (1 mL) arī tiek ievietots 25 ml mērkolbā un uzpildīts ar buferšķīdumu (1.64 g Na acetāts /100 mL ūdens, pH 4.5) un samaisīts. Absorbcija tika aprēķināta pēc formulas:
$$\Delta A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

Cianīda 3- glikozīda molārais ekstikcijas koeficients ir 26,900. Rezultāts tiek aprēķināts izmantojot vienādojumu, to izsakot kā miligramus no cianīda 3- glikozīda ekvivalenta pret gramu saussvara: Kopējie antocianīni(mg/g)=($\Delta A/\epsilon L$) \times MW \times D \times (V/G)

Kur ΔA ir absorbcija, ϵ – cianīda 3-glikozīda molārais ekstikcijas koeficients (26,900), L – šūnas garums (1 cm), MW – antocianīna molmasa(449.2), D – atšķaidījuma faktors, V - kopējais tilpums (mL), un G – paraugu svars(g). Noteikšana tiek veikta vismaz divreiz [54].

Tika pētīti ar antocianīniem bagāti miežu graudu acetona ekstrakti ar četriem kailgraudu pigmentācijas genotipiem. Purpura miežu šķirnē tika atrasti 11 antociānu, bet zilajos, melnajos un dzeltenajos miežos tika atrasts tikai viens antociāns - peonidīna atvasinājums, Kopējais antociānu saturs pigmentētajos miežu genotipos tika noteikts no 3,2 līdz 678,5 mg kg⁻¹ pilngraudos un no 4,5 līdz 1654,6 mg kg⁻¹ klijās. Purpura miežu kliju ekstrakts uzrādīja visaugstākās DPPH radikāļa

un superoksīda radikāļu aizvākšanas spējas, un kopējo antioksidantu aktivitāti. Purpura miežiem ir liels potenciāls cilvēku veselības veicināšanā un funkcionālās pārtikas attīstībā [55].

1.3.6. Flavonoīdu noteikšana

Kopējais flavonoīdu daudzums tiek noteikts ar alumīnija hlorīda kolorimetrisko metodi, kur katehīns tiek lietots kā salīdzināšanas savienojums.

Paraugs (1 mL) tiek sajaukts ar 4 mL destilētu ūdeni un pēc tam ar 0,3 mL NaNO_2 šķīdumu (15%, wt/vol). Pēc 6 minūtēm tiek pievienots 0,3 mL AlCl_3 šķīduma (10%, wt/vol) un ļauj nostāvēties uz 6 minūtēm; tad pievieno maisījumam 4 mL NaOH šķīdumu (4%, wt/vol). Uzreiz tiek pievienots ūdens, lai panāktu galīgo tilpumu 10 ml, un pēc tam maisījums tiek rūpīgi sajaukts un nostādināts vēl 15 minūtes. Absorbēcija maisījumam tiek noteikta pie 510 nm. Rezultāti tiek izteikti katehīna ekvivalentos (mg katehīna / g žāvētu ekstraktu).

Flavonoīdu saturu izsaka katehīna ekvivalentos (KE) pēc formulas:

$$C = a \cdot c \cdot (V/m) \cdot 100 \quad (2.3.)$$

C- flavonoīdu saturs, KE, mg/100g;

V – ekstrakta tilpums, ml;

a – atšķaidīšanas faktors, reizes;

c – katehīna koncentrācija, ko nolasa no kalibrēšanas taisnes, mg/ml;

m – sausnes masa tilpumā V, g; [56].

1.3.7. Lignānu noteikšana

Augu paraugos lignāni tiek analizēti ar AEŠH - tandēma masspektrometriju. Tiek piemērotas četras dažādas ekstrakcijas metodes: sārma ekstrakcija, vājas skābes ekstrakcija, kombinētā sārma un vājas skābes ekstrakcija vai paātrināta šķīdinātāja ekstrakcija. Ekstrakcijas metodei ir liela nozīme lignānu noteikšanā. 7-Hidroksimatairesinols, kas iepriekš nebija konstatēts labībā dēļ nepiemērotajām ekstrakcijas metodēm, bija dominējošais lignāns kviešos, tritikālē, auzās, miežos, prosā un kukurūzas klijās. Siringaresinols bija otrs dominējošais lignāns graudaugos. No visiem graudaugiem visaugstākais lignānu saturs bija kviešu un rudzu klijās;

tomēr līdz šim no visām pētītajām sugām visbagātākās ar lignāniem ir linsēklas un sezama sēklas [57].

1.3.8. Minerālvielu noteikšana

Paraugu mineralizācija. Aleksejevs, I. : „Paraugu organiskās daļas sadalīšanai tiek lietoti galvenokārt divi mineralizācijas veidi: sausā un slapjā mineralizācija. Pelni ir neorganiskie atlikumi pēc sadegšanas vai organisko vielu pilnīgas oksidācijas.

Mineralizācijas procesu paātrina, izmantot mineralizāciju mikroviļņu krāsnī. Analīzei parasti izmanto 0,5 -10 g parauga, ko izvēlas atkarībā no mineralizācijas veida. Sausajai mineralizācijai ir jāizvēlas tāda temperatūra, lai pilnīgi atbrīvotos noorganiskajām vielām. Sākumā paraugu pārogle, bet, pēc tam mineralizē tā, lai iztvaikošanas procesā nezaudētu pētāmo vielu un, lai neveidotos skābēs nešķīstošas nogulsnes. Jāizvairās no parauga uzliesmošanas, kura izraisa gaistošo elementu (Hg, As, Se) zudumus. Mineralizāciju veic korunda, porcelāna, kvarca vai platīna tīģeļos. Nosakāmo elementu atgūstamība ir 70 –90%

Slapjās, tāpat kā sausās mineralizācijas procesā var rasties gaistošo elementu zudumi.

Mineralizācija noris tik ilgi līdz iegūtais maisījums kļūst dzidrs un tas ir ātrāks parauga sadalīšanas veids.

Slapjās mineralizācijas trūkumi ir tādi, ka nepieciešama pastāvīga operatora uzmanība un vienā reizē var apstrādāt tikai nelielu skaitu paraugu. Viena skābe slapjajā mineralizācijā nedod pilnīgu un ātru organisko vielu oksidāciju, tādēļ parasti izmanto skābju maisījumus”[64].

Metodes. Miežu graudos mikro- un makroelementus kvantitatīvi var noteikt ar AOAC atomu absorbcijas spektrometrijas standartmetodi, izmantojot sauso mineralizāciju. Pb un Cd pārtikas produktos parasti nosaka ar grafiņa krāsns AAS. Zn, Cu, un Fe vairumā pārtikas produktu var noteikt ar liesmas AAS [62]. Makroelementi augos var tikt analizēti ar dažādām analīžu metodēm, piemēram, slāpekli - ar Kiejdahla metodi; fosforu - ar vanādija-molibdēna metodi; kāliju, kalciju un nātriju - ar emisijas atomu spektrometriju (EAS); un magniju - ar atomu absorbcijas spektrometriju (AAS) [65].

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Darbā izmantotās graudu šķirnes

Lai varētu noteikt fenola savienojumu saturu pārtikas graudos, eksperimentos tika izmantoti kontrolētos apstākļos Latvijas Stendes graudaugu selekcijas institūtā audzēti miežu graudi. (1. tab.).

2.1. tabula

Darbā izmantotās miežu graudu šķirnes

Nr.p.k.	Graudu šķirnes nosaukums	Piezīmes
1.	IC-360 1/1,1	K, +80
2.	IC-360 1/1,2	K, +120
3.	IC-360 1/1,3	K, +160
4.	IC-360 1/1,4	K, BIO
5.	Ansis 1/2,1	P,+80
6.	Ansis 1/2,2	P, +120
7.	Ansis 1/2,3	P,+160
8.	Ansis 1/2,4	P,BIO
9.	1165 1/3,1	K, +80
10.	1165 1/3,2	K, +120
11.	1165 1/3,3	K, +160
12.	1165 1/3,4	K, BIO
13.	1185 1/4,1	K, +80
14.	1185 1/4,2	K, +120
15.	1185 1/4,3	K, +160
16.	1185 1/4,4	K, BIO

*Apzīmējumi: K – kailgraudu mieži

P – plēkšņainie mieži

+80 – pamatmēslojums, kg/ha (NO_3^- un NH_4^- attiecībā 1:1)

+120 - paaugstināts barības vielu nodrošinājums (1,5 reizes vairāk kā pamatmēslojums)

+160 - paaugstināts barības vielu nodrošinājums (2 reizes vairāk kā pamatmēslojums)

BIO – audzēts bioloģiskās sistēmas laukos (mainot 8 lauku seku)

Kopā novērtēšanai izmantoja 16 miežu graudu paraugus, kas iegūti no četrām dažādām miežu šķirnēm, no kurām viena ir plēkšņaino miežu šķirne, bet pārējās trīs ir kailgraudu miežu šķirnes. Tiem piemēroti atšķirīgi audzēšanas apstākļi – katrai šķirnei divi paraugi ar paaugstinātu barības vielu nodrošinājumu (120 kg/ha un 160 kg/ha) konvencionālās audzēšanas sistēmas laukos, viens paraugs nodrošināts ar pamatmēslojumu (80 kg/ha) un viens paraugs audzēts bioloģiskās sistēmas laukos, kur graudu augšanai barības vielas tiek nodrošinātas katru gadu mainot 8 augu kultūru augšanas secību.

2.2. Kopējā fenola savienojumu satura noteikšana

Iekārtas un reaģenti kopējā fenola savienojumu satura (KFSS) un antiradikālās aktivitātes (ARA), reducējošās aktivitātes un proantocianidīnu noteikšanai:

Iekārtas:

- laboratorijas svāri KERN 440-33 (precizitāte $\pm 0,01$ g);
- analītiskie svāri Precisa XB 220A (precizitāte $\pm 0,1$ mg);
- iekārta šķīdumu maisīšanai Biosan Multi Bio RS – 24, S/N: 320701019;
- spektrofotometrs UVIKON 930 (precizitāte $\pm 0,0001$), sērijas nr.: 12930973;
- magnētiskie maisītāji;
- centrifūga Eppendorf 5702
- centrifūga *PY-180L* (3000 apgriez.min.)

Reaģenti:

- 10% Folina – Čikalteo (Folin – Ciocalteu, phenol reagent) šķīdums, Scharlau, sērijas nr. RE00180250;
- Gallusskābe $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$, Sigma-Aldrich, CAS 149-91-7 (Xi);
- Nātrija karbonāts Na_2CO_3 , PENTA Index No.:011-005-00-2, (Xi; R36; S: (2), 22, 26);
- 50% un 96% etilspirts $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (F; R11; S: (2), 7, 16);
- Difenilpikrilhidrazila (DFPH) radikālis, Sigma-Aldrich, CAS 1898-66-4 (Xn);
- Heksāns C_6H_{14} (F, Xn, N; R: 11, 38, 48/20, 51/53, 62, 65, 67; S: (2), 16, 29, 33, 36/37);

- Galvinoksila radikālis, Sigma-Aldrich, CAS 2370-18-5;
- ABTS diamonija sāls $C_{18}H_{24}N_6O_6S_4$, 98%, Sigma-Aldrich, CAS 30931-67-0 (Xi R36/37/38);
- Kālija persulfāts, $K_2S_2O_8$, Lachema, CAS 7727-21-1(O,Xn, Xi R8, R22, R36/37/38, R42/43(S2), S22, S24, S26, S37);
- Kālija heksacianoferāts, $K_3Fe(CN)_6$, Lachema,
- Trihloretiķskābe, Ferak
- $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, Lachema
- (+)-katehīns, hidrāts, $C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$, Sigma-Aldrich, CAS 225937-10-0 (Xi R36/37/38);
- metanols, 99%, Poch
- sērskābe, 98%, Penta
- vanilīns, 99%, Sigma-Aldrich, CAS 121-33-5 (Xi R36)

Šajā darbā kopējo fenola savienojumu saturu noteica, izmantojot kolorimetrisko metodi, kura pamatojas uz fenola savienojumu reakciju ar Folina – Čikalteo reaģentu (FCR), kurā fenola savienojumi oksidējas, veidojot zilu Mo-W kompleksu; kā standartvielu izmanto galluskābi [9, 45].

Šķīdumu pagatavošana:

- galluskābes šķīdumu kalibrēšanas taisnes uzņemšanai gatavoja, uz analītiskajiem svāriem nosverot precīzi 60 mg galluskābes un izšķīdinot 500 mL mērkolbā. Iegūto šķīdumu ($\gamma=0,120$ mg/mL) atšķaidīja piecās 100 mL mērkolbās līdz šādām koncentrācijām : 0,0075 mg/mL, 0,015 mg/mL, 0,030 mg/mL, 0,060 mg/mL un 0,090 mg/mL;
- 10% Folina – Čikalteo šķīdumu gatavoja, atšķaidot 10 mL tīra FCR 100 mL mērkolbā līdz atzīmei;
- 7,5 % nātrija karbonāta šķīdumu gatavoja, 15 g sausa Na_2CO_3 izšķīdinot 185 mL destilēta ūdenī.

Paraugu sagatavošana:

Uz laboratorijas svāriem nosvēra 1 g saberztu graudu (graudu miltu) un pārnesa koniskajā kolbā, pievienoja 30 mL heksāna un maisīja ~2 h, lai attaukotu. Pēc tam heksānu dekantēja, sauso atlikumu izžāvēja, ļaujot heksāna paliekām iztvaikot. Attaukotiem graudu miltiem pievienoja 30

mL 50% etanola un maisīja 2 h uz magnētiskā maisītāja, pirmās 15 minūtes sildot (temperatūrai neļaujot pārsniegt 60°C). Suspensiju centrifugēja un dekantēja, iegūto ekstraktu izmantoja KFSS, ARA ,proantocianidīnu un reducējošās aktivitātes noteikšanai.

Kalibrēšanas taisnes iegūšana:

1 mL katra pagatavotā galluskābes standartšķīduma pievienoja 5 mL 10 % Folina – Čikalteo reaģenta un 4 ml 7,5 % Na₂CO₃ šķīduma, mēģenes ievietoja šķīdumu maisītājā. Pēc 30 min mērīja šķīdumu absorbciju (b=1 cm, λ=765 nm). Salīdzināšanas šķīdumu gatavoja tāpat, kā pārējos, tikai galluskābes šķīduma vietā izmantoja destilētu ūdeni.

KFSS noteikšana:

1 mL graudu ekstrakta pievienoja 5 mL 10 % Folina – Čikalteo reaģenta un 4 ml 7,5 % Na₂CO₃ šķīduma, tad mēģenes ievietoja šķīduma maisītājā. Reakcijas laikā vērojama suspensijas veidošanās, tāpēc šķīdumus pirms absorbcijas mērīšanas filtrēja. Pēc 30 min mērīja absorbciju, lietojot tādu pašu salīdzināšanas šķīdumu un apstākļus, kā uzņemot kalibrēšanas taisni.

Kopējo fenola savienojumu saturu ekstraktā izteica galluskābes ekvivalentos, lietojot formulu:

$$C = \frac{a \cdot \gamma \cdot V \cdot 100}{m} \quad (2.1.)$$

C – KFSS, GSE mg/100 g parauga;

a – ekstrakta atšķaidījums, reizes;

γ – KFSS masas koncentrācija noteikta pēc kalibrēšanas taisnes, mg/mL;

V – etanola tilpums, mL;

m – parauga masa, g;

Aprēķināto KFSS analizētajos miežu graudu paraugos skatīt 3.2. tab.

2.3. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar DFPH

Difenilpikrilhidrazils ir stabils, N- centrēts brīvais radikālis [59].

Iekārtas un reaģenti skat. 2.2. nod.

Šķīdumu pagatavošana:

Radikāļa šķīdumu pagatavoja, izšķīdinot 4 mg uz analītiskajiem svāriem nosvērta difenilpikrilhidrazila (DFPH) radikāli izšķīdinot 96 % etanolā, 100 mL mērkolbā. Nosaka šī šķīduma kontroles absorbciju A₀, pie 3,6 mL radikāļa šķīduma pievienojot 0,3 mL 50 % etanola (b=1 cm, λ=517 nm). Par salīdzināšanas šķīdumu lietoja 50 % etanolu.

Antiradikālās aktivitātes noteikšana:

ARA noteikšanai lietoja to pašu graudu ekstraktu, kas tika izmantots arī KFSS noteikšanā (skat 2.2 nod., paraugu sagatavošana). Pie 0,3 mL graudu ekstrakta pievienoja 3,6 mL DFPH šķīduma un maisīja šķīduma maisītājā, pēc 15 min reakcijas maisījumu filtrēja un mērīja absorbciju ($b=1\text{ cm}$, $\lambda=517\text{ nm}$).

ARA aprēķināja, izsakot, cik liela daļa radikāļa izreaģējusi ar ekstraktu:

$$ARA = \frac{(A_0 - A_p) \cdot 100\%}{A_0} \quad (2.2.)$$

A_0 – kontroles absorbcija;

A_p – parauga absorbcija [46].

Miežu graudu ekstraktu absorbcijas mērījumus un iegūtos ARA rezultātus skatīt 3.3. tab.

2.4. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar galvinoksilu

Galvinoksils ir stabils radikālis, kas reaģē ar ūdeņraža donoriem. Iegūto graudu ekstraktu antiradikālā aktivitāte (ARA) tika noteikta pēc galvinoksila radikāļa šķīduma absorbcijas samazināšanās noteiktā laikā.

Galvinoksila radikāļiem ir raksturīgs absorbcijas maksimums pie 432 nm un reducējoties notiek absorbcijas samazināšanās [59].

Iekārtas un reaģenti skat. 2.2. nod.

Šķīduma pagatavošana:

$1 \cdot 10^{-4}$ M galvinoksila šķīdumu pagatavoja 4 mg vielas izšķīdinot 96% etanolā un 10 ml iegūtā galvinoksila šķīdumu atšķaidot 100 ml mērkolbā ar 96% etanolu.

Antiradikālās aktivitātes noteikšana graudu ekstraktos:

Pie 3,6 ml galvinoksila šķīdumu, pievieno 0,3 ml 50% etanola un izmēra absorbciju kontroles šķīdumam.

ARA noteikšanai lietoja to pašu graudu miltu ekstraktu, kas tika izmantots KFSS noteikšanā (skat 2.2 nod., paraugu sagatavošana). Pie 3,6 ml galvinoksila šķīdumam pievienoja 0,3 ml graudu ekstrakta šķīduma, kuru samaisīja un pēc 20 minūtēm (25°C) mērīja absorbciju pie 432 nm.

Antiradikālās aktivitātes (ARA) aprēķināšana:

ARA rēķināja, izsakot procentos, cik daudz galvinoksila ir izreaģējis ar miežu graudu ekstraktiem pēc formulas (2.2.).

Graudu ekstraktu absorbcijas mērījumi un iegūtie ARA rezultāti apkopoti 3.4. tabulā.

2.5. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar ABTS

ABTS metode pamatojas uz ABTS katjonradikāla veidošanos un tā inhibēšanu. ABTS katjonradikāliem mijiedarbojoties ar antioksidantu, novēro absorbcijas maksimuma samazināšanos. Absorbcijas izmaiņas mēra pie 734 nm [59].

Iekārtas un reaģenti skat. 2.2. nod.

Šķīdumu pagatavošana:

ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolīn-6-sulfonāts)) ir raksturīgs absorbcijas maksimums pie 342 nm.

7mM ABTS šķīdumu pagatavoja, 48 mg vielas izšķīdinot 12,5 ml dejonizētā ūdenī

2,45mM $K_2S_2O_8$ šķīdumu pagatavoja, 8 mg vielas izšķīdinot 12,5 ml dejonizētā ūdenī.

-ABTS radikāla šķīdums pagatavoja, sajaļot kopā 7mM ABTS šķīdumu un 2,45 mM $K_2S_2O_8$ šķīdumu, tad noslēdza trauku ar folliju un atstāja šķīdumu tumšā vietā istabas temperatūrā 12-16 stundas;

2 ml iegūtā šķīdumu atšķaidīja 100 ml mērkolbā ar 96% etanolu un mērija absorbciju pie 734 nm

Antiradikālās aktivitātes noteikšana graudu ekstraktos:

ARA noteikšanai lietoja to pašu ekstraktu, kas tika izmantots KFSS noteikšanā (skat 2.2 nod., paraugu sagatavošana). Pie 3,5 ml ABTS darba šķīdumam pievienoja 0,35 ml graudu ekstrakta šķīduma, samaisīja un pēc 6 minūtēm mērija absorbciju (25°C) pie 734nm.

Antiradikālās aktivitātes (ARA) aprēķināšana:

ARA aprēķināja, izsakot procentos, cik daudz ABTS radikālis ir izreaģējis ar miežu graudu ekstraktiem pēc formulas (2.2.).

Graudu ekstraktu absorbcijas mērijumi un iegūtie ARA rezultāti apkopoti 3.5. tabulā.

2.6. Reducējošās aktivitātes noteikšana

Metodes pamatā ir Fe^{3+} jonu reducēšanās par Fe^{2+} joniem. Kālija heksaferrocianīds $K_3[Fe^{3+}(CN)_6]$ reducētāju klātbūtnē pāriet $K_4[Fe^{2+}(CN)_6]$ formā, kuram iedarbojoties ar Fe^{2+}

oksidēto formu, veidojas $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ savienojums zilā krāsā. Absorbciju mēra pie 700nm viļņu garuma [59].

Iekārtas un reaģenti skat. 2.2. nod.

Reaģentu šķīdumu pagatavošana:

1% $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ šķīdumu pagatavoja 1,0 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ vielas 100ml mērkolbā atšķaidot ar destilētu ūdeni

10% trihloretikskābes šķīdumu pagatavoja 1,0 g CCl_3COOH atšķaidot 100ml mērkolbā ar destilētu ūdeni

0,1% FeCl_3 šķīdumu pagatavoja 0,17 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ atšķaidot 100ml mērkolbā ar destilētu ūdeni

Reducējošās aktivitātes noteikšana:

Izmantoja miežu graudu ekstraktus, kuri tika izmantoti arī KFSS noteikšanā (skat 2.2 nod., paraugu sagatavošana). Mēģenē iemērīja 4ml graudu ekstrakta šķīduma, tad pievienoja 4ml 1% $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ šķīdumu un karsēja 20 minūtes ūdens vannā $50 \pm 1^\circ\text{C}$ temperatūrā. Šķīdumam pievienoja 4 ml 10% trihloretikskābes šķīduma un centrifugēja 10 minūtes. No iegūtā maisījuma virsējā slāņa ņēma 2 ml šķīduma, pievienoja 2 ml destilēta ūdens un 0,4 ml FeCl_3 0,1% šķīdumu, samaisīja un tūlīt mērīja absorbciju pie 700 nm.

Graudu ekstraktu absorbcijas mērījumi un reducējošās aktivitātes rezultāti apkopoti 3.6. tabulā.

2.7. Proantocianidīnu noteikšana graudu ekstraktos

Proantocianidīni ir kondensētie tannīni. To saturu graudu ekstraktos noteica spektrofotometriski kā reaģentu izmantojot vanilīnu [52].

Iekārtas un reaģenti skat. 2.2. nod.

Reaģentu šķīdumu pagatavošana:

Katehīna pamatšķīdumu ($c=1,2\text{g/l}$) pagatavoja, nosverot 120,5 mg katehīna un izšķīdinot 100 ml mērkolbā 96% metanolā, tad atšķaidīja ar 99% metanolu standartšķīdumus līdz sekojošām koncentrācijām: 0,006, 0,015, 0,03, 0,06, 0,09 un 0,12 mg/ml.

20% sērskābes šķīdumu pagatavoja, pie 90 ml metanola pievienojot 10,1 ml sērskābes.

1% vanilīna šķīdumu pagatavoja, 1g vanilīna izšķīdinot 100 ml mērkolbā 20% sērskābes metanola šķīdumā.

Kalibrēšanas taisnes konstruēšana:

Mēģenēs iemērīja 2 ml katehīna standartšķīduma ar koncentrācijām: : 0,006, 0,015, 0,03, 0,06, 0,09 un 0,12 mg/ml. Pievienoja 2 ml vanilīna šķīduma, tad samaisīja un mērīja absorbciju pēc 15 minūtēm (25°C) pie 500 nm. Salīdzināšanai ņēma 20% sērskābes šķīdumu metanolā.

Proantocianidīnu satura noteikšana graudu ekstraktos:

Noteikšanai lietoja to pašu ekstraktu, kas tika izmantots arī KFSS noteikšanā (skat 2.2 nod., paraugu sagatavošana). Mēģenēs iemērīja 2ml graudu ekstraktus, pievienoja 2 ml vanilīna šķīduma. Samaisīja un mērīja absorbciju pēc 15 minūtēm.

Proantocianidīnu satura aprēķināšana:

Proantocianidīnu saturu izteica katehīna ekvivalentos (KA) pēc formulas:

$$C = a \cdot c \cdot (V/m) \cdot 100 \quad (2.3.)$$

C- proantocianidīnu saturs, KA, mg/100g;

V – ekstrakta tilpums, ml;

a – atšķaidīšanas faktors, reizes;

c – katehīna koncentrācija, ko nolasa no kalibrēšanas taisnes, mg/ml;

m – sausnes masa tilpumā V, g;

100 – reizinātājs, lai proantocianidīnu saturu izteiktu mg/ 100g grauda.

Graudu ekstraktu absorbcijas mērījumi un iegūtie proantocianidīnu rezultāti apkopoti 3.7. tabulā.

2.8. Mikro- un makroelementu noteikšana

Mikro- un makroelementu noteikšana miežos tika noteikta pēc AOAC 999.11 (sausā mineralizācija) standartmetodes. Cd, Cr, Al, Pb, un Ni noteica ar elektrotermālo atomabsorbcijas spektrometriju (EAAS), bet K, Na, Zn, Cu, Ca, Mg, Mn un Fe ar liesmas atomabsorbcijas spektrometriju (FAAS) [62].

Reāģenti:

- Lantāna (III) hlorīds, LaCl₃, Sigma Aldrich, CAS 10099-58-8;
- 0,1M slāpekļskābe, HNO₃, Sigma Aldrich, CAS 7697-37-2;

- 6M sālsskābe, HCl, Sigma Aldrich, CAS 8965-43-3;
- Nosakāmo mikro- un makroelementu standartšķīdumi – 1mg/mL

Šķīdumu pagatavošana:

0,1 M slāpekļskābi pagatavoja, 7ml HNO₃ ašķaidot 1L mērkolbā ar dest. ūdeni līdz atzīmei.

Iekārtas un papildus aprīkojums:

- Atomabsorbcijas spektrometrs Perkin Elmer AAnalyst 600 ar Zēmana fona korekciju (elektrotermiskā atomizācija)
- Atomabsorbcijas spektrometrs Perkin Elmer AAnalyst 800 (liesmas tehnika)

Parauga sagatavošana analīzei:

Miežu graudus samala, tad pārpelnoja mufelkrāsnī pie 450 C°, atstājot uz vismaz 8h vai visu uz nakti. Pelnus apstrādāja ar 6M sālsskābi un izšķīdināja 25 mL 0,1M slāpekļskābē.

Absorbcijas mērījumu veikšana:

Absorbcijas mērījumus veica pie katram metālam atbilstošā viļņu garuma.

1 mL paraugam pievienoja 0,2 mL LaCl₃ šķīduma un līdz mēģenes 10 mL atzīmei pievieno destilētu ūdeni. Šķīdumu samaisīja un veica noteikšanu. Uzņēma arī kalibrācijas taisni, tai, paraugu vietā, izmantoja multistandarta šķīdumu (ņēma dažādus tilpumus: 1;2;3;4;5 mL), kurā ietilpst dažādi nosakāmo metālu joni un atkal pievieno LaCl₃ šķīdumu un dest. ūdeni. Datorprogramma veica rezultātu aprēķinus.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Izmantotās formulas rezultātu matemātiskai apstrādei

Iegūto absorbcijas mērījumu matemātiskajā apstrādē tika izmantotas sekojošās formulas.

1. Standartnovirzes aprēķina formula (3.1.) :

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum_1^n (m_i - m_{vid})^2}{n-1}} \quad (3.1.)$$

S_n – standartnovirze;

m_i – noteikšanas rezultāti;

m_{vid} – noteikšanas rezultātu vidējā aritmētiskā vērtība;

n – atkārtoto noteikšanu skaits.

2. Iegūto rezultātu drošības intervāla (Δx) aprēķina formula (3.2.):

$$\Delta x = \frac{t \cdot S_n}{\sqrt{n}} \quad (3.2.)$$

t – Stjudenta koeficients (aprēķinos izmantotā vērtība, ja $P=0,95$, $n=3$, tad $t=4,303$) [58].

3.2. Kopējā fenola savienojumu saturs izvērtējums

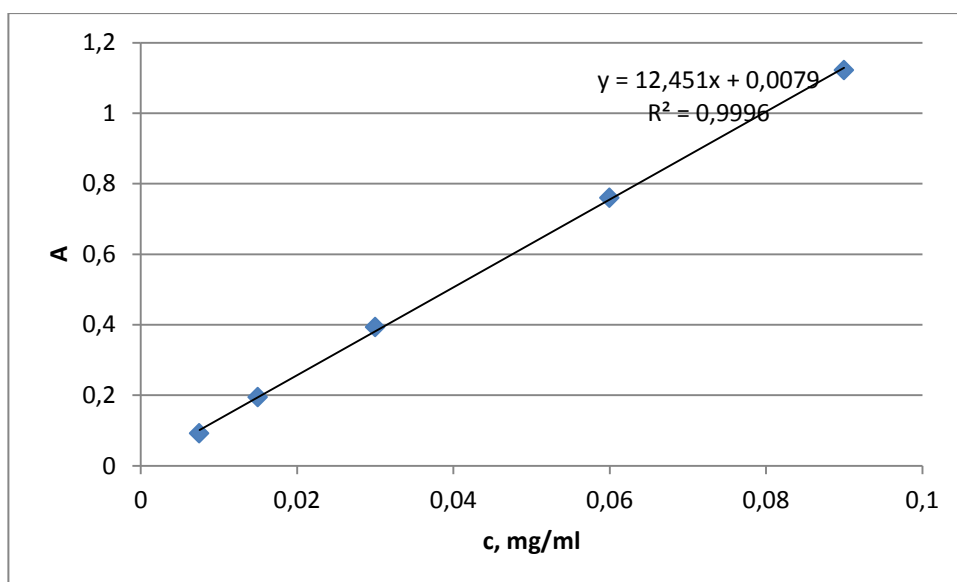
Kopējais fenola savienojumu saturs graudu (etilspirts – ūdens) ekstraktos tika noteikts ar Folīna – Čikalteo reaģentu.

Kalibrēšanas taisnes iegūšanai izmanto galluskābes šķīdumus koncentrācijā no 0,0075 – 0,09 mg/ml. Rezultāti kalibrēšanas taisnes iegūšanai ir apkopoti 3.1. tabulā.

3.1. tabula

Rezultāti kalibrēšanas taisnes iegūšanai

Galluskābes koncentrācija c, mg/ml	Absorbciija A
0,0075	0,0913
0,015	0,1943
0,030	0,3929
0,060	0,7602
0,090	1,1220



3.1.att. Kalibrēšanas taisne fenola savienojumu noteikšanai ($\lambda=765$ nm, $b=1$ cm)

Kopējais fenola savienojumu saturs tika aprēķināts, izmantojot kalibrēšanas taisnes vienādojumu ($A = 12,451 \cdot \gamma + 0,0079$).

Aprēķina piemērs paraugam Nr. 1. (skat. 3.2. tab.):

No kalibrēšanas taisnes vienādojuma: $y = 12,451 x + 0,0079$ izsaka x , kur $x = (y - 0,0079)/12,5$ (skat. 3.1. att.) un ievieto formulā (2.1.), iegūst kopējo fenola savienojumu saturu mg/100g, izteiktu galluskābes ekvivalentos: etanola tilpums ir 30 ml, graudu parauga iesvara masa ir 1 g, tad:

$$X = ((0,8352 - 0,0079)/12,451) \cdot 30 \cdot 100 = 199,33 \text{ (mg/100g)}$$

Katrai graudu ekstraktu analīzes sērijai pirms mērījumu veikšanas tika konstruēta kalibrēšanas taisne.

Kopējo fenola savienojumu satura noteikšanas rezultāti graudos apkopots 3.2.tabulā.

3.2. tabula

Kopējo fenola savienojumu saturs graudu paraugos

*Nr.p.k.	A ₁	A ₂	A ₃	KFSS, GSE mg/100g(1)	KFSS, GSE mg/100g(2)	KFSS, GSE mg/100g(3)	Vidējais KFSS, GSE mg/100g
1.	0,8352	0,8321	0,8320	199,33	198,59	198,56	198,83±1,08
2.	0,8789	0,8774	0,8772	209,86	209,50	209,45	209,60±0,56
3.	0,8192	0,8188	0,8172	195,48	195,38	195,00	195,29±0,63
4.	0,9349	0,9343	0,9354	223,36	223,21	223,48	223,35±0,34
5.	0,7459	0,7448	0,7450	177,82	177,55	177,62	177,66±0,35
6.	0,7327	0,7328	0,7323	174,64	174,66	174,54	174,61±0,16
7.	0,8002	0,8013	0,8003	190,90	191,17	190,92	191,00±0,37
8.	0,7909	0,7911	0,7902	188,66	188,71	188,49	188,62±0,29
9.	0,7963	0,7974	0,7968	189,95	190,23	190,08	190,09±0,35
10.	0,8376	0,8385	0,8372	199,92	200,13	199,82	199,96±0,39
11.	0,8574	0,8579	0,8578	204,68	204,80	204,78	204,75±0,16
12.	0,7989	0,7980	0,7973	190,58	190,37	190,20	190,38±0,47
13.	0,8731	0,8738	0,8727	208,47	208,63	208,37	208,49±0,33
14.	0,9035	0,9026	0,9041	215,79	215,57	215,93	215,76±0,45
15.	0,8640	0,8641	0,8649	206,27	206,30	206,49	206,35±0,30
16.	0,8615	0,8626	0,8624	205,67	205,94	205,89	205,83±0,36

*Šeit un turpmāk, visās nodaļās 3 tabulās uz tekstu - Nr. p. k. atbilst 2.1. tabulā ietvertu graudu šķirņu numuriem.

No iegūtiem rezultātiem (skat. 3.2. tab.) redzams, ka KFSS noteiktajās miežu graudu šķirnēs ir no $174,61 \pm 0,16$ līdz $223,35 \pm 0,34$ GSE mg/100g. Kailgraudu miežos KFSS ir noteikts no $190,09 \pm 0,35$ līdz $223,35 \pm 0,34$ GSE mg/100g, bet plēkšņainajos miežos no $174,61 \pm 0,16$ līdz $191,00 \pm 0,37$ GSE mg/100g.

Iegūtie rezultāti daudz neatšķiras salīdzinot ar literatūras [37] datiem, kur dažādos ražas gados pētītajos miežu paraugos kopējo fenolu saturs svārstās robežās no 113,87 līdz 227,95 mg GSE mg/ 100 g kailgraudu miežu sausnā un no 181,04 līdz 216,04 mg GSE mg/100g plēkšņaino miežu sausnā. Literatūras dati ir līdzīgi ar citu autoru pētījumu rezultātiem. Arī pēc maniem noteiktajiem rezultātiem var redzēt, ka kopumā plēkšņainajiem miežiem ir nedaudz zemāka KFSS augstākā robeža salīdzinot ar kailgraudu miežiem, tomēr tas nav noteicošais faktors.

Lielākais KFSS ir miežu graudu šķirnēs Nr. 2.- kailgraudu šķirnei ar paaugstinātu barības vielu nodrošinājumu (+120), Nr. 4 – kailgraudu šķirnei, kura audzēta bioloģiskās sistēmas laukos, Nr. 11 – kailgraudu šķirnei ar paaugstinātu barības vielu nodrošinājumu (+160) un kailgraudu šķirnei 1185 ar Nr. 13., 14., 15., 16., kurai kopumā bija vislielākais KFSS. Izvērtējot iegūtos rezultātus var secināt, ka KFSS vairāk ir atkarīgs no graudu šķirnes, nevis no pievadītā papildmēslojumu daudzuma, jo, piemēram, šķirnei Ansis (Nr. 5., 6., 7., 8) ir tendence būt ar vismazāko KFSS, salīdzinot ar citām šķirnēm.

Literatūrā tika minēts [37], ka kopējo fenolu saturu miežos nosaka sēklmateriāla fizikāli-ķīmiskie rādītāji, klimatiskie un agrārie apstākļi. Vienādi klimatiskie apstākļi nenodrošina līdzīgu kopējo fenolu saturu dažādām miežu šķirnēm. Ir pētīts, ka kopējais fenolu saturs miežos nav saistīts ar grauda plēksnes esamību vai trūkumu. Miežu veids – kailgraudu vai plēkšņainie – nav noteicošais faktors kopējo fenolu saturam.

Salīdzinot noteiktos miežu paraugus ar citu gadu ražu tām pašām miežu šķirnēm, kas ir atrodams [51] literatūrā, var redzēt, ka KFSS kā arī ARA nedaudz atšķiras, kas apstiprina, ka to var ietekmēt klimatiskie un agrārie apstākļi.

3.3. Antiradikālās aktivitātes (ARA) noteikšana ar difenilpikrilhidrazila (DFPH) radikāli.

Graudu paraugos ARA tika noteikts ar DFPH radikāli. ARA noteikšanai graudu šķirnēs tika izmantoti ūdens – spirta ekstrakti (skat. 2.1. nodaļu: paraugu sagatavošana).

ARA aprēķina piemērs 1. graudu parauga ekstraktam (formula 2.2.):

izmērītais A_0 lielums ir 0,9755

$$ARA = \frac{(0,9755 - 0,2165)}{0,9755} \cdot 100\% = 75,36\%$$

ARA noteikšanas rezultāti apkopoti 3.4. tabulā

3.4. tabula

ARA noteikšanas rezultāti ar DFPH graudu paraugos

Nr.p.k.	DFPH vid. absorbcija (1)	DFPH vid. absorbcija (2)	DFPH vid. absorbcija (3)	Izreaģējusī DFPH daļa, % (1)	Izreaģējusī DFPH daļa, % (2)	Izreaģējusī DFPH daļa, % (3)	Vid. izreaģējusī DFPH daļa, %
1.	0,2165	0,2174	0,2162	75,36	75,26	75,39	75,34±0,16
2.	0,2498	0,2487	0,2464	71,94	72,06	72,29	72,10±0,44
3.	0,1895	0,1899	0,1887	78,12	78,08	78,21	78,14±0,16
4.	0,1021	0,1022	0,1028	87,08	87,07	87,01	87,06±0,10
5.	0,1475	0,1459	0,1462	82,43	82,59	82,56	82,53±0,22
6.	0,1583	0,1580	0,1592	81,32	81,34	81,23	81,30±0,15
7.	0,1722	0,1743	0,1738	79,90	79,68	79,73	79,77±0,28
8.	0,1445	0,1448	0,1451	82,74	82,71	82,68	82,71±0,08

No iegūtajiem rezultātiem (skat. 3.4. tab.) redzams, ka vislielāko antiradikālo aktivitāti uzrāda miežu graudu šķirnes IC-360 paraugs Nr. 4., kuram netika pievadīts minerālais mēslojums. Kopumā lielākā ARA ir kailgraudu šķirnei Ansis. (Nr. 5.,6.,7.,8.). Pēc literatūras [66] datiem DPPH radikāļa izreaģējusī daļa miežiem ir no 14% līdz 93% un no 13% līdz 61%.

Salīdzinot ar literatūras datiem noteiktajām graudu šķirnēm antiradikālā aktivitāte ar DFPH ir augsta.

3.4. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar galvinoxilu

Galvinoxils tāpat kā DFPH, ir stabils radikālis kā. Atšķirībā no DFPH, galvinoxils ir O-centrēts radikālis.

ARA aprēķina piemērs:

$A_{\text{kontrolē}} = 0,8776$

$ARA\% = (0,8776 - 0,5165) / 0,8776 \cdot 100 = 28,91\%$

ARA noteikšanas rezultāti apkopoti 3.5. tabulā

3.5. tabula

ARA noteikšanas rezultāti ar galvinoxilu

Nr.p.k	Galvinoxila vid. absorbciija (1)	Galvinoxil a vid. absorbciija (2)	Galvinoxil a vid. absorbciija (3)	Izreaģējusi Galvinoxil a daļa, % (1)	Izreaģējusi Galvinoxil a daļa, % (2)	Izreaģējusi Galvinoxil a daļa, % (3)	Vid. izreaģējusi Galvinoxil daļa, %
1.	0,5165	0,5179	0,5162	28,91	28,75	28,94	28,86±0,26
2.	0,5049	0,5032	0,5021	30,23	30,42	30,55	30,40±0,40
3.	0,4632	0,4640	0,4657	34,98	34,89	34,69	34,85±0,36
4.	0,3873	0,3873	0,3851	43,63	43,63	43,88	43,71±0,36
5.	0,4207	0,4234	0,4245	39,82	39,51	39,39	39,58±0,55
6.	0,4208	0,4241	0,4221	39,81	39,44	39,66	39,64±0,47
7.	0,4543	0,4542	0,4563	35,99	36,01	35,77	35,92±0,34
8.	0,4289	0,4271	0,4250	38,89	39,09	39,33	39,10±0,55

No iegūtajiem rezultātiem (skat. 3.5. tab.) redzams, ka vislielāko antiradikālo aktivitāti uzrāda miežu graudu šķirnes IC-360 paraugs Nr. 4., kuram netika pievadīts minerālais mēslojums. Kopumā nedaudz lielāka ARA ir kailgraudu šķirnei Ansis (Nr. 5.,6.,7.,8.).

Apskatītajām miežu šķirnēm ARA ar galvinoxilu ir zemāka nekā ar DFPH radikāli, bet tomēr, gandrīz visiem tiem miežu graudu ekstraktiem, kuriem tā bija augstāka vai zemāka ar

DFPH, tā attiecīgi ir tāda arī ar galvinoxilu. Var secināt, ka spektrofotometriski nosakot ARA ar šiem radikāļiem var iegūt ticamus rezultātus.

3.5. Graudu ekstraktu antiradikālās aktivitātes noteikšana ar ABTS

ARA aprēķina piemērs graudu ekstraktam:

$A_{\text{kontrolē}} = 0,4822$

$ARA\% = (0,4822 - 0,1990) / 0,4822 \cdot 100 = 58,72\%$

ARA noteikšanas rezultāti apkopoti 3.6. tabulā.

3.6. tabula

ARA noteikšanas rezultāti ar ABTS

Nr.p.k.	ABTS absorbcija (A_1)	ABTS absorbcija (A_2)	ABTS absorbcija (A_3)	Izreaģējusī ABTS daļa, %(1)	Izreaģējusī ABTS daļa, %(2)	Izreaģējusī ABTS daļa, %(3)	Vid. Izreaģējusī ABTS daļa, %
1.	0,1990	0,1979	0,1981	58,73	58,96	58,92	58,87±0,30
2.	0,1514	0,1530	0,1543	68,60	68,27	68,00	68,29±0,75
3.	0,1417	0,1425	0,1431	70,61	70,45	70,32	70,46±0,36
4.	0,1149	0,1140	0,1137	76,17	76,36	76,42	76,32±0,32
5.	0,1236	0,1231	0,1238	74,37	74,47	74,33	74,39±0,19
6.	0,1016	0,1019	0,1036	78,93	78,87	78,52	78,77±0,56
7.	0,1291	0,1299	0,1288	73,23	73,06	73,29	73,19±0,29
8.	0,1214	0,1242	0,1244	74,82	74,24	74,20	74,42±0,86
9.	0,2472	0,2487	0,2495	48,73	48,42	48,26	48,47±0,60
10.	0,1618	0,1609	0,1623	66,45	66,63	66,34	66,47±0,37
11.	0,1343	0,1357	0,1359	72,15	71,86	71,82	71,94±0,45
12.	0,1467	0,1482	0,1488	69,58	69,27	69,14	69,33±0,56
13.	0,1203	0,1200	0,1212	75,05	75,11	74,87	75,01±0,32
14.	0,1819	0,1821	0,1819	62,28	62,24	62,28	62,26±0,06
15.	0,1104	0,1117	0,1116	77,10	76,84	76,86	76,93±0,37
16.	0,2008	0,2013	0,2012	58,36	58,25	58,27	58,30±0,14

No iegūtajiem rezultātiem (skat.3.6. tab.) redzams, ka vislielākā antiradikāla aktivitāte ar ABTS radikāli ir paraugiem Nr. 4., 6., 13., un 16. Antiradikālā aktivitāte ar dažādiem stabiliem brīvajiem radikāļiem tikai veikta, lai varētu savstarpēji salīdzināt ar katru radikāli iegūtos rezultātus.

Visi graudu ekstrakti uzrāda antiradikālo aktivitāti. Reakcijā ar DFPH un ABTS radikāliem miežu graudu ekstraktos esošie fenola savienojumi uzrāda augstāku saistīšanās spēju nekā reakcijā ar galvīnskābes radikāli.

Kā redzams no iegūtajiem datiem, pieaugot fenola savienojumu saturam graudos, pieaug arī graudu antiradikālā aktivitāte.

Literatūrā tiek sniegta informācija, ka pilngraudu ekstraktu antiradikālā aktivitāte ir vairākas reizes lielāka nekā pētījumos ar kailgraudiem; ka pētījumos ar cieto un mīksto kviešu, miežu un rudzu graudiem ir iegūti savstarpēji salīdzināmi rezultāti [48].

3.6. Graudu ekstraktu reducējošās aktivitātes noteikšana

Dzelzs joni ir lipīdu peroksidācijas iniciatori un šī procesa paātrinātāji. Dabīgie un sintētiskie antioksidanti inhibē šos procesus, un tiem piemīt arī reducējošā aktivitāte un spēja Fe^{3+} jonus reducēt par Fe^{2+} . Fe^{2+} jonam piemīt daudzreiz aktīvāka spēja izraisīt lipīdu peroksidāciju. Jo zemāka ir šī reducējošā spēja graudu ekstraktos, jo labākas antioksidanta spējas.

Absorbcijas rezultāti apkopoti 3.7. tabulā

3.7. tabula

Fe²⁺ jonu noteikšanas rezultāti graudu ekstraktos

Nr. p. k.	Fe ²⁺ jonu absorbcija pie 700nm
1.	1,1385±0,0251
2.	1,3763±0,0126
3.	1,5918±0,0234
4.	1,3507±0,0520
5.	0,9838±0,0390
6.	1,0637±0,0072
7.	1,2995±0,0175
8.	1,0639±0,0341

No iegūtajiem rezultātiem (skat. 3.7. tab.) redzams, ka viszemākā reducējošā aktivitāte ir paraugam Nr. 5. (plēkšņaino miežu šķirnei Ansis), kuram tika pievadīts pamatmēslojums. Iegūtais rezultāts apstiprina, ka šai šķirnei, izvērtējot iegūtos antiradikālās pārbaudes rezultātus, (skat. 3.4.tab., 3.5. tab., 3.6.tab) bija sagaidāma viena no zemākajām reducējošām aktivitātēm.

3.7. Proantocianidīnu noteikšana graudu ekstraktos.

Proantocianidīnu (PA) saturs graudu ekstraktos ir izteikts katehīna ekvivalentos. Kalibrēšanas taisnes iegūšanai pagatavo noteiktas koncentrācijas katehīna šķīdumus un mēra absorbciju pie 500 nm (skat. 3.8.tabulu).

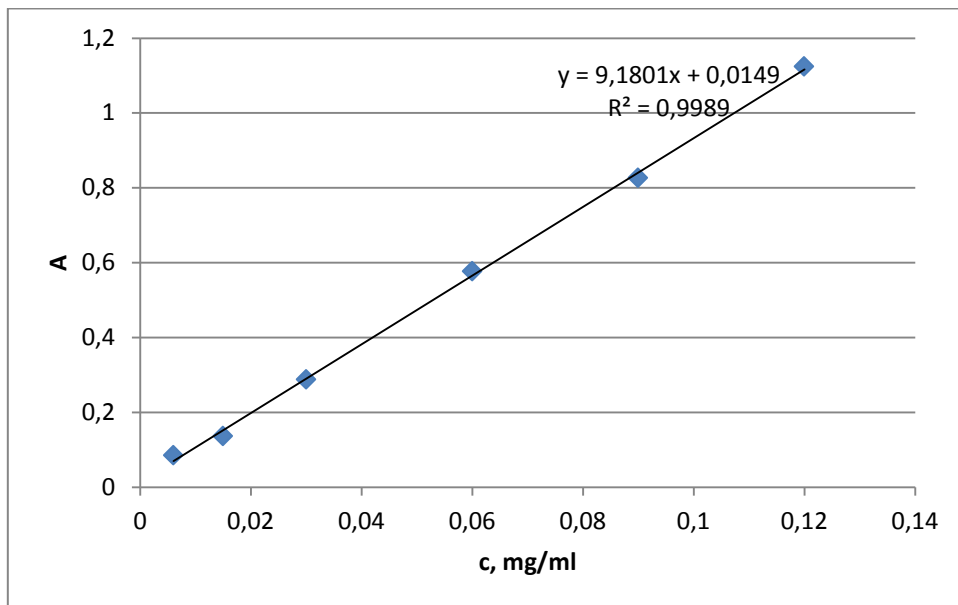
3.8. tabula

Rezultāti kalibrēšanas taisnes iegūšanai

Proantocianidīnu koncentrācija c, mg/ml	Absorbciija A
0,006	0,0852
0,015	0,1365
0,030	0,2878
0,060	0,5765
0,090	0,8262
0,12	1,1243

Pēc 3.8.tabulas datiem konstruē kalibrēšanas taisni (skat.3.2.att.).

No kalibrēšanas taisnes vienādojuma tika aprēķināts katehīna daudzums, kas attiecināms uz katru no paraugiem.



3.2.att. Kalibrēšanas taisne proantocianidīnu noteikšanai ($\lambda=500$ nm, $b=1$ cm)

Aprēķina piemērs:

No dotā taisnes vienādojuma: $A=9,1801c + 0,0149$ izsaka c , $c=(A-0,0149)/9,1801$, tad izmantojot formulu (2.3.), aprēķina graudu ekstraktos proantocianidīnu saturu, izteiktu katehīna ekvivalentos: ja ekstrakta absorbcija(A_1) ir 0,1518, etanola tilpums 30ml, parauga iesvara masa ir 1 g, tad:

$$C=((0,1518-0,0149)/9,1801)*(30/1)*100=4,47(\text{mg}/100\text{g})$$

Analizētajiem graudu ekstraktiem tika aprēķināts proantocianidīnu saturs no trijiem paralēli izdarītajiem šķīduma absorbcijas mērījumiem, beigās izrēķinot proantocianidīnu vidējo saturu, rezultātu standartnovirzi un drošības intervālu.

3.9.tabula

Proantocianidīnu satura noteikšanas rezultāti

Nr.p.k.	A_1	A_2	A_3	Proantocianidīnu saturs, KE mg/100g(1)	Proantocianidīnu saturs,KE mg/100g(2)	Proantocianidīnu saturs, KE mg/100g(3)	Proantocianidīnu vidējais saturs, KE mg/100g
1.	0,1518	0,1515	0,1528	4,47	4,46	4,50	4,48±0,07
2.	0,148	0,1482	0,1476	4,34	4,35	4,35	4,34±0,01
3.	0,1047	0,1060	0,1054	2,93	2,97	2,95	2,95±0,05

4.	0,1203	0,1204	0,1220	3,44	3,44	3,50	3,46±0,08
5.	0,2120	0,2126	0,2134	6,44	6,46	6,48	6,46±0,06
6.	0,1676	0,1675	0,1674	4,99	4,98	4,98	4,98±0,01
7.	0,1331	0,1332	0,1332	3,86	3,86	3,86	3,86±0,001
8.	0,1331	0,1332	0,1335	3,86	3,86	3,87	3,86±0,02

Pēc iegūtajiem rezultātiem (skat 3.9 tab.) redzams, ka visaugstākais proantocianidīnu saturs ir paraugam Nr.5.- plēkšņaino miežu šķirnei ar pamatmēslojumu. Salīdzinot ar literatūras [68] datiem, kur kopējais PA saturs kailgraudu miežos tika noteikts ar AEŠH robežās no 16,9 līdz 39,5 mg KE /100 g, proantocianidīnu saturs noteiktajās miežu šķirnēs ir zems. Pēc literatūras [35] kopumā flavonoīdi labībā ir nelielos daudzumos, izņemot miežus, kuri satur dažus di- un tri-proantocianidīnus.

3.8. Mikro- un makroelementu noteikšana miežos

Mikro- un makroelementu noteikšana miežos tika noteikta pēc AOAC 999.11 (sausā mineralizācija) standartmetodes. Cd, Cr, Al, Pb, un Ni noteica ar elektrotermālo atomabsorbcijas spektrometriju (EAAS), bet K, Na, Zn, Cu, Ca, Mg, Mn un Fe ar liesmas atomabsorbcijas spektrometriju (FAAS). Noteikšanas rezultāti apkopoti 3.10. tabulā.

3.10. tabula

Mikro- un makroelementu daudzums dažādās miežu graudu šķirnēs (mg/kg)

Nr. p. K.	Cd	Pb	Cr	Ni	Al	Cu
1	0.008 ± 0.003	<0.010	0.075 ± 0.008	0.074 ± 0.007	1.48 ± 0.15	2.74 ± 0.27
2	<0.005	<0.010	0.170 ± 0.017	0.076 ± 0.008	1.65 ± 0.17	3.53 ± 0.35
3	0.007 ± 0.002	0.025 ± 0.003	0.094 ± 0.009	0.075 ± 0.008	1.25 ± 0.13	3.77 ± 0.38
4	0.006 ± 0.002	0.028 ± 0.003	0.110 ± 0.011	0.078 ± 0.008	1.36 ± 0.14	4.21 ± 0.42
5	0.008 ± 0.002	<0.010	0.103 ± 0.010	0.104 ± 0.010	1.20 ± 0.12	3.12 ± 0.31
6	0.010 ± 0.008	<0.010	0.156 ± 0.016	0.080 ± 0.008	1.14 ± 0.11	3.41 ± 0.34
7	<0.005	<0.010	0.178 ± 0.018	0.063 ± 0.006	0.89 ± 0.09	3.23 ± 0.32
8	<0.005	<0.010	0.112 ± 0.011	0.058 ± 0.006	1.61 ± 0.16	3.44 ± 0.34
9	<0.005	<0.010	0.116 ± 0.012	0.062 ± 0.006	1.33 ± 0.13	3.72 ± 0.37
10	0.008 ± 0.002	0.021 ± 0.003	0.095 ± 0.010	0.076 ± 0.008	1.67 ± 0.17	3.10 ± 0.31
11	<0.005	0.013 ± 0.003	0.087 ± 0.009	0.089 ± 0.009	1.14 ± 0.11	3.44 ± 0.34
12	<0.005	0.018 ± 0.003	0.058 ± 0.006	0.062 ± 0.006	1.73 ± 0.17	4.01 ± 0.40
13	<0.005	<0.010	0.076 ± 0.009	0.066 ± 0.007	1.57 ± 0.16	1.71 ± 0.17
14	<0.005	<0.010	0.115 ± 0.012	0.098 ± 0.010	1.11 ± 0.11	2.27 ± 0.23
15	<0.005	<0.010	0.072 ± 0.007	0.071 ± 0.007	1.30 ± 0.13	1.90 ± 0.19
16	<0.005	0.013 ± 0.003	0.068 ± 0.007	0.057 ± 0.006	1.56 ± 0.16	3.17 ± 0.32

3.10. tabulas turpinājums

Nr.p.k.	K	Na	Ca	Mn	Mg	Fe	Zn
1	3630 ± 363	20.2 ± 2.0	289 ± 29	14.3 ± 1.4	1183 ± 118	42.4 ± 4.2	23.4 ± 2.3
2	4295 ± 430	20.8 ± 2.1	302 ± 30	17.2 ± 1.7	1186 ± 119	45.6 ± 4.6	22.1 ± 2.2
3	3611 ± 361	20.4 ± 2.0	339 ± 34	17.6 ± 1.8	1216 ± 122	47.2 ± 4.7	25.9 ± 2.6
4	4033 ± 403	18.7 ± 1.9	347 ± 35	17.1 ± 1.7	1172 ± 117	37.6 ± 3.8	27.0 ± 2.7
5	4067 ± 407	21.4 ± 2.1	326 ± 33	12.0 ± 1.2	1082 ± 108	41.9 ± 4.2	19.4 ± 1.9
6	4158 ± 416	20.8 ± 2.1	322 ± 32	13.6 ± 1.4	1155 ± 116	42.8 ± 4.2	18.9 ± 1.9
7	4160 ± 416	20.4 ± 2.0	321 ± 32	14.4 ± 1.4	1186 ± 119	41.0 ± 4.1	18.0 ± 1.8
8	4652 ± 465	19.1 ± 1.9	337 ± 34	9.7 ± 1.0	1140 ± 114	36.3 ± 3.6	23.9 ± 2.4
9	3494 ± 394	18.1 ± 1.8	298 ± 30	11.8 ± 1.2	1104 ± 110	37.1 ± 3.7	19.6 ± 2.0
10	3765 ± 377	18.3 ± 1.8	317 ± 32	13.6 ± 1.4	1254 ± 125	42.2 ± 4.2	21.3 ± 2.1
11	3910 ± 391	17.9 ± 1.8	313 ± 31	14.7 ± 1.5	1272 ± 127	41.0 ± 4.1	20.8 ± 2.1
12	4050 ± 405	15.8 ± 1.6	298 ± 30	9.67 ± 1.0	1385 ± 139	37.8 ± 3.8	23.1 ± 2.3
13	4213 ± 421	19.6 ± 2.0	360 ± 36	10.1 ± 1.0	1169 ± 118	31.6 ± 3.2	17.6 ± 1.8
14	3846 ± 385	21.9 ± 2.2	337 ± 34	12.7 ± 1.3	1111 ± 111	32.3 ± 3.2	18.6 ± 1.9
15	3676 ± 368	17.9 ± 1.8	363 ± 36	12.5 ± 1.3	1091 ± 109	31.3 ± 3.1	16.5 ± 1.7
16	4415 ± 442	24.3 ± 2.4	309 ± 31	9.8 ± 1.0	1185 ± 119	36.6 ± 3.7	23.1 ± 2.3

Pēc apkopotajiem rezultātiem (skat.3.10. tab.), redzams, ka no makroelementiem (Ca, K, Mg, Na) visvairāk miežos ir kālijs. Otrs biežāk sastopamais makroelements noteiktajās šķirnēs ir magnijs, kurš ir apmēram 3 reizes mazākā daudzumā nekā kālijs. Noteiktie rezultāti atbilst arī literatūras datiem, ka miežu graudos galvenās minerālvielas (pelnielmas) ir K, Mg, Ca, kamēr maznozīmīgākas ir, piemēram, Fe, Zn un Cu. Pēc literatūras [67] kālijam ir svarīga nozīme šūnu vielmaiņā, osmotiskā spiediena regulēšanā, nervu impulsu pārvadīšanā un normālas sirdsdarbības uzturēšanā, kopā ar kalciju piedalās asinsreces reakcijās un veicina šķidrums izdalīšanu no organisma. Magnijs ir nozīmīgs kaulaudu, muskuļaudu un nervaudu uzbūvē, paplašina asinsvadus, veicina žults izdalīšanu. Toksiskie elementi, kā Cd, Pb, Cr, Ni nepārsniedz maksimāli pieļaujamo koncentrāciju (0,1 mg/ kg). Latvijā audzētie graudi ir droši lietošanai pārtikā.

Secinājumi

1. Miežu šķirņu graudi satur ievērojamus fenola savienojumu daudzumus (174,61 – 223,35 mg GSE/ 100g); kuru šķirņu graudos ir lielāks KFSS, tajās arī ir lielāks proantocianidīnu saturs.
2. KFSS ir atkarīgs no miežu graudu šķirnes un audzēšanas apstākļiem, nevis no miežu tipa-kailgraudu vai plēkšņainie; vērojamas KFSS atšķirības, ja tie augšanas periodā saņem atšķirīgu papildmēslojumu.
3. Miežu graudu ekstraktiem, kuros ir lielāks KFSS, ir attiecīgi lielāka arī ARA, nosakot to ar DFPH un galvinoxila radikāliem.
4. Izvērtēto miežu šķirņu graudiem ir augsta antiradikālā aktivitāte, tātad ekstraktu spēja neitralizēt brīvos radikāļus ir liela.
5. Graudu ekstraktu reducējošās aktivitātes un ARA pārbaudes rezultāti apstiprina, ka jo zemāka reducējošā aktivitāte, jo augstāka ARA.
6. Latvijā audzētie miežu graudi ir droši lietošanai pārtikā, jo toksiskie elementi tajos nepārniedz maksimāli pieļaujamās koncentrācijas.
7. Maģistra darbā iegūtie rezultāti uzskatāmi kā nozīmīgs papildinājums Latvijā pēdējos gados uzsāktajiem pētījumiem par miežu graudu bioloģiski aktīvo savienojumu saturu.

Literatūras saraksts

1. Bleidere, M.; Zute, S.; Jākobsone I. Characterisation of physical and biochemical traits of hulless spring barley grain in the Latvian breeding programme proceedings of Latvian academy of sciences. Vol. 67, 2013, 399.
2. Goupy, P.; Hugues, M.; Boivin, P.; Amiot, M. J. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1999**, 1625–1634.
3. Dabina–Bicka, I.; Karklina, D.; Kruma, Z. Polyphenols and vitamin E as potential antioxidants in barley and malt, *6th Baltic Conference on Food Science and Technology. Innovations for Food Science and Production*. Foodbalt, Jelgava, Latvija, 5.–6. Maijs , 2011, p 121
4. Gallegos-Infante, J.A.; Rocha-Guzman N.E.; Gonzalez-Laredo R.F.; Pulido-Alonso, J. Effect of processing on the antioxidant properties of extracts from Mexican barley (*Hordeum vulgare*) cultivar. *Food Chemistry*, Vol. 119, Issue 3, **2010**, 903–906
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014) FAOSTAT <http://faostat.fao.org/si-te/567/default.aspx#ancor> (Skatīts: 28.04. 2014)
6. Hussain, A.; Larsson, H.; Olsson, M. E.; Kuktaite, R.; Grausgruber, H.; Johansson, E. Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food? *Food Chemistry*, **2012**, 1789–1795
7. K. Zhou and L.Yu *Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation*, Volume 37, Issue, **2004**, 717- 721.
8. Suzuki, Y.; Esumi, Y.; Yamaguchi, I.; Structures of 5-alkylresorcinol-related analogues in rye., *Phytochemistry* ,**1999**, 281–289
9. Zielinski, H.; Ceglinska, A.; Michalska, A. Antioxidant contents and properties as quality indices of rye cultivars *Food Chemistry*, **2007**, 980–988.
10. Cui, S.; Liu, R. H. Health Benefits of Oat Phytochemicals. *Oats Nutrition and Technology*. **2013**, 171-194.
11. Gūtmane, I. SIA Latvijas šķirnes sēklas. http://www.seklas.lv/lv/cat/apraksti_show/83 (skatīts 09.05.2014.).
12. Sabovics, M.; Straumite, E.; Galoburda, R.; Assessment of the rheological properties of flour using the mixolab, *6th Baltic Conference on Food Science and Technology*.

- Innovations for Food Science and Production. Foodbalt, Jelgava, Latvija, 5.–6. Maijs , 2011, p 33.
13. Basinskiene, L.; Juodeikiene G.; Kalvaityte, V.; Ceseviciene, J.; Leistrumaite A. Enzyme activity of different cereals grown using organic and conventional agricultural practices, *6th Baltic Conference on Food Science and Technology*, Innovations for Food Science and Production, Foodbalt, Jelgava, Latvija, 5.–6. Maijs , 2011, p 27.
 14. Giuseppina P. P. Lima and Fabio Vianello Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods *International Journal of Food Science & Technology* Volume 46, Issue 1, pages 1–13, January 2011
 15. D. Evers, L. O'Brien and A. B. Blakeney Cereal structure and composition *Australian Journal of Agricultural Research* 50(5) 629 - 650 ,1999
 16. Jan A. Delcour, R. Carl Hosene Principles of Cereal Science and Technology, Chapter 1: Structure of Cereals 2010 1-22
 17. NIIR Board of Consultants & EngineersWheat, Rice, Corn, Oat, Barley and Sorghum Processing Handbook (Cereal Food Technology) . Asia Pacific Business Press Inc. 2006, 464
 18. Berga L., Zute S. Kas graudos vērtīgākais. Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūts, „Agrotops” Talsu novads, 2011, 6 lpp.
 19. Gani A, Wani S. M., Masoodi F. A., Hameed G. Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. *J Food Process Technol*, 3:146. doi:10.4172/2157-7110.1000146, **2012**
 20. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 3(4): 228-237, 2010
 21. Davis C. D., Tsuji P. A., Milner J. A. Selenoproteins and Cancer Prevention. *Annual Review of Nutrition*; 32:73-95, **2012**
 22. Wende L. , Mark D. Pickard , Trust Beta Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran , *Food Chemistry* 104 ,1080–1086, **2007**
 23. KeShun , Kevin L. Peterson , and Victor RaboyComparison of the Phosphorus and Mineral Concentrations in Bran and Abraded Kernel Fractions of a Normal Barley (*Hordeum vulgare*) Cultivar versus Four Low Phytic Acid Isolines. *J. Agric. Food Chem* 55 (11), 4453–4460, **2007**

24. Tighe P., Duthie G., Vaughan N., Brittenden J., Simpson W. G., *et al.* Effect of increased consumption of whole-grain foods on blood pressure and other cardiovascular risk markers in healthy middle-aged persons: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 92, 733-740, **2010**
25. Febles C. I., Arias A., Hardisson A., Rodriguez-Alvarez C., Sierra A. Phytic acid level in wheat flours. *J Cereal Sci* 36: 19-23, **2002**
26. Parikka K., Rowland I. R., Welch R. W., Wähälä K. In vitro antioxidant activity and antigenotoxicity of 5-n-alkylresorcinols. *J Agric Food Chem* 54: 1646-1650, **2006**.
27. Līparte, L. Bioloģiski aktīvo savienojumu saturs Latvijā selekcioneito kviešu un rudzu šķirņu graudos. Bakalaura darbs, LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2012.
28. Liu R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 134: 3479S-3485S, **2004**.
29. Harborne J. B., Williams C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55: 481-504, 2000
30. Farooq Anwar, Hafiz Muhammad Abdul Qayyum, Abdullah Ijaz Hussainand Shahid Iqbal Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): stabilization of sunflower oil. **2010**, 237-243.
31. Rubīne H., Eniņa V. *Ārstniecības augi. Zvaigzne ABC*, 2004.
32. Mattila P, Pihlava JM, Hellström J Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *J. Agric. Food Chem* 53: 8290-8295, **2005**
33. Nordkvist, E.; Salomonsson, A. C.; Aman, P. Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain *Journal of the Science of Food and Agriculture* 657–661, June **1984**
34. Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomas-Barberán FA, Datta N, *et al.* Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr*, **2004**, 59, 113-122.
35. Eva de Rijke a, Pieter Out b, Wilfried M.A. Niessen b, Freek Ariese ,Cees Gooijer b, Udo A.Th. Brinkman Analytical separation and detection methods for flavonoids *Journal of Chromatography* , **2006**, 1112, 31–63.
36. Bioloģiski aktīvas vielas. <http://www.partikasdb.lv/veseliga-uztura-forums/biologiski-aktivas-vielas/bilogiski-aktivas-vielas/flavonoidi/> (skatīts 12. 05. 2014.).
37. Dabiņa-Bicka, I. Antioksidantu dinamika iesala un alus ražošanā. Promocijas darba kopsavilkums inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai pārtikas zinātnes nozarē. LLU, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte, Jelgava, 2013.

38. Peterson, J.; Dwyer, J.; Adlercreutz, H.; Scalbert, A.; Jacques, P.; McCullough, M.L. Dietary lignans: Physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 571–603.
39. S.M. Willför a, A.I. Smedsb, B.R. Holmboma Chromatographic analysis of lignans *Journal of Chromatography A*, 1112 (2006) 64–77
40. Durazzo, A.; Zaccaria, M.; Polito, A.; Maiani, G.; Carcea, M. Lignan Content in Cereals, Buckwheat and Derived Foods. *National Research Institute on Food and Nutrition*, **2013**.
41. Milder I. E., Arts I. C., van de Putte B., Venema D. P., Hollman P. C. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *Br. J. Nutr.*, **2005**, 393–402
42. Ross A. B., Kamal-Eldin A., Lundin E. A., Zhang J. X., Hallmans G, *et. al.* Cereal alkylresorcinols are absorbed by humans. *J Nutr.*, **2003**, 133, 2222-2224
43. Ross A. B., Chen Y., Frank J., Swanson J. E., Parker R. S., *et al.* Cereal alkylresorcinols elevate gamma-tocopherol levels in rats and inhibit gamma-tocopherol metabolism in vitro. *J. Nutr.*, **2004**, *134*, 506-510
44. Bobere N., Podjava A., Meija L., Jākobsone I. Content of alkylresorcinols in cereals grown in Latvia determined by high-performance liquid chromatography with UV. *Journal „Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, **2013**, *67*, 389-393
45. Jākobsone I., *Pārtikas produktu uzturvērtības noteikšana*, LU Akadēmiskais apgāds, 2008., 139. – 151. lpp.
46. Qing Liu, Huiyuan Yao Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry* **2007**, 732–737
47. Sproģe K. Fenola savienojumi augos – dabīgie antioksidanti. Maģistra darbs, LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2008.
48. Čukelj, N.; Smerdel, B.; Novotni, D.; Ćurić, D. Lignans, total phenols and antioxidant activity of selected cereal grains compared to flaxseed, *7th International Congress of Food technologists, biotechnologists and nutritions*, Opatija, Horvātija, 20.–23. Septembris, 2011, 126
49. Bogorads V. Bioloģiski aktīvo savienojumu saturs rudzu graudos un to pārstrādes produktos. Bakalaura darbs, LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2013.
50. Mi-Jung Kim , Jong-Nae Hyun , Jin-Ae Kim , Jong-Chul Park , Min-Young Kim , Jung-Gon Kim , Sun-Joo Lee , Se-Chul Chun , and Ill-Min Chung Relationship between

- Phenolic Compounds, Anthocyanins Content and Antioxidant Activity in Colored Barley Germplasm *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55 (12), pp 4802–4809
51. Ļeščinska I. Fenola savienojumu saturs miežu šķirņu graudos. Maģistra darbs, LU Bioloģijas fakultate, Rīga, 2013.
 52. Qing Liu, Huiyuan Yao Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry* **2007**, 732–737
 53. Taurene A. Fenola savienojumi pārtikas graudos. Bakalaura darbs, LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2010.
 54. Wende Li, Mark D. Pickard, Trust Beta ,Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran, *Food Chemistry*, Volume 104, Issue 3, **2007**, 1080–1086
 55. Changho, L., Daeseok H., Byoungmok K, Namin B., Byung-Kee B. Antioxidant and anti-hypertensive activity of anthocyanin-rich extracts from hullless pigmented barley cultivars, *International Journal of Food Science & Technology*, Volume 48, Issue 5, **2013**, 984–991.
 56. Ardestani, A.; Yazdanparas, R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, Volume 104, Issue 1, **2007**, 21–29
 57. Smeds A.I. et al. Quantification of a Broad Spectrum of Lignans in Cereals, Oilseeds, and Nuts. *Journal of agriculture and food chemistry*, **2007**, 55, 1337-1346
 58. Jansons E., Meija J., *Kļūdas kvantitatīvajās noteikšanās*, apgāds „Rasa ABC”, Rīga, 2002., 35. – 43. lpp.
 59. Tirzītis, G.; Bartosz, G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights, Vol. 57, No. 1/2010, 139–142.
 60. Vincēviča-Gaile Z. Vides apstākļu ietekme uz mikro- un makroelementu saturu pārtikas produktos Latvijā. Promocijas darba kopsavilkums, LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultāte, Rīga, 2014.
 61. Sager, M.; Hoesch, J. Macro- and micro element levels in cereals grown in lower Austria. *Austrian Agency for Food and Safety, Agricultural Researches*. Vienna, Austria, 2005
 62. AOAC Official Method 999.11 Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods. Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing. First Action 1999, NMLK–AOAC Method, J. AOAC Int **83**, 1204(2000) <http://down.40777.cn/stardard/8/9.1.09%20AOAC%20Official%20Method%20999.11%20Determination%20of%20Lead,Cadmium.pdf> (skatīts 25.05.14.)

63. Engström, M. T.; Päljærvi, M; Fryganas, C; Grabber, J. H.; Mueller-Harvey, I; Salminen, J. P. Rapid Qualitative and Quantitative Analyses of Proanthocyanidin Oligomers and Polymers by UPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62** (15): 2014, 3390–3399.
64. Aleksejevs, I. Smago un metālisko elementu satura izvērtējums svaigās un kūpinātās reņģēs, maģistra darbs, LU ķīmijas fakultāte, Rīga, 2013
65. Wyszowski, M.; Wyszowska, J., Wlodowska, L. Correlations between macroelements content of spring barley and the enzymatic activity of soil contaminated with cooper, zinc, tin and barium. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Environmental Development*, Volume 9, Issue 2, 2006
66. Food Technology Intelligence, Inc. Phenolic compounds in barley have strong antioxidant, antiradical activity.
<http://www.thefreelibrary.com/Phenolic+compounds+in+barley+have+strong+antioxidant,+antiradical...-a0160715673> (skatīts 25.05.2014)
67. Latvijas Republikas Veselības ministrija, Minerālvielas
http://www.vm.gov.lv/lv/tava_veseliba/veseligs_uzturs/mineralvielas/ (skatīts 25. 05. 2014.)
68. Quinde-Axtell, Z.; Baik, B.K. Phenolic compounds of barley grain and their implication in food product discoloration. *J Agric Food Chem.* **2006**, 26, 9978-9984.

PIELIKUMI

Reāģentu riski un drošības frāžu atšifrējumi.

Eiropas Savienībā lietotā vielu klasifikācija:

C – kodīga viela

O – viegli oksidējoša viela

X – kaitīga viela

X_n – kaitīgas vielas un preperāti

X_i – kairinoša viela

N – vielas un preperāti ir kaitīgi apkārtējai videi

T – toksiska viela

F – viegli uzliesmojoša viela

R:8 - saskaroties ar degošu materiālu, var izraisīt ugunsgrēku

R:11 - viegli uzliesmojošs;

R:36 - kairina acis;

R:38 - kairina ādu;

R:48/20 - kaitīgs - ieelpojot iespējams nopietns kaitējums veselībai pēc ilgstošas iedarbības;

R:51/53 - toksisks ūdens organismiem, var radīt ilglaicīgu negatīvu ietekmi ūdens vidē;

R:62 - iespējams kaitējuma risks reproduktīvajām spējām;

R:65 - kaitīgs - norijot var izraisīt plaušu bojājumu;

R:66 - atkārtota iedarbība var radīt sausu ādu vai izraisīt tās sprēgāšanu;

R:67 - tvaiki var radīt miegainību un reiboni;

S:(2) – glabāt bērniem nepieejamā vietās;

S:9 - uzglabāt labi vēdināmā vietā;

S:16 - sargāt no uguns – nesmēķēt;

S:22 - izvairīties no putekļu ieelpošanas;

S:26 - ja nokļūst acīs, nekavējoties tās skalot ar lielu daudzumu ūdens un meklēt medicīnisku palīdzību;

S:33 - veikt drošības pasākumus, lai pasargātu no statiskās elektrības iedarbības;

S:36/37 - Valkāt piemērotu aizsargapģērbu un cimdus;

S:60 - apglabāt šo vielu (produktu) un tās iepakojumu kā bīstamos atkritumus;

S:61 - nepieļaut nokļūšanu vidē. Ievērot īpašos norādījumus vai izmantot drošības datu lapas.

Maģistra darbs „Bioloģiski aktīvo savienojumu saturs Latvijā selekcioneģto miežu ņķirņu graudos”. izstrādāts LU Ŷģimijas fakultātē.

(darba nosaukums)

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētģjums veikts patstāvģgi, izmantoti tikai tajā norādģtie informāģijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopģja atbilst izdrukai.

Autors: _____
(personiskais paraksts) *(paraksta atģģifrģjums)*

Rekomendģju/nerekomendģju darbu aizstāvēģšanai

Vadģtāģja profesore, Dr. chem. Ida Jāģkobsone: _____
(personiskais paraksts) *(datums)*

Recenzente docente, Vita Rudoviģģa: _____
(personiskais paraksts) *(datums)*

Darbs iesnieģts Ŷģimģijas fakultātē: _____ *(datums)*

Dekāna pilnvarotā persona, metodiģģe: _____ Vģija Gutāģe
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēģts maģģistra gala pārbauģģģuma komisģijas sģdģ:

_____ protokols Nr. _____ *(ieraksta sekretārs)*
(datums) *(protokola Nr.)*

Komisģijas sekretāģe, lektore: _____
(personiskais paraksts) *(paraksta atģģifrģjums)*