

Vezane fenolne spojine polnozrnatih žitnih pripravkov kot sestavina funkcionalnih živil: prvi del

Petra TERPINC¹

Received September 9, 2019; accepted December 8, 2019.
Delo je prispelo 09. septembra 2019, sprejeto 08. decembra 2019.

Vezane fenolne spojine polnozrnatih žitnih pripravkov kot sestavina funkcionalnih živil: prvi del

Izvleček: Številne presnovne bolezni sodobnega časa so povezane z neuravnoteženo energijsko bogato prehrano, ki je osiromašena s prehransko vlaknino in drugimi zaščitnimi bioaktivnimi snovmi. Glede na omejen uspeh terapevtskih posegov za zdravljenje debelosti in presnovnega sindroma se je povečalo zanimanje za druge možnosti. V prvem delu se osredotočamo na pomen polnozrnatih žit v prehrani, spoznamo ključne bioaktivne komponente žit in njihovo razporeditev znotraj zrna. Izvemo, da otrobi, stranski proizvod žitno predelovalne industrije, predstavljajo neizkoriščen vir fenolnih spojin. Biosinteza slednjih poteka na endoplazmatskem retikulumu in v plastidih od koder se prenesejo do drugih organelov znotraj celice. Deaminiranje, hidroksiliranje in metiliranje so osrednje reakcije nastanka hidroksibenzojskih in hidroksicimetnih kislin. Poseben poudarek namenjamo fenolnim spojinam, ki ostanejo v trdnem ostanku po solventni ekstrakciji z vodnimi raztopinami organskih topil. Te neekstraktibilne fenolne spojine, ki so kovalentno vezane na celično steno, so v tovrstnih raziskavah pogosto prezrte in posledično je vsebnost bioaktivnih snovi v žitih nemalokrat podcenjena. Ferulna kislina, kot najpomembnejši predstavnik, je *in vitro* poznana po zaviranju bolezni, ki so posledica oksidativnega stresa – preprečuje razna rakava obolenja, srčno-žilne in nevrodegenerativne bolezni. Vezane fenolne spojine se ne razgradijo v prebavnem traktu, kot različni metaboliti se absorbirajo v krvni obtok šele po fermentaciji s pomočjo črevesne mikroflore. Zadostnemu uživanju vezanih fenolnih spojin pripisujemo izboljšano antioksidativno in protivnetno delovanje, številni dokazi pa kažejo na njihovo preventivno vlogo pri razvoju črevesnih bolezni.

Ključne besede: polnozrnatna žita; bioaktivne spojine; ferulna kislina; biosinteza; metabolizem; proste, konjugirane in vezane fenolne spojine

Bound phenolic compounds of whole cereals grain as a functional food component: part one

Abstract: Numerous metabolic diseases are nowadays associated with an unbalanced energy-rich diet, depleted from dietary fibers and other protective bioactive compounds. Given the limited success of therapeutic interventions to treat obesity and the metabolic syndrome, there has been an increased interest in other strategies. In part one, the focus is made on a role of whole cereals grain in diet, the most important bioactive components and their distribution in grains. We find out, that bran, a by-product of the grain processing industry, represents an unexploited source of phenolic compounds. Their biosynthesis takes place on the endoplasmic reticulum and other plant organelles from which they are transported to other cellular compartments. Deamination, hydroxylation and methylation are the main reactions involved in the formation of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids. Special emphasis is made on phenolic compounds which remain in the solid residue after aqueous-organic solvent extraction. Non-extractable phenolic compounds are covalently bound to the cell wall materials, consequently the amount of bioactive compounds in cereals are often underestimated. Ferulic acid, as the most important representative, may act against disorders related to oxidative stress, including cancer, diabetes and neurodegenerative diseases. Insoluble bound phenolic compounds are not degraded in the digestive tract, they are absorbed into the bloodstream as different metabolites after they are subjected to fermentation by the intestinal microflora. Adequate consumption of bound phenolic compounds can lead to improve antioxidant and anti-inflammatory properties, and there are many evidences suggesting their role in intestinal diseases prevention.

Key words: whole grain cereals; bioactive compounds; ferulic acid; biosynthesis; metabolism; free, conjugated and bound phenolic compounds

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-mail: petra.terpinc@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Prehranske navade potrošnikov se spreminjajo. Hrana danes ni več samo vir energije in potrebnih hranil za normalno delovanje organizma, ampak tudi način, kako preprečiti razvoj določenih bolezni ter izboljšati mentalno in fizično počutje posameznika (Menrad, 2003). Funkcionalno živilo pomeni živilski izdelek, ki je obogaten s specifičnimi sestavinami in doprinese k zdravju potrošnika bolj kot v primeru enakega živila brez njihovega dodatka. Izdelek z oznako 'funkcionalno' živilo mora biti v obliki običajnega živila v okviru vsakodnevne prehranskega režima (Siró in sod., 2008). Potrošniki vse več posegajo po živilih, ki so pridobljena iz naravnih surovin, vsebujejo potencialno koristne snovi in imajo posebne fiziološke koristi (Kaur in Singh, 2017). Žitni otrobi, stranski proizvodi pri predelavi riža, pšenice, ovs, ječmena, sira, prosa, rži in koroze, so pridobili ključno vlogo pri razvoju tovrstnih izdelkov (Patel, 2015).

2 POMEN ŽIT V PREHRANI

Žita so pomemben del vsakodnevne prehrane, saj bistveno prispevajo k vnosu ključnih hranil v človeško telo, zlasti kadar zaužijemo celotno zrno. V svetovnem merilu žitni izdelki predstavljajo glavni vir energije, pomemben vir proteinov, mineralov in vitaminov (Koistinen in Hanhineva, 2017; Oghbaei in Prakash, 2016). Večino zrn za potrebe industrije izpostavimo raznim tehnološkim postopkom kot so luščenje, brušenje, mletje in/ali sejanje, ki osiromašijo hranilno vrednost nastalega končnega produkta (Oghbaei in Prakash, 2016; Seetharaman in Abdel-Aal, 2014). Pšenica, riž in koroza so najpomembnejše rastline, katerih plodovi (semena) predstavljajo največji delež v prehrani človeka. Manj zastopana, a še vedno pomembna so oves, ječmen, rž, tritikala, sirek, proso (McKevith, 2004) in psevdžita ajda, amarant ter kvinoja (Alvarez-Jubete in sod., 2010).

Žitnim otrobom pripisujemo antiaterogene, antihipertenzivne in hipoglikemične lastnosti. Organizem ščiti pred oksidativnim stresom, dajejo občutek sitosti in vplivajo na urejeno prebavo (Patel, 2015). Številne študije potrjujejo, da zadostno uživanje polnozrnatih živil pripomore k zmanjšani pojavnosti presnovnega sindroma (sladkorne bolezni tipa 2, debelosti, povišanega tlaka, povečane vsebnosti trigliceridov, itd.). Redno poseganje po tovrstnih izdelkih pomaga pri preprečevanju razvoja srčno-žilnih bolezni in vnetnih procesov (Belobrajdic in Bird, 2013; Borneo in León, 2012; Fardet, 2010).

3 BIOAKTIVNE KOMPONENTE ŽIT

Bioaktivne komponente so tiste spojine v živilih, ki so sposobne vplivati na metabolične procese v človeškem organizmu in tako prispevati k izboljššanemu zdravju posameznika. Med zaščitnimi fiziološkimi mehanizmi bioaktivnih komponent omenimo mehanski učinek (npr. predstavniki netopne vlaknine povečajo občutek sitosti, čas prehoda hrane skozi prebavni trakt in količino blata) in učinek na hormone (npr. Zn, Se in nikotinska kislina sodelujejo pri aktivaciji hormonov). Med njihove najkoristnejše lastnosti nadalje prištevamo antioksidativno (večina bioaktivnih komponent), protivnetno (npr. n-3 α -linolenska kislina; Cu in ferulna kislina) in antikarcinogeno delovanje (večina bioaktivnih komponent). Nekatere bioaktivne komponente so vključene v regulacijo genov (npr. flavonoidi), spoznavanje celic (npr. nekatere fenolne spojine), spet druge inhibirajo ali inducirajo delovanje encimov (npr. nekateri minerali in elementi v sledovih). Omenjene mehanizme delovanja je v svojem obsežnem pregledu literature podrobneje predstavil Fardet (2010). Zavedati se je potrebno, da biološka razpoložljivost spojine lahko močno odstopa od njene biološke dostopnosti – prevladujoča bioaktivna komponenta v zaužitem živilu ni nujno tudi najbolj zastopan aktivni metabolit v tarčnem tkivu (Liu, 2007). Kljub številnim študijam, ki opisujejo biološke učinke bioaktivnih spojin *in vitro*, je poznavanje njihove absorpcije v človeškem organizmu še vedno precej okrnjeno (Heleno in sod., 2015).

Žitna zrna so vir številnih sekundarnih metabolitov, ki preprečujejo kronične bolezni oz. izboljšujejo zdravstveno stanje ljudi. Mednje prištevamo fenolne kisline, flavonoide, karotenoide, alkilresorcinole, avenantramide, tokoferole, fitosterole, lignane, organožveplove spojine in druge (Koistinen in Hanhineva, 2017). Gre za spojine z različno kemijsko zgradbo (razlikujemo hidrofilne ali lipofilne) ter razširjenostjo v naravi (bodisi so spojine specifične za skupino rastlin ali splošno razširjene). Spojina avenantramid je kemijsko fenolni alkaloid, ki je zelo razširjena in biološko aktivna, najbolj pa so poznani avenantramidi iz ovs. Topne spojine z majhno molsko maso, se praviloma nahajajo v ovojnicah zrn in predstavljajo glavni fenolni antioksidant omenjene vrste žita. Poleg dokazanega močnega antioksidativnega delovanja *in vitro* in *in vivo*, jim pripisujejo še protivnetno, anti-proliferativno in anti-iritativno delovanje. Zadostno uživanje avenantramidov zagotavlja dodatno zaščito pred srčno-žilnimi obolenji, rakom debelega črevesa in draženjem kože (Arendt in Zannini, 2013). Med spojine, ki so biološko učinkovite spadajo tudi antinutrienti kot so fitinska kislina, tanini, inhibitorji tripsina in drugi (Oghbaei in Prakash, 2016).

Poleg naštetih, velja opozoriti tudi na spojine, ki imajo v našem telesu koristno funkcijo, ne da bi se v telesu absorbirale. Primer so fitosteroli in β -glukani, ki v črevesju preprečujejo absorpcijo holesterola (Jesch in Carr, 2017; Ostlund in sod., 2003; Zhu in sod., 2016). Spet druge, primer so nekatere fenolne spojine, so podvržene razgradnji s strani mikrobiote, pri čemer nastali razgradnji produkti vplivajo tako na sestavo mikrobiote kot na biološko funkcijo, ki jo bodo ti imeli (Aura, 2008; Espín in sod., 2017; Selma in sod., 2009; Williamson in Clifford, 2017).

Preden lahko določeno spojino povežemo s pozitivnim delovanjem, je potrebno vedeti, koliko neke spojine je biološko dostopne in/ali razpoložljive v organizmu. Koncentracija bioaktivne spojine v prebavnem traktu je določena z njeno koncentracijo v živilu, z načinom priprave živila, količino zaužitega živila in biološko dostopnostjo spojine (Ribas-Agustí in sod., 2018). Kot primer vzemimo lignane. Njihov bogat vir sta laneno in sezamovo seme, ki ju povprečen človek dnevno zaužije relativno malo. Čeprav pšenica in rž na drugi strani vsebujeta precej manj lignanov, imata omenjeni žiti ključno vlogo pri njihovem vnosu v telo, saj teh semen zaužijemo precej več (Koistinen in Hanhineva, 2017).

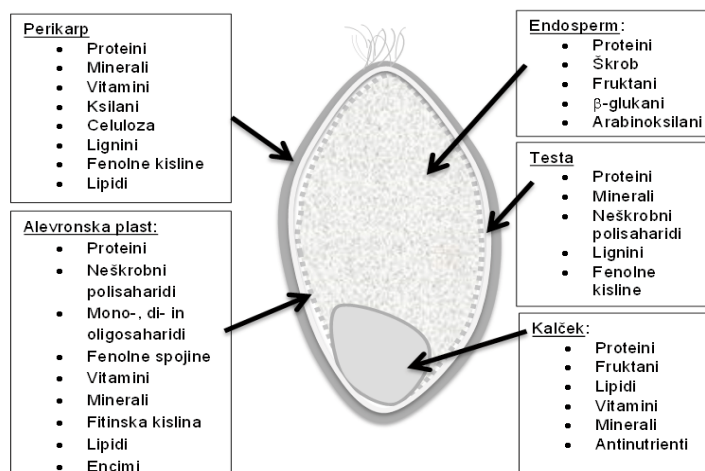
4 ZGRADBA ŽITNEGA ZRNA IN RAZPOREDITEV BIOAKTIVNIH KOMPONENT V NJEM

Žitno zrno je posebno zgrajen plod iz družine trav (*Poaceae*), imenovan kariopsa. Sestoji iz semena, ki ga sestavljata endosperm in kalček ter večplastne ovojnice, ki ju gradita zrasli plodna (perikarp) in semenska ovojnica (testa) (Slika 1). Pri določenih vrstah, npr. pri ovsu, ječmenu, rižu, prosu itd. jo obdaja še dodatna plast, ki jo tvori predpleva. Pretežno škrobnati endosperm običajno prispeva k celotni masi zrna približno 75 – 85 %, medtem ko delež kalčka in zunanjih plasti variira glede na vrsto žita in sorto (Liu, 2007). Otrobi so zmes več zmletih plasti perikarpa, teste in alevronske plasti. V njih prevladuje prehranska vlaknina, ki jo glede na topnost v vodi razdelimo na topno (v stiku z vodo nastane raztopina) in netopno (v stiku z vodo se ne raztopijo). Hkrati otrobi predstavljajo pomemben vir vitaminov, mineralov in bioaktivnih spojin kot so alkilresorcinoli, ferulna kislina, flavonoidi, karotenoidi, lignani in steroli. Perikarp, ki se razdeli na zunanji in notranji del, je znan po veliki vsebnosti netopne vlaknine in vezanih fenolnih kislinah. Testa je bogata z alkilresorcinoli in steroli, pod njo se nahaja hialinska plast (ni prikazana na sliki). Alevronska plast, ki je sicer anatomsko že del

endosperma, se smatra kot najbolj notranja plast ovojnice zrna, ki se pri običajni meljavi odstrani skupaj z ostalimi plastmi. Vsebuje velik delež lignanov in proteinov z uravnoteženo aminokislinsko sestavo, topno in netopno prehransko vlaknino, fitinsko kislino, fenolne kisline, karotenoide, lignane, antocianine, izoflavonoide, lipide, vitamine E in vitamine skupine B ter minerale. Poudariti velja, da se v alevronski plasti nahaja tudi precej hidrolitičnih encimov (amilaz, proteinaz, citolitičnih encimov itd.), ki imajo ključno vlogo med kaljenjem zrna. Kalček je bogat s proteini (vir žveplo vsebujočih aminokislin in glutaciona), ogljikovimi hidrati (zlasti saharozo in rafinozo) in minerali. Vsebuje velik delež maščob (je pomemben vir α -linolenske kisline) in posledično v maščobah topnega vitamina E, ki je znan antioksidant. Glede na ostale dele zrna ima kalček največjo vsebnost vode, vendar koncentracija posameznih vodotopnih vitaminov ni nujno največja v kalčku. Uporabo kalčka za proizvodnjo pekovskih izdelkov omejuje njegova nestabilnost in prisotnost antinutrientov kot so rafinoza, fitinska kislina in aglutinin. Zadnji, največji del zrna predstavlja endosperm, čigar glavno tvorijo škrobna zrnca, ki so obdana s proteini, predvsem glutonom. V celičnih stenah endosperma prevladujejo arabinoksilani, precej manj je β -glukanov, β -glukomanov in celuloze. Kljub temu, da slednje predstavljajo prehransko pomembne spojine, velja opozoriti, da jih napram otrobom, endosperm vsebuje relativno malo (Arendt in Zannini, 2013; Fardet, 2010; Brouns in sod., 2013; Onipe in sod., 2015).

Po kemijski sestavi v žitnih zrnih prevladujejo ogljikovi hidrati (cca. 60 - 75 %), sledijo proteini (cca. 10 - 15 %), voda (12 - 15 %) in lipidi (cca. 2 %). Glavnino mineralnih snovi predstavljajo kalijevi, magnezijevi in kalcijevi fosfati oz. sulfati. V manjših koncentracijah so prisotne še spojine železa, cinka, natrija. Med vitamini najdemo največ predstavnikov skupine B (tiamin, riboflavin, niacin) (Čalinoiu in Vodnar, 2018; Fraš in sod., 2016; Ragae in sod., 2006). Strukturni polisaharidi žit kot so rezistentni škrob, β -glukani, arabinoksilani, celuloza in fruktani se v prebavnem traktu ne razgradijo, zaradi česar jih uvrščamo med prehransko vlaknino (Gong in sod., 2018). Med prehransko vlaknino uvrščamo tudi ne-polisaharidno spojino lignin, ki prav tako predstavlja pomemben strukturni del celičnih sten.

Pšenično zrno vsebuje približno 13 % prehranske vlaknine in najmanj 2 % drugih bioaktivnih komponent, kar skupaj predstavlja 15 % delež. Slednje je precej manj kot v otrobih, kjer skupni delež vlaknin in bioaktivnih komponent znaša več kot polovico celotne frakcije, s čimer zlahka pojasnimo njihov upad v prečiščenih žitih (Fardet, 2010). Večina pšenice se zmelje v moko in porabi za izdelavo raznoraznih pekovskih



Slika 1: Bioaktivne komponente znotraj pšeničnega zrna niso enakomerno razporejene, koncentrirane so v ovojnici zrna (skuppek različnih perikarpa, teste in aleuronske plasti), zato prečiščena žita izgubijo glavnino zaščitnih spojin (povzeto po Arendt in Zannini (2013); Fardet (2010); Brouns in sod. (2013); Onipe in sod. (2015))

Figure 1: Bioactive compounds in wheat grain are unevenly distributed within its different parts, they are concentrated in outer layers of the kernel (pericarp, testa, aleurone layer), therefore the products that lack the bran and germ fraction have lost most of their protective compounds (summarized by Arendt and Zannini (2013); Fardet (2010); Brouns et al. (2013); Onipe et al. (2015))

proizvodov. Med mletjem se zaradi izboljšanja tehnoloških lastnosti in podaljšanja trajnosti končnega izdelka (moke) pšeničnemu zrnu odstrani otrobe in kalček. Posledično zmleto zrno praviloma vsebuje več škroba, a manj proteinov, mineralov in vitaminov. Prečiščena moka je nadalje osiromašena s topno (β -glukani, fruktani, rafinoza, stahioza itd.) in netopno vlaknino (ksilani, celuloza, lignini, hemiceluloza itd.). V zunanjih plasteh zrna in v kalčku se nahaja tudi večina fenolnih kislin in flavonoidov, medtem ko jih celične stene endosperma vsebujejo neprimerljivo manj (Fardet, 2010; Oghbaei in Prakash, 2016; Slavin in sod., 2000). Na spremenjeno hranilno vrednost lahko znatno vpliva že tako preprost postopek kot je frakcioniranje delcev s siti (Oghbaei in Prakash, 2016).

Uporaba prečiščene moke je tako razširjena predvsem na račun bistveno boljših tehnoloških lastnosti kot jo ima polnozrnat moka. Glavni stranski proizvod žitno predelovalne industrije, otrobi, tako predstavljajo neizkoriščen vir mikrohranil, prehranske vlaknine in raznih fitokemikalij. Številni raziskovalci se ukvarjajo z iskanjem ustrezne rešitve, kako otrobe kar najpogosteje vključiti v prehrano ljudi. Glavni izziv ostaja razvoj izdelka z izboljšano prehransko vrednostjo, ki hkrati ohranja tudi sprejemljivo senzorično in tehnološko kakovost (Le Bleis in sod., 2015; Patel, 2015).

5 BIOSINTEZA FENOLNIH SPOJIN

Fenolne spojine so spojine z vsaj enim aromatskim

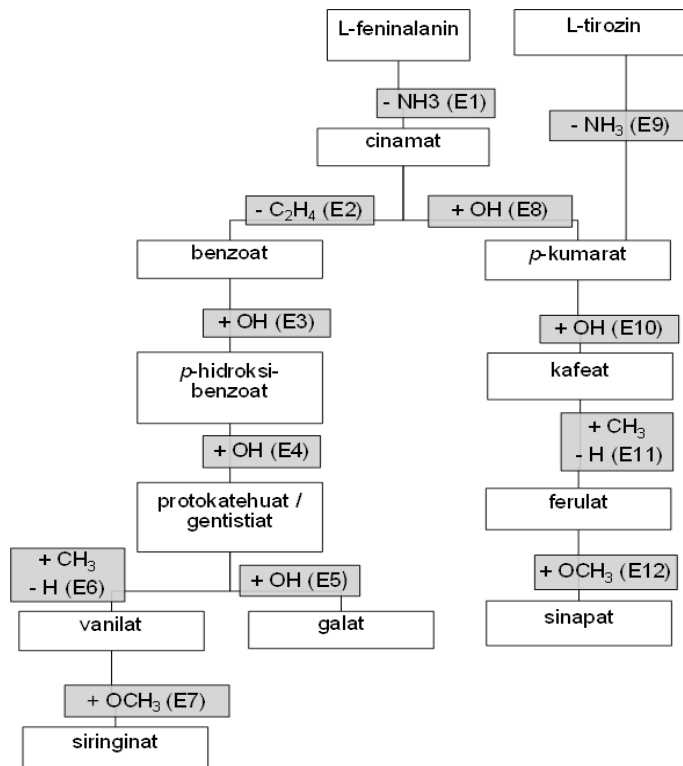
obročem, na katerega je vezana (ena ali več) hidroksilna skupina. Mednje spadajo fenolne kisline (C6-C1 in C6-C3), flavonoidi (C6-C3-C6), stilbeni (C6-C2-C6), kumarini (C6-C3), tanini (hidrolizabilni in kondenzirani), lignani (C6-C3)₂ in lignini (C6-C3)_n. Fenolne spojine so sekundarni metaboliti rastlin s ključno vlogo pri razmnoževanju in rasti rastlin, delujejo kot obramba pred patogenimi organizmi, paraziti in plenilci, ponekod so odgovorni tudi za barvo rastlin (Liu, 2007). Fenolne spojine dajejo rastlinam grenak, oster, trpek okus in posledično zmanjšujejo sprejemljivost živil, ki so z njimi obogatena v večji meri. Nekatere fenolne spojine, predvsem tiste z veliko molsko maso, smatramo lahko celo za antinutriente; zaradi tvorbe kompleksov vplivajo na manjšo prebavljivost škroba, motijo absorpcijo proteinov ter zmanjšujejo dostopnost železa (Drewnowski in Gomez-Carneros, 2000). Naštete lastnosti vsekakor precej omejujejo njihovo uporabo pri razvoju funkcionalnih izdelkov.

Biosinteza fenolnih spojin v večji meri poteka na citoplazemski površini endoplazmatskega retikuluma. V pentozna-fosfatni poti nastane eritroza-4-fosfat, ki vstopa v reakcijo s fosfoenolpiruvatom. V zaporedju reakcij, imenovanih šikimatna pot, se šikimska kislina pretvori v dve aromatski aminokislini, fenilalanin in tirozin (Shahidi in Ye, 2016). Glavni prekurzor fenolnih kislin, ki nastajajo po fenilpropanoidni poti je tako fenilalanin in v manjšem obsegu tirozin (Slika 2). Preklop aminokislin iz primarnega v sekundarni metabolizem je možen zaradi delovanja encima fenilalanin amonia liaze/tirozin amonia liaze (PAL / TAL). Pri tem se še

nič ne ve, zakaj in kdaj pride do take preusmeritve fenilalanina v biosintezo fenolnih spojin. Odcep amino skupine iz molekule fenilalanina in/ali tirozina privede do nastanka cimetine kisline. Osrednjo reakcijo deaminiranja katalizira PAL. V nadaljevanju sledi vezava hidroksilne (-OH) skupine na položaj 4 v aromatskem obroču, reakcijo katalizira encim cinamat-4-hidroksilaza (CAH, C4H). Slednje omogoča nastanek *p*-kumarne kisline (Petersen in sod., 2010). Njuna derivata, kavna in ferulna kislina, nastaneta z vezavo hidroksilne in metilne skupine na aromatski obroč *p*-kumarne kisline. Deaminiranje, hidroksiliranje in metiliranje so tako tri osrednje reakcije nastanka fenolnih kislin (Helena in sod., 2015), vendar si raziskovalci niso povsem enotni o podrobnem poteku fenilpropanoidne poti. Čeprav v splošnem velja, da ferulna kislina nastane neposredno iz *p*-kumarne kisline, nekateri raziskovalci encimu

p-kumarat-3-hidroksilaza pri delovanju *in vivo* pripisujejo večjo afiniteto do derivatov *p*-kumaril estrov kot do *p*-kumarne kisline, s čimer hidroksiliranje slednje in njeno direktno pretvorbo v kavno kislino postavljajo pod vprašanje. Podobno naj bi imel encim kafeat-3-metil transferaza večjo preferenco do 5-hidroksiferulne kisline kot do kavne kisline (de Oliveira in sod., 2015).

Metabolično so hidroksicimetine kisline same po sebi bolj ali manj nereaktivne, za nastanek njihovih derivatov je potrebna predhodna aktivacija karboksilne skupine, ki jo katalizira encim *p*-kumarat-CoA ligaza (4CL). Omenjen encim lahko deluje na različno substituirane hidroksicimetine kisline, pri čemer se *p*-kumarina, kavna in ferulna smatrajo za dobre substrate, medtem ko sta cimetna in sinapinska kislina slabi ali celo zelo slaba substrata. Aktivacija hidroksicimetine kisline v tioester koencim A predstavlja izhodišče za številne



Slika 2: Biosintezna pot hidroksibenzojskih in hidroksicimernih fenolnih kislin. Encimi: (E1) fenilalanin amonia liaza, (E2) oksidaza, (E3) benzoat-4-hidroksilaza, (E4) *p*-hidroksibenzoat-3-hidroksilaza, (E5) protokatehuat-5-hidroksilaza, (E6) protokatehuat-3-O-metiltransferaza, (E7) vanilat-5-hidroksilaza in vanilat-5-O-metiltransferaza, (E8) cinamat-4-hidroksilaza, (E9) tirozin amonia liaza, (E10) *p*-kumarat-3-hidroksilaza, (E11) kafeat-3-O-metiltransferaza, (E12) ferulat-5-hidroksilaza in kafeat/5-hidroksiferulat-O-metiltransferaza (povzeto po Heleno in sod. (2015))

Figure 2: Biosynthesis of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic phenolic acids. Enzymes: (E1) Phenylalanine ammonia lyase, (E2) Oxidase, (E3) Benzoate-4-hydroxylase, (E4) *p*-hydroxybenzoate-3-hydroxylase, (E5) protocatechuate-5-hydroxylase, (E6) protocatechuate-3-O-methyltransferase, (E7) vanillate-5-hydroxylase and vanillate-5-O-methyltransferase, (E8) cinnamate-4-hydroxylase, (E9) tyrosine ammonia lyase, (E10) *p*-coumarate-3-hydroxylase, (E11) caffeate-3-O-methyltransferase, (E12) ferulate-5-hydroxylase and caffeate / 5-hydroxyferulate-O-methyltransferase (summarized by Heleno et al. (2015)).

druge spojine: flavonoide, izoflavonoide, stilbene itd. (Petersen in sod., 2010). Prekurzor druge skupine fenolnih kislin (ti. hidroksibenzojskih kislin) je benzojska kislina, ki nastane tako, da se stranska veriga cimetine kisline skrajša za dva ogljikova atoma (Slika 2). Podobno kot v primeru cimetine in *p*-kumarne kisline, lahko reakciji hidroksiliranja in metiliranja potečeta tudi na molekuli benzojske kisline, rezultat česar je nastanek ustreznih derivatov, tj. protokatehajske in *p*-hidroksibenzojske kisline (Heleno in sod., 2015). Transport nastalih fenolnih kislin z endoplazmatskega retikuluma do ostalih organelov v rastlinski celici poteka ali s pomočjo veziklov ali transmembranskih prenašalnih proteinov (Shahidi in Yeo, 2016).

6 PROSTE, KONJUGIRANE IN VEZANE FENOLNE SPOJINE

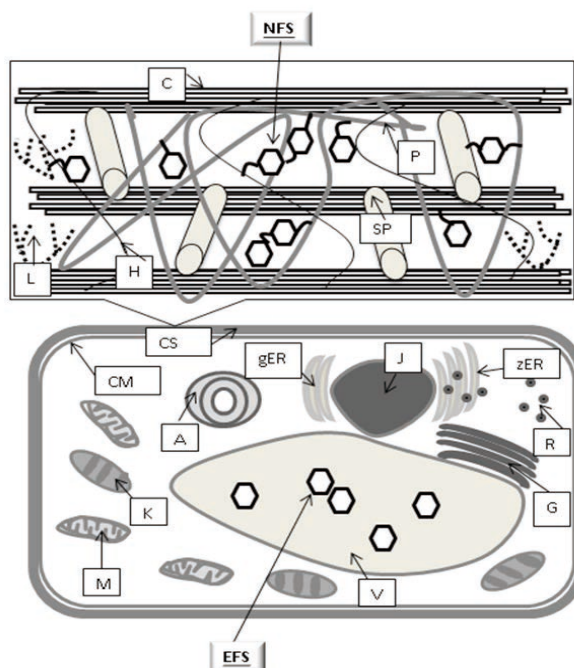
Do nedavnega biološko aktivne spojine polnozrnatih pripravkov niso bile deležne tolikšne pozornosti kot tiste v sadju in zelenjavi, čeprav zadostno uživanje polnozrnatih proizvodov strokovnjaki že dlje časa povezujejo z zmanjšano oboletostjo za številnimi kroničnimi boleznimi sodobnega časa. Raziskave zadnjih let (Liu, 2007) so pokazale, da je vsebnost skupnih bioaktivnih komponent in antioksidativna aktivnost polnozrnatih izdelkov/živil pogosto podcenjena, še zlasti če upoštevamo, kolikokrat dnevno se izdelki iz žit znajdejo na naših jedilnikih. Eden glavnih vzrokov je ta, da so v preteklosti raziskave vključevale zgolj proste in le šibko vezane spojine, ki so med ekstrakcijo bolj ali manj uspešno prešle v vodno raztopino metanola, etanola ali acetona, medtem ko večina vezanih fenolnih spojin ni bila niti določena v trdnem preostanku po ekstrakciji. Izkazalo se je, da te postanejo dostopne šele po bolj specifični obdelavi rastlinskega materiala (Adom in Liu, 2002; Naczek in Shahidi, 2006).

Fenolne spojine se v rastlinski celici torej ne nahajajo zgolj v prosti obliki, ampak lahko tvorijo tudi topne konjugate in netopno vezane fenolne spojine. Kot pove že samo ime, se proste fenolne spojine nahajajo v prosti, tj. nevezani obliki; konjugirane topne fenolne spojine so vezane na topne molekule z majhno molsko maso (ogljikove hidrate, proteine, lipide) in so ujete v vakuoli (Acosta-Estrada in sod., 2014; Shahidi in Yeo, 2016). Pri nastanku topnih konjugatov v žitih pride običajno do tvorbe kovalentnih vezi (estrške in estrske vezi), lahko pa so ti posledica tudi nastalih vodikovih vezi in hidrofobnih interakcij med različnimi molekulami (Xu in sod., 2019). V rižu, koruzi, pšenici in prosu so v frakciji topnih konjugatov določili bistveno več ferulne kot *p*-kumarne kisline; med monosaharidi

pa so v spremenjenih deležih prevladovala arabinoza, ksiloza in glukoza (Rao in Muralikrishna, 2004). Proste fenolne spojine in topne konjugate tako uvrščamo med ekstraktibilne fenolne spojine, vezane ali netopne fenolne spojine pa med neekstraktibilne (Pérez-Jiménez in sod., 2013; Xu in sod., 2019). Tvorba topnih konjugatov vpliva na topnost fenolnih spojin ter še na nekatere druge pomembne lastnosti. Topni ogljikovi hidrati so spojine z več hidroksilnimi skupinami, ki posledično povečajo hidrofilitnost pripetih fenolnih spojin, zlasti flavonoidov. Slednje vodi v njihovo izboljšano biorazpoložljivost. Paucar-Menacho in sod. (2017) so v koruzi določili flavonoide konjugirane predvsem z monosaharidi (primeri: kvercetin-*O*-glukozid, kamferol-*O*-glukozid) in disaharidi (primeri: kvercetin-3-*O*-rutinozid, izoramnetin-3-*O*-rutinozid). Nadalje je možna vzpostavitev estrskih, vodikovih ali elektrostatskih vezi tudi med fenolno spojino in oligosaharidi oz. polisaharidi. Polisaharidi iz vrst topne prehranske vlaknine ujamejo in zaščitijo fenolne spojine. Tako nastali konjugat zaščiti fenolno spojino pred drugimi oksidanti in svetlobo. Poleg tega so topni polisaharidi donorji vodika in tako pripomorejo k boljšemu antioksidativnemu delovanju konjugiranih fenolnih spojin. Fenolne spojine v obliki topnih konjugatov so torej dokazano učinkovitejše kot so njihove pripadajoče hidrolizirane oblike (Xu in sod., 2019).

Zadnjo, količinsko najbolj zastopano obliko, predstavljajo netopno vezane fenolne spojine, ki so na različne načine vključene v celično steno (Slika 3). Lahko so s kovalentno vezjo pritrjene na gradnike celične stene kot so pektin, celuloza, hemiceluloza ali strukturni proteini (Shahidi in Yeo, 2016). Funkcionalna skupina fenolne kisline, ki sodeluje pri nastanku estrske vezi z ligninom je hidroksilna skupina, pripeta na aromatski obroč. Kadar pa kisline vstopajo v reakcijo s strukturnimi proteini ali neškrobnimi polisaharidi preko karboksilne skupine, govorimo o nastanku estrske vezi (Acosta-Estrada in sod., 2014). Pri sintezi netopne fenolne spojine je možen tudi nastanek C-C vezi (C-glikozidi). Netopne fenolne spojine imajo pomembno vlogo pri vzdrževanju integritete celične stene, zagotavljajo tako fizično kot kemijsko bariero, ščitijo pred vdorom patogenih organizmov, s svojo značilno trpkostjo pa odvrtačajo insekte in živali pred zaužitjem (Shahidi in Yeo, 2016).

Številni literaturni viri potrjujejo dejstvo, da prosta oblika predstavlja zgolj manjši delež vseh prisotnih fenolnih kislin v žitih, te se tako pretežno nahajajo v vezani obliki (kot topne ali netopne): 85 % v koruzi, 76 % v pšenici, 75 % v ovsu in 62 % v rižu. Rjavi riž vsebuje približno 88 % fenolnih spojin vezanih, ječmen pa med 55 % in 89 %, odvisno od sorte (Acosta-Estrada in sod.,



Slika 3: Razporeditev ekstraktibilnih (EFS) in neekstraktibilnih (NFS) fenolnih spojin v rastlinski celici. Zgradba celice: (V) vakuola, (M) mitohondrij, (K) kloroplast, (A) amiloplast, (J) jedro, (R) ribosom, (gER) gladki endoplazmatski retikulum, (zER) zrnati endoplazmatski retikulum, (G) golgijev aparat, (CM) celična membrana, (CS) celična stena. Strukturni elementi celične stene: (C) celuloza, (H) hemiceluloza, (SP) strukturni protein, (L) lignin, (P) pektin

Figure 3: Distribution of extractable (EFS) and non-extractable (NFS) phenolic compounds in a plant cell. Cell structure: (V) vacuole, (M) mitochondria, (K) chloroplast, (A) amyloplast, (J) nucleus, (R) ribosome, (gER) smooth endoplasmic reticulum, (zER) granular endoplasmic reticulum, (G) Golgi apparatus, (CM) cell membrane, (CS) cell wall. Cell wall structural elements: (C) cellulose, (H) hemicellulose, (SP) structural protein, (L) lignin, (P) pectin.

2014). Uživanje žitnih proizvodov tako pripomore k vnosu vezanih fenolnih spojin le pri uporabi celega zrna ali otrobov. V raziskavi, ki so jo pred leti izvedli Mattila in sod. (2005) so primerjali vsebnost fenolnih spojin v različnih žitih in njihovih izdelkih. Največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin so po hidrolizi vzorca kvantitativno določili s HPLC v otrobih pšenice (4527 mg kg^{-1}) in rži (4190 mg kg^{-1}) ter v polnozrnatih moki iz teh semen (1342 oz. 1366 mg kg^{-1}). V prečiščeni pšenični moki so določili le še zanemarljiv delež fenolnih spojin (167 mg kg^{-1}).

Ferulna kislina je prevladujoča fenolna kislina v žitnih zrnih. V 100 g suhe snovi pšeničnega zrna najdemo približno $8 - 20 \text{ mg}$ ferulne kisline; ta lahko predstavlja vse do 90% skupnih fenolnih spojin. Ferulna kislina se nahaja predvsem v zunanjih plasteh zrna. Alevranska plast in perikarp zajemata 98% celotne količine ferulne kisline, zato ne preseneča, da je njena vsebnost v moki v tesni korelaciji z mletjem in sejanjem (Oghbaei in Prakash, 2016). V pšenici se ferulna kislina skorajda vsa nahaja v vezani obliki, podobno je tudi pri koruzi, ovsu in rižu (Adom in Liu, 2002). Običajno je

pritrjena na hemicelulozo, kjer prevladuje tvorba estrske vezi med ferulno kislino in arabinoksilanom. Ferulna kislina, ki tvori estrsko vez z arabinoznimi ostanki arabinoksilana (s hidroksilno skupino na mestu C-5), se lahko hkrati poveže tudi z molekulo lignina preko estrske vezi. Nadalje je možen nastanek dimera ferulnih kislin dveh sosednjih arabinoksilanov; takšna prečna zamreženost blokira delovanje hidrolaz, kar zmanjša učinkovitost encimske razgradnje in s tem prebavljivost polisaharidov celične stene. Prepletenost celične stene z estri ferulne kisline (oz. njenimi dimeri) in arabinoksilanom ter ligninom vpliva na številne lastnosti celične stene kot so aderenza, raztegljivost, dostopnost in biorazgradljivost (Oliveira in sod., 2019). Ferulna kislina je poznana po zaviranju bolezni, ki so posledica oksidativnega stresa. Boz (2015) v svojem pregledu literature navaja, da je spojina sposobna nevtralizirati različne proste radikale, ki bi sicer povzročili oksidativne poškodbe celične membrane in DNA. Po antioksidativni učinkovitosti je ferulna kislina primerljiva z ostalimi fenolnimi kisljinami, njen potencial je odvisen od izbire *in vitro* testa, zlasti učinkovito se je izkazala pri lovl-

jenju alkilperoksilnih radikalov v emulziji (Terpinc in Abramovič, 2010). Med njene koristne učinke prištevamo tudi uravnavanje strjevanja krvi, zniževanje nivoja holesterola in trigliceridov ter posledično manjše tveganje za razvoj srčno-žilnih bolezni (Boz, 2015). Nadalje de Oliveira Silva in Batista (2017) v svojem članku bralcu predstavita protimikrobno in protivnetno delovanje ferulne kisline, njeno zaščitno vlogo pri razvoju sladkorne bolezni in različnih rakavih obolenj, vse več raziskav pa zadostno uživanje ferulne kisline povezuje s preprečevanjem in lajšanjem nevrodegenerativnih bolezni, predvsem Parkinsonove in Alzheimerjeve bolezni ter depresije.

7 METABOLIZEM VEZANIH FENOLNIH SPOJIN

Bioaktivne lastnosti fenolnih spojin so precej dobro raziskane predvsem *in vitro*. Številne študije, ki se ukvarjajo z njihovo biološko učinkovitostjo, ignorirajo vprašanje njihove dostopne koncentracije kot tudi presnovno obliko, v kateri fenolne spojine dejansko krožijo znotraj krvnega obtoka. Ko pride do zaužitja enostavnih fenolnih spojin, ki so v prosti obliki, se te v tankem črevesju hitro absorbirajo. V tankem črevesu in jetrih so podvržene konjugiranju, proces povzroči številne spremembe v njihovi prvotni strukturi. Reakcije glukoronidiranja, metiliranja ali sulfatiranja tako privedejo do nastanka ustreznih derivatov fenolnih kislin. Strukturne spremembe bodisi izboljšajo bodisi zmanjšajo biološko aktivnost zaužitih fenolnih spojin (Helena in sod., 2015).

Omenjen proces ni pomemben samo z vidika detoksifikacije, nastanek ustreznih derivatov hkrati poveča hidrofilnost izhodnih molekul, ki se tako z žolčem ali urinom lažje odstranijo iz telesa. Zaradi učinkovitih mehanizmov konjugacije, so aglikoni prisotni v krvi v zelo majhnih koncentracijah. Transport konjugiranih derivatov fenolnih spojin po krvi poteka s pomočjo albuminov. V dvanajstniku so izpostavljeni delovanju bakterijskih encimov, zlasti β -glukoronidaz. Po tem koraku lahko pride do njihove ponovne absorpcije, kar vodi do daljše prisotnosti fenolnih spojin v telesu (Helena in sod., 2015).

Ferulna kislina in ostale hidroksicimetne kisline, ki so vezane na celično steno, niso dostopne človeškemu encimom prebavnega trakta, ampak njihovo razgradnjo katalizirajo encimi črevesne mikroflore, zlasti ksilanaze in esteraze. Tako so vezane fenolne spojine po zaužitju v prebavnem traktu človeka podvržene številnim encimskim reakcijam, ki spremenijo njihove fizikalne in kemijske lastnosti. Fenolne spojine se sprostijo iz

živila s pomočjo encimsko katalizirane hidrolize v želodcu kot tudi kasneje med fermentacijo vlakninskega matriksa v debelem črevesu. Močno na sam proces vplivajo pH razmere v prebavnem traktu. Človeško telo lahko absorbira zgolj 5 – 10 % vseh fenolnih spojin, ki so po večini monomeri ali dimeri. Zanimarjiv del sproščenih fenolnih spojin iz vezanih oblik se podobno, kot to velja za proste fenolne spojine, tako absorbira že v tankem črevesu, čemur sledi tvorba konjugatov z drugimi spojinami, da lahko preidejo v krvni obtok. Preostalih 90 – 95 % fenolnih spojin (oligomeri, polimeri) je rezistentnih na encimsko razgradnjo v zgornjem delu prebavil in dosežejo debelo črevo v intaktni obliki. Tu so podvrženi fermentaciji s strani bifidobakterij in mlečnokislinskih bakterij, ki so del naravne črevesne mikrobiote. Omenjeni mikroorganizmi izločajo najrazličnejše ekstracelularne encime, ki so sposobni razgraditi celično steno in/ali hidrolizirati kovalentne vezi vezanih fenolnih spojin. Tako sproščene fenolne spojine naj bi posredno preko fermentacije pomembno prispevale k znižanju pH in posledično k zaviranju rasti mikroorganizmov, ki inducirajo raka. Tiste fenolne spojine, ki niso fermentabilne oz. se ne morejo absorbirati, naj bi kazale protimikrobno in antioksidativno delovanje in tako zavirale rast patogenih bakterij. Po drugi strani pa so prisotni mikroorganizmi sposobni pretvoriti nekatere fenolne spojine v aktivnejše spojine, ki se lažje absorbirajo (Čalinoiu in Vodnar, 2018; Gong in sod., 2018). Metabolizem fenolnih kislin s strani mlečnokislinskih bakterij je povezan z delovanjem dekarboksilaz in reduktaz. Prva skupina encimov omogoča dekarboksiliranje hidroksibenzojske ali hidroksicimetne kisline in s tem nastanek njihovih ustreznih 4-vinil derivatov, reduktaze pa so odgovorne za hidrogeniranje dvojne vezi. Opisane transformacije so specifična lastnost posameznega seva; sevi, ki so sposobni pretvoriti ferulno kislino v 4-vinilgvajakol, niso nujno zmožni pretvarjati tudi drugih hidroksicimetnih kislin. Lahko pa različni sevi omogočajo nastanek drugačnih metabolitov iz istega substrata (Gänzle, 2014).

8 ZAKLJUČEK

Pretežni del zdravju koristnih spojin je v žitnem zrnu koncentriran v zunanjih plasteh zrna, ki se jih med proizvodnjo prečiščene (bele) moke odstrani. Številne raziskave preteklih let pričajo o pomembnosti uživanja polnozrnatih žitnih izdelkov oz. otrobov. Slednji so pomembni z vidika vnosa številnih bioaktivnih komponent, tudi fenolnih spojin. Med najpomembnejšimi predstavniki velja omeniti ferulno kislino, ki se v žitih skoraj vsa nahaja v vezani obliki. Absorpcija vezanih

fenolnih kislin je v primerjavi z njihovo prosto obliko precej otežena. Pretežni del vezanih fenolnih spojin se ne more absorbirati v tankem črevesu, ampak preidejo v debelo črevo, kjer jih prisotni mikroorganizmi fermentirajo in tako delno sprostijo iz celičnih sten. Številni raziskovalci podpirajo teorijo, da je pozitiven učinek uživanja polnozrnatih žit omogočen preko dveh mehanizmov: (1) otrobi kot vir prebiotikov (fruktanov, rafinoze, stahioze) uravnavajo sestavo in aktivnost črevesne mikrobiote ter odpravljajo ekološko neravnotežje (2) črevesna mikrobiota je sposobna pretvoriti določene neškrobne polisaharide in fenolne spojine iz otrobov v metabolite, ki imajo lahko tudi boljše biološko aktivnost kot zaužite spojine. Vsekakor so za lažje razumevanje ključne vloge vezanih fenolnih spojin, ki jih ti imajo pri uravnavanju našega zdravja, potrebne nadaljnje raziskave in sodelovanje strokovnjakov različnih ved.

9 VIRI

- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Adom, K. K. & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
- Arendt, E. K. & Zannini, E. (2013). *Cereals grains for the food and beverage industries*. Cambridge, Woodhead Publishing Ltd.
- Aura, A.-M. 2008. Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 407-429. <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9095-3>
- Belobrajdic, D. P. & Bird, A. R. (2013). The potential role of phytochemicals in wholegrain cereals for the prevention of type-2 diabetes. *Nutrition Journal*, 12(1), 62. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-62>
- Borneo, R., León, A. E. (2012). Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food & Function*, 3(2), 110-119. <https://doi.org/10.1039/c1fo10165j>
- Boz, H. (2015). Ferulic acid in cereals -- a Review. *Czech Journal of Food Science*, 33(1), 1-7. <https://doi.org/10.17221/401/2014-cjfs>
- Brouns, F. J. P. H., van Buul, V. J., Shewry, P. R. (2013). Does wheat make us fat and sick? *Journal of Cereal Science*, 58(2), 209-215. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.06.002>
- Călinoiu, F. L., Vodnar, C. D. (2018). Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/nu10111615>
- de Oliveira, D. M., Finger-Teixeira, A., Rodrigues Mota, T., Salgado, V. H., Moreira-Vilar, F. C., Correa Molinari, H. B., Craig Mitchell, R. A., Marchiosi, R., Ferrarese-Filho, O., Dantas dos Santos, W. (2015). Ferulic acid: a key component in grass lignocellulose recalcitrance to hydrolysis. *Plant Biotechnology Journal*, 13(9), 1224-1232. <https://doi.org/10.1111/pbi.12292>
- de Oliveira Silva, E. & Batista, R. (2017). Ferulic acid and naturally occurring compounds bearing a feruloyl moiety: A review on their structures, occurrence, and potential health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 580-616. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12266>
- Drewnowski A., Gomez-Carneros C. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(6), 1424-1435. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.6.1424>
- Espín, J. C., González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A. (2017). The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. *Biochemical Pharmacology*, 139, 82-93. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.04.033>
- Fardet, A. (2010). New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews*, 23(1), 65-134. <https://doi.org/10.1017/s0954422410000041>
- Fraś A., Gołębowska K., Gołębowski D., Mańkowski D. R., Boros D., Szczówka P. 2016. Variability in the chemical composition of triticale grain, flour and bread. *Journal of Cereal Science*, 71, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.06.016>
- Gänzle, M. G. (2014). Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 37, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.007>
- Gong, L., Cao, W., Chi, H., Wang, J., Zhang, H., Liu, J., Sun, B. (2018). Whole cereal grains and potential health effects: Involvement of the gut microbiota. *Food Research International*, 103, 84-102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.025>
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173, 501-513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>
- Jesch, E. D., Carr, T. P. (2017). Food ingredients that inhibit cholesterol absorption. *Preventive nutrition and food science*, 22(2), 67-80. <https://doi.org/10.3746/pnf.2017.22.2.67>
- Kaur, N. & Singh, D. P. (2017). Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite*, 112, 167-187. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.01.033>
- Koistinen, V. M. & Hanhineva, K. (2017). Mass spectrometry-based analysis of whole-grain phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1688-1709. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1016477>
- Le Bleis, F., Chaunier, L., Chiron, H., Della Valle, G., Saulnier, L. (2015). Rheological properties of wheat flour dough and French bread enriched with wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 65, 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.014>
- Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health.

- Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.010>
- Mattila, P., Pihlava, J.-M., Hellström, J. (2005). Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8290-8295. <https://doi.org/10.1021/jf051437z>
- McKevith, B. (2004). Nutritional aspects of cereals. *Nutrition Bulletin*, 29(2), 111-142. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x>
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56(2), 181-188. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00247-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00247-9)
- Naczki, M. & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>
- Oghbaei, M., Prakash, J. (2016). Effect of primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: A comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1136015. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1136015>
- Oliveira, D. M., Mota, T. R., Oliva, B., Segato, F., Marchiosi, R., Ferrarese-Filho, O., Faulds, C. B., dos Santos, W. D. (2019). Feruloyl esterases: Biocatalysts to overcome biomass recalcitrance and for the production of bioactive compounds. *Bioresource Technology*, 278, 408-423. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.064>
- Onipe, O. O., Jideani, A. I. O., Beswa, D. (2015). Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(12), 2509-2518. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12935>
- Ostlund, J. R. E., Racette, S. B., Stenson, W. F. (2003). Inhibition of cholesterol absorption by phytosterol-replete wheat germ compared with phytosterol-depleted wheat germ. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(6), 1385-1389. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.6.1385>
- Patel, S. (2015). Cereal bran fortified-functional foods for obesity and diabetes management: Triumphs, hurdles and possibilities. *Journal of Functional Foods*, 14, 255-269. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.010>
- Paucar-Menacho, L. M., Martínez-Villaluenga, C., Dueñas, M., Frias, J., Peñas, E. (2017). Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.064>
- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 118-129. <https://doi.org/10.1017/s0954422413000097>
- Petersen, M., Hans, J., Matern, U. (2010). Biosynthesis of phenylpropanoids and related compounds. V M. Wink (Ur.), *Annual Plant review, s Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, Second edition* (str. 182-257). Singapore: Blackwell Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch4>
- Ragaei, S., Abdel-Aal, E.-S. M., Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98(1), 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.039>
- Rao, R. S. P. & Muralikrishna, G. (2004). Non-starch polysaccharide-phenolic acid complexes from native and germinated cereals and millet. *Food Chemistry*, 84(4), 527-531. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00274-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00274-7)
- Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P. (2018). Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2531-2548. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>
- Seetharaman, K. & Abdel-Aal, E.-S. M. (2014). The impact of milling and thermal processing on phenolic compounds in cereal grains AU - Ragaei, Sanaa. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(7), 837-849. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.610906>
- Selma, M. V., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A. (2009). Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6485-6501. <https://doi.org/10.1021/jf902107d>
- Shahidi F. & Yeo J. 2016. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9), 1216. <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456-467. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
- Slavin, J. L., Jacobs, D., Marquart, L. 2000. Grain processing and nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(4), 309-326. <https://doi.org/10.1080/10408690091189176>
- Terpinc, P. & Abramovič, H. (2010). A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. *Food Chemistry*, 121(2), 366-371. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.037>
- Williamson, G. & Clifford, M. N. (2017). Role of the small intestine, colon and microbiota in determining the metabolic fate of polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 139, 24-39. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.03.012>
- Xu, M., Rao, J., Chen, B. (2019). Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1550051>
- Zhu, F., Du, B., Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, 52, 275-288. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.003>