

# ROZŠÍŘENÍ SPEKTRA ROSTLINNÝCH PRODUKTŮ Z EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ PRO DIETU PŘI CELIAKII

## *Widening of spectra plant products from organic farming for gluten-free diet in coeliac disease*

Ivana Capouchová, Jiří Petr, Lucie Krejčířová

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Summary:** A collections of 40 species and varieties of cereals were evaluated for their suitability for a gluten-free diet. Evaluated crops were grown in organic farming system. Composition of the grain storage proteins (SDS-PAGE electrophoresis) and quantity of prolamins (ELISA) were evaluated in the obtained grain samples. By the immunological tests, prolamins content below the limit for gluten-free diet (10 mg.100g<sup>-1</sup> of sample) was found in the evaluated varieties of sorghum, amaranth, quinoa, foxtail millet and broadroot. Suitability of oats in gluten-free diet seems to be risky – from the 16 evaluated oats species and varieties some of them were below the limit for gluten-free diet, other exceeded the limit and their usability for the diet in coeliac disease did not come into account. It is not also possible to recommend for gluten-free diet historic species of wheat – spelt, emmer, einkorn and kamut.

**Key words:** *gluten-free diet, alternative crops, protein composition, immunological evaluation*

**Souhrn:** Hodnotili jsme soubor cca 40 druhů a genotypů cereálií a pseudocereálií z hlediska jejich možného uplatnění v bezlepkové dietě při celiakii. Hodnocené rostlinné suroviny byly vypěstovány ekologickým způsobem. Vlastní testování spočívalo především v hodnocení skladby bílkovin zrna (SDS-PAGE elektroforéza) a v imunologickém hodnocení sledovaných rostlinných surovin (ELISA). Z těchto testů vyšly s podlimitními hodnotami obsahu prolaminů (do 10 mg.100g<sup>-1</sup> vzorku) hodnocené genotypy čiroku zrnového a cukrového, bér vlašský, amarantus a quinoa; z historicky využívaných druhů těž ježatka obilní a rosička krvavá. Využitelnost ovsu se ukázala jako problematická – ze 16 hodnocených druhů a odrůd byly některé pod limitem pro bezlepkovou dietu, jiné ho vysoce překročily. Na základě našich výsledků nelze doporučit ani pšenici špaldu, dvouzrnku, jednozrnku a kamut.

**Klíčová slova:** *bezlepková dieta, alternativní rostlinné suroviny, skladba bílkovin, imunologické hodnocení*

### Úvod

Celiakie (glutensenzitivní enteropatie, celiakální sprue) je onemocnění, které je způsobeno abnormální imunitní reakcí organismu na lepek. Škodlivou toxou pro nemocného jsou fragmenty bílkovin s vysokým zastoupením a specifickou sekvencí prolaminu, glutaminu a kyseliny glutamové, které jsou obsaženy především ve frakci pšeničných gliadinů a v prolaminové frakci bílkovin dalších druhů obilnin I. skupiny – žita, ječmene, tritikale a pravděpodobně i ovsu (Tlaskalová *et al.*, 1999). Jde o celoživotní onemocnění. Jediným účinným řešením zdravotních problémů pacientů s celiakií je důsledné dodržování bezlepkové diety. Jako přirozeně bezlepkové je možno označit potraviny a potravinářské suroviny s množstvím do 2 mg gliadinů.100<sup>-1</sup>g vzorku; jako potraviny a suroviny se sníženým obsahem gliadinů, povolené pro bezlepkovou dietu max. do 10 mg gliadinů.100<sup>-1</sup>g vzorku (Codex alimentarius, WHO/FAO 2000).

### Materiál a metody

V rámci grantového projektu GAČR, jehož cílem bylo prověřit možnosti rozšíření spektra rostlinných produktů pro dietu při celiakii, jsme sledovali více než 40 druhů a genotypů cereálií a pseudocereálií. Polní maloparcelkové pokusy s těmito druhy a odrůdami byly vedeny na pokusné stanici Katedry rostlinné výroby FAPPZ ČZU v Praze – Uhřetěvesi. Pokusná stanice Uhřetěves se nachází na okraji Prahy, v řepařské oblasti (nadmořská výška 295 m, průměrná roční teplota 8,4°C, průměrný roční úhrn srážek 575 mm). Pokusy byly

V úvahu pro bezlepkovou dietu přicházejí na základě dosavadních zkušeností především obilniny II. skupiny – kukuřice, proso, rýže a pseudocereálie – pohanka, amarantus; z ostatních plodin např. brambory či sója. Podle informací lékařů zabývajících se celiakií má řada pacientů, zejména dospívajících, problémy s dodržováním bezlepkové diety. Je proto zapotřebí hledat nové zdroje a nové rostlinné suroviny, které by mohly skladbu potravin pro bezlepkovou dietu obohatit, zvýšit její pestrost a usnadnit tak její dodržování.

Pěstování alternativních plodin, využitelných pro bezlepkovou dietu, ekologickým způsobem je velmi vhodné. Podle Petra *et al.* (1998) ovlivňuje vyšší dusíkaté hnojení průmyslovými hnojivy zastoupení bílkovinných frakcí zrna cereálií ve prospěch frakce prolaminů, která je z pohledu bezlepkové diety nežádoucí.

vedeny ekologickým způsobem, bez průmyslových hnojiv a pesticidů. Vlastní testování vypěstovaných rostlinných surovin z hlediska možnosti jejich využití v bezlepkové dietě spočívalo především v hodnocení skladby bílkovinného komplexu (elektroforéza zásobních bílkovin SDS-PAGE a kvantitativní vyhodnocení elektroforeogramů prostřednictvím speciálního software) a v imunologickém hodnocení rostlinných surovin. K testování byly použity konvenční ELISA soupravy pro detekci lepku v potravinách, kromě

toho byla používána i séra pacientů s aktivní celiakií. Výsledky byly vyhodnoceny analýzou variance vícenásobného třídění (ANOVA); průkaznost rozdílů

v zastoupení jednotlivých bílkovinných podjednotek a v imunologickém hodnocení mezi sledovanými genotypy a ročníky byla ověřena LSD testem ( $\alpha=0,05$ ).

## Výsledky

Z hodnoceného souboru druhů a genotypů cereálií a pseudocereálií dosáhly výborných výsledků čiroky. Čiroky patří k teplomilným druhům obilnin, spolu s kukuřicí patří k nejméně produktivním obilninám s typem C4 fotosyntézy. Jejich výnosy rostou díky pokroku ve šlechtění odrůd hybridů. Je také zřejmý posun jejich pěstování do severnějších oblastí, díky vyšší chladuvzdornosti a ranosti nových odrůd. To nabízí i větší možnosti využití čiroku v Evropě, včetně teplých oblastí ČR, k potravinářským i krmným účelům (Petr *et al.*, 2003; Petr *et al.*, 2004).

Osivo čiroku pro naše pokusy pocházelo z VÚ obilnářského v Szegedu (čirok zrnový - genotypy

Bianca, GK Zsófia, GK Zsófia F1 hybrid), z genobanky VÚRV Praha-Ruzyně (čirok zrnový – BAZ Ruzyně) a ze Seva Flory Valtice (čirok cukrový – nízký černý klasnatý a čirok cukrový – vysoký červený). Z hodnocení skladby bílkovinného komplexu zrna čiroků je patrné, že albuminy a globuliny byly převažujícími frakcemi bílkovin, zaznamenáno však bylo i poměrně významné zastoupení LMW glutelinů a prolaminů, které jsou z hlediska celiakie nejrizikovější (tab. 1). Rozhodující je však přítomnost specifických fragmentů bílkovin, které jsou pro pacienty toxické. Imunologické hodnocení prokázalo hluboce podlimitní obsah škodlivých epitopů glutenu (tab. 2).

**Tabulka 1: Kvantitativní vyhodnocení SDS-PAGE elektroforézy zásobních bílkovin čiroku (LSD,  $\alpha=0,05$ )**  
*Quantitative evaluation of SDS-PAGE electrophoresis of sorghum storage proteins (LSD,  $\alpha=0,05$ )*

Vzorek (Sample) Ročník (Year)	HMW gluteliny (HMW glutelins)			LMW gluteliny + prolamininy (LMW glutelins + prolamins)			Zbytkové albuminy + globuliny (Residual albumins + globulins)		
	$\bar{x}$	LSD	průkaznost significance	$\bar{x}$	LSD	průkaznost significance	$\bar{x}$	LSD	průkaznost significance
Bianca	4,05		a	36,76		b	59,19		b
BAZ Ruzyně	4,04		a	37,87		bc	58,09		b
GK Zsófia	4,59	0,50	bc	32,75	2,88	a	62,65	2,75	c
GK Zsófia F1	4,88		c	32,25		a	62,87		c
S.F. - nízký	4,14		ab	41,37		d	54,52		a
S.F.- vysoký	4,68		c	40,19		cd	55,10		a
2002	3,81		a	35,17		a	61,05		b
2003	4,83	0,36	b	37,80	2,03	b	57,37	1,95	a
2004	4,56		b	37,63		b	57,79		a

$\bar{x}$  = průměrné hodnoty procentického zastoupení jednotlivých bílkovinných podjednotek (%) u hodnocených odrůd a ročníků; LSD = minimální průkazná diference

**Tabulka 2: Imunologické hodnocení (ELISA) množství prolaminů v zrna čiroku (LSD,  $\alpha=0,05$ )**  
*Immunological evaluation (ELISA) of prolamins quantity in sorghum grain (LSD,  $\alpha=0,05$ )*

Vzorek (Sample) Ročník (Year)	Množství prolaminů (Quantity of prolamins)		
	$\bar{x}$	LSD	průkaznost (significance)
Bianca	2,13		a
BAZ Ruzyně	2,18		a
GK Zsófia	1,97		a
GK Zsófia F1	2,03	0,40	a
Seva Flora - nízký	3,47		b
Seva Flora - vysoký	3,30		b
2002	2,19		a
2003	2,56	0,29	b
2004	2,70		b

$\bar{x}$  = průměrné hodnoty množství prolaminů ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  vzorku) u hodnocených odrůd a ročníků; LSD = minimální průkazná diference

Čirok byl proto zařazen i do klinického testování na pacientech s celiakií, ve spolupráci s klinikou dětského a dorostového lékařství I.LF UK v Praze. I to bylo úspěšné – u žádného pacienta nedošlo po zavedení

čiroku do bezlepkové diety (souboru 20 pacientů s celiakií bylo podáváno 100 g čirokového pečiva denně po dobu tří měsíců) ke zvýšení hladiny antigliadinových protilátek, u prováděných enterobiopsií nedošlo

u žádného pacienta ke zhoršení stavu sliznice tenkého střeva. Využití široku v bezlepkové dietě lze považovat za zcela bezpečné. Z dalších zkoušených cereálií a pseudocereálií se ukázaly jako vyhovující pro bezlepkovou dietu amarantus, quinoa a bér vlašský; z historicky využívaných druhů též ježatka obilní a rosička krvavá (tab. 3).

Velké naděje jsme vkládali do ovsu. Oves je obilnina s nutričně příznivou skladbou bílkovin s vysokým zastoupením esenciálních aminokyselin. Současně se vyznačuje vysokým obsahem vlákniny, tuků vitamínů, minerálních látek a antioxidantů. O možnostech využití ovsu v bezlepkové dietě se vedou ve světě diskuze již více než 40 let, závěry však dosud

nejsou jednoznačné (Thompson, 1997; Kaukinen a Collin, 2001). Na základě našich výsledků se využití ovsu pro dietu při celiakii jeví jako problematické – ze 16 hodnocených genotypů byly některé pod limitem pro bezlepkovou dietu (10 mg prolaminů na 100 g vzorku) a mohly by tedy být využitelné, jiné genotypy však tento limit vysoce překročily a jejich využití by proto nepřicházelo v úvahu.

Na základě našich výsledků nelze pro bezlepkovou dietu doporučit ani staré druhy pšenic – špaldu, jednozrnku, dvouzrnku a kamut, přestože někteří autoři, zejména z německy hovořících zemí, považují tyto druhy pro dietu při celiakii za využitelné.

**Tabulka 3: Imunologické hodnocení (ELISA) množství prolaminů v zrně vybraných cereálií a pseudocereálií**  
*Immunological evaluation (ELISA) of prolamins quantity in grain of selected cereals*

Druh ( <i>Species</i> )	Množství prolaminů ( $\text{mg} \cdot 100^{-1}$ vzorku) ( <i>Quantity of prolamins</i> )
oves (rozmezí 16 genotypů) ( <i>oats</i> )	3,2 – 81,5
amarantus (rozmezí 5 genotypů) ( <i>amaranth</i> )	2,4 – 9,2
bér vlašský ( <i>foxtail millet</i> )	4,3
rosička krvavá ( <i>broadroot</i> )	1,2
ježatka obilní ( <i>Echinochloa frumentacea</i> L.)	2,8
quinoa	1,8
pšenice špalda (rozmezí 6 genotypů) ( <i>spelt</i> )	45,6 – 78,2
pšenice jednozrnka ( <i>einkorn</i> )	38,2
pšenice dvouzrnka ( <i>emmer</i> )	66,4
kamut	39,2

## Závěr

Závěrem lze konstatovat, že naším zatím nejvýznamnějším výsledkem bylo prokázání vhodnosti a využitelnosti široku v bezlepkové dietě a současně výběr velmi raných a chladuvzdorných genotypů, zejména široku zrnového GK Zsófia a GK Zsófia F1 maďarské provenience, které lze pěstovat i v podmínkách ČR, v oblastech, kde se pěstuje kukuřice na zrno. Pěstování i zpracování zrna na mouku je nenáročný a umožňuje připravit široký sortiment pečiva.

Využití ovsu v bezlepkové dietě jsme na základě dosavadních výsledků vyhodnotili jako rizikové. Avšak vzhledem k tomu, že zařazení ovsu do bezlepkové diety by mělo skutečně značný význam, chceme se mu v tomto směru dále věnovat a soustředit se na výběr genotypů, které by stabilně, v průběhu většího počtu ročníků a na různých lokalitách vykazovaly příznivé hodnoty. Pak by bylo možné přistoupit i ke klinickému testování.

## Poděkování

Výzkum byl podpořen projektem GAČR 330/01/138, poslední etapa též projektem NAZV QG 50034.

## Použitá literatura

- Kaukinen, K., Collin, P. (2001): Oats and wheat starch based gluten-free products: two contentious diets in the treatment of coeliac disease. Proc. of 10th Int. Symp. Coeliac Disease, p. 30
- Petr, J. et al. (1998): Quality of wheat from different growing systems. Scientia Agriculturae Bohemica, vol. 29, p. 161 - 182
- Petr, J. et al. (2003): The utilisation of grain sorghum and sweet sorghum for gluten-free diet in coeliac disease. Scientia Agriculturae Bohemica, vol. 34, p. 8 - 15
- Petr, J. et al. (2004): Extention of the spectra of plant products for the diet in coeliac disease. Czech J. of Food Sci., vol. 21, p. 59–70
- Thompson, T. (1997): Do oats belong in a gluten-free diet? J. Am. Dietetic Assoc., vol. 97, p. 1415-1416
- Tlaskalová, H. et al. (1999): Imunopatogenetické mechanismy celiakie. In: Pozler, O., Galén, J. (eds.) Trendy soudobé pediatrie, vol. 1, s. 181 - 197

## Adresa autora

Doc. Ivana Capouchová, CSc.	
Katedra rostlinné výroby	Tel.: +420 22438 2549
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů	Fax: +420 22438 2535
Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6 – Suchbátka	e-mail: capouchova@af.czu.cz