



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VÝVOJ CEREÁLNÍCH VÝROBKŮ PRO ZVLÁŠTNÍ VÝŽIVU S PŘÍDAVKEM OVOCNÉ A ZELENINOVÉ SLOŽKY

DEVELOPMENT OF CEREAL PRODUCTS FOR SPECIFIC NUTRITION WITH ADDITION OF FRUITS AND VEGETABLES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Magdalena Růžičková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Agáta Bendová

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1969/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Magdalena Růžičková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Agáta Bendová**

Název bakalářské práce:

Vývoj cereálních výrobků pro zvláštní výživu s přidavkem ovocné a zeleninové složky

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

1. Literární rešerše – přehled bezpečných cereálií, možnosti obohacení cereálních výrobků
2. Výběr cereálií, ovoce a zeleniny pro přípravu obohacených cereálních produktů
3. Optimalizace metod stanovení základních nutričních složek cereálií a speciálních složek ovoce a zeleniny (fenolické látky, antioxidanty, vitaminy)
4. Příprava směsných cereálních produktů a jejich charakterizace

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Magdalena Růžičková
studentka

Ing. Agáta Bendová
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá vývojem bezpečkových cereálních výrobků pro zvláštní výživu. Hlavní zaměření je na zvýšení obsahu polyfenolických látek a antioxidantů v cereáliích přidavkem ovocné a zeleninové složky.

Teoretická část byla zaměřena na poznatky z odborné literatury o cereáliích, bezpečkových cereáliích a jejich chemickém složení. Do práce byla zařazena i kapitola o celiakii a bezpečkové dietě. Dále byla teoretická část zaměřena na možnosti obohacování a vybrané ovoce a zeleninu používané v experimentální části

V experimentální části bylo analyzováno pět vzorků bezpečkových cereálií, konkrétně černá, červená, hnědá a bílá rýže a kukuřice. U cereálních vzorků byla stanovena koncentrace flavonoidů, polyfenolů, antioxidantů, sacharidů, proteinů, β -karotenů, antokyanů, lepku, β -glukanů, mastných kyselin a lipofilních vitamínů. U vybraných vzorků byla otestována i antimikrobiální aktivita. Nejlepší výsledky ve většině měření vykazoval vzorek černé rýže.

Dále byly analyzovány vybrané vzorky osmi druhů ovoce (brusinka, malina, jahoda, borůvka, černý rybíz, mango, banán, kiwi) a čtyř druhů zeleniny (brokolice, mrkev, zelený hrášek, červená řepa). U těchto vzorků byl stanoven obsah flavonoidů, polyfenolů, antioxidantů, β -karotenů, antokyanů, kyseliny askorbové a lipofilních vitamínů. U vybraných vzorků ovoce a zeleniny byly provedeny antimikrobiální testy. Z ovocných vzorků byly nejlepší výsledky naměřeny u vzorků borůvka a černý rybíz. Ze zeleninových vzorků byly ve většině měření nejlepší výsledky u vzorku červené řepy.

Z nejlepšího cereálního základu a nejlepších ovocných a zeleninových přísadků byly vytvořeny kaše jako finální produkt a byla u nich stanovena koncentrace polyfenolů a antioxidantů. Nejvyšší koncentrace jak polyfenolů, tak antioxidantů byly u směsi obsahující základ z černé rýže a přísadku borůvky.

KLÍČOVÁ SLOVA

cereálie, celiakie, lepek, obohacování potravin, rýže, kukuřice, ovoce, zelenina, fenolické látky, antioxidanty

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on developing gluten-free cereal products for special nutrition. The main focus is on increasing the concentration of phenolic compounds and antioxidants in cereals by adding fruit and vegetable components.

The theoretical part includes findings from professional literature on cereals, gluten-free cereals and their chemical composition. A chapter devoted to celiac disease and gluten-free diet was also included. Furthermore, the theoretical part focuses on possible methods of enrichment and also on selected fruits and vegetables used in the experimental part.

In the experimental part, five samples of gluten-free cereals were analysed, namely black, red, brown and white rice and corn. The concentration of flavonoids, polyphenols, antioxidants, carbohydrates, proteins, β -carotenes, anthocyanins, gluten, β -glucans, fatty acids and lipophilic vitamins was determined in the cereal samples. Selected samples were also tested for antimicrobial activity. The black rice sample showed the best results in the majority of the measurements.

Selected samples of eight types of fruit (cranberry, raspberry, strawberry, blueberry, blackcurrant, mango, banana, kiwi) and four types of vegetables (broccoli, carrot, green pea, beetroot) were also analysed. The concentration of flavonoids, polyphenols, antioxidants, β -carotenes, anthocyanins, ascorbic acid and lipophilic vitamins was determined in these samples. Antimicrobial tests were performed on selected fruit and vegetable samples. Among the fruit samples, the best results in the majority of measurements were in blueberry and blackcurrant samples. Among the vegetable samples, the best results were obtained from the beetroot sample.

From the best cereal, fruit and vegetable samples were created porridges as a final product. In these samples, the concentration of polyphenols and antioxidants was determined. The highest concentration of both compounds was found in the porridge with black rice and blueberry.

KEYWORDS

cereals, celiac disease, gluten, food fortification, rice, corn, fruit, vegetable, phenolic compounds, antioxidants

RŮŽIČKOVÁ, Magdalena. *Vývoj cereálních výrobků pro zvláštní výživu s přidavkem ovocné a zeleninové složky* [online]. Brno, 2024 [cit. 2023-12-10]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156958>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Agáta Bendová

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce Ing. Agátě Bendové za odborné vedení práce, rady, ochotu a čas, který mi věnovala při vypracování experimentální části. Dále bych chtěla poděkovat prof. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za rady a pomoc v průběhu vypracování experimentální části.

OBSAH

1	Úvod	9
2	Teoretická část	10
2.1	Cereálie.....	10
2.2	Obilné zrno	10
2.3	Chemické složení cereálií.....	11
2.3.1	Sacharidy.....	11
2.3.2	Bílkoviny.....	13
2.3.3	Lipidy	13
2.3.4	Vitamíny	13
2.3.5	Minerální látky	14
2.3.6	Antioxidanty.....	14
2.4	Vybrané cereálie	15
2.4.1	Rýže	15
2.4.2	Kukuřice.....	16
2.5	Celiakie.....	17
2.5.1	Citlivost na lepek.....	17
2.5.2	Bezlepková dieta	17
2.6	Možnost obohacování	18
2.6.1	Lyofilizace	18
2.6.2	Vybrané ovocné vzorky	18
2.6.3	Vybrané zeleninové vzorky.....	19
2.6.4	Aplikace obohacených cereálií.....	20
3	Experimentální část	21
3.1	Seznam použitých chemikálií.....	21
3.2	Seznam použitých pomůcek a přístrojů	21
3.3	Seznam použitých vzorků.....	22
3.4	Příprava vzorků pro analýzu.....	23
3.5	Přípravy extraktů.....	23
3.5.1	Vodné extrakty	23
3.5.2	Kyselá hydrolyza na stanovení dle Duboise	23
3.5.3	Extrakty na stanovení β -karotenu.....	23
3.5.4	Extrakty na stanovení vitamínu C	24

3.6	Stanovení flavonoidů	24
3.7	Stanovení polyfenolů	24
3.8	Stanovení antioxidační aktivity	24
3.9	Stanovení proteinů dle Hartree-Lowryho.....	25
3.10	Stanovení sacharidů dle Duboise	25
3.11	Stanovení mastných kyselin v cereáliích na GC.....	26
3.12	Stanovení antokyanů	26
3.13	Stanovení β -karotenů	26
3.14	Stanovení lipofilních vitamínů metodou HPLC	27
3.15	Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC	27
3.16	Stanovení lepku.....	28
3.17	Stanovení β -glukanů	29
3.18	Antimikrobiální testy	29
	3.18.1 Příprava médií	29
	3.18.2 Kultivace mikroorganismů.....	29
	3.18.3 Bujónová diluční metoda	29
3.19	Vytvoření směsí	30
4	Výsledky a diskuze.....	31
4.1	Stanovení flavonoidů	31
4.2	Stanovení polyfenolů	32
4.3	Stanovení antioxidační aktivity	34
4.4	Stanovení proteinů dle Hartree-Lowryho.....	35
4.5	Stanovení celkových sacharidů dle Duboise	36
4.6	Stanovení mastných kyselin v cereáliích na GC.....	36
4.7	Stanovení antokyanů	37
4.8	Stanovení β -karotenů	38
4.9	Stanovení lipofilních vitamínů metodou HPLC	40
4.10	Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC	42
	4.10.1 Výsledky optimalizace extrakce.....	42
	4.10.2 Stanovení kyseliny askorbové v ovocných a zeleninových vzorcích.....	42
4.11	Stanovení lepku.....	43
4.12	Stanovení β -glukanů	43
4.13	Antimikrobiální testy	44

4.13.1	Kmen <i>Micrococcus luteus</i>	44
4.13.2	Kmen <i>Serratia marcescens</i>	46
4.14	Analýza směsí.....	47
4.14.1	Stanovení celkových polyfenolů u směsí.....	49
4.14.2	Stanovení antioxidační aktivity u směsí	50
5	Závěr.....	51
6	Seznam literatury.....	53

1 ÚVOD

Cereálie jsou součástí každodenní lidské stravy a slouží nám jako hlavní zdroj energie. Doplňujeme jimi zásoby sacharidů, proteinů, lipidů, vitamínů a minerálů. Jsou jedněmi z nejrozšířenějších plodin na Zemi díky schopnosti adaptovat se na podmínky prostředí.

V běžných cereáliích, jako je například pšenice, ječmen, žito a jiné, se nachází kombinace proteinů tvořící pevný gel lepek. Lepek je praktický k využití v potravinářském průmyslu jako emulgátor a pojivo díky svým tažným vlastnostem. Na druhou stranu způsobuje zdravotní problémy lidem trpícím na intoleranci lepku, jejíž nejzávažnější forma je nemoc zvaná celiakie. Jedná se o chronické autoimunní onemocnění tenkého střeva a vyskytuje se přibližně u 1% světové populace. V současnosti neexistuje žádná léčba, pouze jen doporučená bezlepková dieta, která slouží k zmírnění příznaků.

Bezlepková dieta zahrnuje potraviny z bezlepkových cereálií nebo pseudocereálií, které obsahují minimum nebo žádný lepek. Kromě sníženého obsahu lepku, tyto produkty bohužel obsahují i méně jiných látek oproti obyčejným cereálním produktům. Nedostatky se projevují zejména v obsahu vitamínů, minerálů a antioxidantů. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli v této práci přidávat k vybraným bezlepkovým cereáliím ovoce a zeleninu, které jsou přírodním zdrojem právě vitamínů, antioxidantů a některých minerálů.

Cílem této práce je vytvořit bezlepkový cereální produkt obohacený o složku navyšující hodnoty polyfenolických látek a antioxidantů.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Cereálie

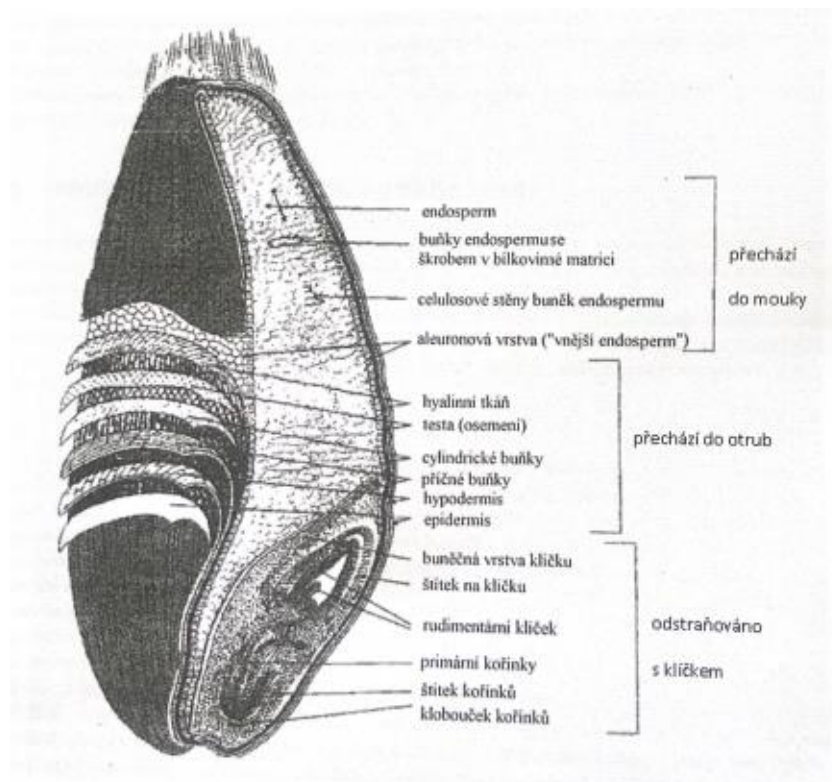
Cereálie, známé také pod názvem obiloviny, se botanicky řadí mezi traviny (latinsky *Graminae*) a velká část patří do čeledi lipnicovité (latinsky *Poaceae*). Botanický původ obilovin čeledi lipnicovité určuje jejich vzájemná podobnost ve struktuře, tvorbě zrna a také v jeho chemickém složení. Současné druhy a odrůdy stejných druhů se od sebe liší vlivem podmínek prostředí a šlechtěním [1]. Obiloviny jsou hlavním zdrojem energie zejména ve formě sacharidů a proteinů a v mnoha zemích slouží jako lidská potrava nebo jako krmivo pro chovnou zvěř [2]. Mezi cereáliemi běžně pěstované pro potravinářské využití se řadí pšenice, žito, oves, ječmen, rýže, kukuřice, proso, čirok a další [1].

V rámci cereálií existuje skupina druhů zvaná bezlepkové cereálie. Jedná se o obiloviny bez obsahu lepku anebo s obsahem lepku nižším než 20 mg lepku v jednom kg cereálií. Nejznámějšími zástupci bezlepkových cereálií jsou rýže, kukuřice, čirok, proso a milička habešská [3].

Další vhodnou variantou pro bezlepkové stravování jsou pseudocereálie. Jedná se o rostliny, které produkují plody vhodné pro lidskou stravu, k výrobě mouky a nezahrnují rostliny, které jsou charakterizovány jako obilniny, luštěniny, ořechy nebo olejnatá semena. Tři nejznámější pseudocereálie jsou amarant, quinoa a pohanka. Dále sem patří mnoho dalších druhů, zejména ze třídy dvouděložných rostlin [4].

2.2 Obilné zrno

Zrna všech obilovin jsou morfologicky velmi podobná. Liší se především velikostí, podílem jednotlivých vrstev a tvarem, který může být od tenkých protáhlých až po kulatá zrna. Velikost a rozměry zrna se odlišují v závislosti na konkrétním druhu obiloviny a v závislosti na klimatických podmínkách a ročním období. Pořadí vrstev je u všech obilovin shodné a je zobrazené na Obrázek 1. Na povrchu zrna jsou obalové vrstvy bohaté na vlákninu a zajišťují ochranu před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Tyto vrstvy formují pevnou houževnatou vrstvu, která při mletí zrna přichází do otrub. Pod obaly se nachází endosperm, jehož součástí je i jedna vrstva aleuronových buněk s vysokým obsahem bílkovin a minerálních látek. Endosperm je zdrojem škrobu a dalších zásobních proteinů. Nejmenší a střední část zrna je klíček neboli zárodek. Část s klíčkem je významným zdrojem bílkovin, lipidů a enzymů, ale zároveň rychle podléhá oxidačním a enzymovým změnám a z toho důvodu zhoršuje kvalitu produktů, a proto je také odstraňován, jako obalové vrstvy, při zpracování zrna [1].



Obrázek 1: Morfologická stavba zrna, převzato ze zdroje [14]

2.3 Chemické složení cereálií

Cereálie jsou hlavním zdrojem energie pro lidskou populaci. Ta je obsažena ve škrobu, vláknině, proteinech a sacharidech. [5]. Kromě toho jsou také zdrojem vitamínů, minerálů a fenolických látek, které se dělí zejména na fenolové kyseliny, flavonoidy, antokyany, fytosteroly. [6].

2.3.1 Sacharidy

V cereáliích lze najít řadu sacharidů od jednoduchých monosacharidů až po vysokomolekulární polysacharidy. V porovnání s ostatními složkami jsou obsaženy v největším objemu a tvoří asi 65-70 % pšeničného zrna. Jejich obsah v obilném zrně se značně liší. V některých je jen malé množství, zatímco jiné mohou představovat desítky procent z celkového obsahu složek v zrně. Hlavními skupinami sacharidů v obilovinách jsou volné cukry, škrob, celulóza, pentozany a β -glukany [1]. Procentuální zastoupení jednotlivých sacharidů není přesně dáno, ale udává se přibližně do 1 % monosacharidů a disacharidů, 1 % oligosacharidů, 65–70 % škrobu a asi 10 % polysacharidů v buněčných stěnách [7].

2.3.1.1 Monosacharidy a oligosacharidy

Monosacharidy jsou základními stavebními jednotkami oligosacharidů a polysacharidů a také nukleových kyselin, glykoproteinů a glykolipidů. Volné se vyskytují v malém množství v klíčku zrna [1]. Glukóza a fruktóza jsou jediné dva monosacharidy vyskytující se v cereáliích ve značném množství [8].

Oligosacharidy jsou tvořeny molekulami monosacharidů spojené glykosidickou vazbou. Významnými oligosacharidy jsou maltóza, isomaltóza a sacharóza. Tyto disacharidy jsou

obsaženy v neporušeném zrně ve větším množství než ostatní, i tak se jedná o malý objem z celého obsahu látek [1], [9].

2.3.1.2 Polysacharidy

Z technologického hlediska jsou polysacharidy zároveň s bílkovinami nejvýznamnější skupinou biopolymerů v cereáliích [1]. Jsou strukturně složeny ze stovek až tisíců monosacharidů spojených glykosidickými vazbami a často jsou tvořeny jen jedním typem monosacharidu. Z toho vyplývá, že i jejich struktura je méně složitá než u proteinů. Jejich hlavní rolí je být zdrojem energie. Velké množství energie vzniká štěpením. Energie je využita zejména v období růstu rostliny. Některé polysacharidy, jako celulóza, hemicelulóza nebo lignin, mají stavební funkci a tvoří základ buněčných stěn rostlin. Obecně polysacharidy dělíme na škrob a neškrobové polysacharidy [1], [9].

2.3.1.3 Škrob

Je to rostlinný vysokomolekulární zásobní polymer D-glukózy. Je tvořen dvěma glukózovými polymery – amylosem a amylopektinem. V amylose jsou monomerní jednotky spojeny α -1,4 glykosidickými vazbami za vzniku lineárního řetězce. Monomery v amylopektinu spojují α -1,4 glykosidické vazby a zároveň i α -1,6 glykosidické vazby, což zajišťuje větvenou strukturu. Obě frakce se liší chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Amylose je rozpustná ve vodě za studena, zatímco amylopektin pouze bobtná a není schopen vytvářet roztok [10].

Škrob se vyskytuje v obilném zrně v endospermu v průměrném rozsahu 60–75 %. V mouce se vyskytuje ve formě škrobových zrn, jejichž tvary i velikosti bývají různé. Škrobová zrna se tvoří při zrání obilky, při kterém se zvětšují biopolymery amylose a amylopektin a tvoří se tak struktura. Ta je známá pouze u amylopektinu a je krystalická [1].

2.3.1.4 Neškrobové polysacharidy

Jako neškrobové polysacharidy obilovin vnímáme skupinu stavebních polysacharidů, které jsou důležitou složkou buněčné stěny endospermu obilovin. Hlavní neškrobové polysacharidy jsou celulóza, hemicelulóza, pentany a β -glukany. Jejich typickým znakem je nerozpustnost ve vodě, až na výjimku některých pentozanů a β -glukanů, které se mohou ve vodě rozpouštět nebo bobtnat. Společně s dalšími rostlinnými složkami tvoří vlákninu [10] [11]. Cereální vláknina má pozitivní vliv na organismus a v několika studiích bylo prokázáno, že konzumace cereálií snižuje riziko úmrtnosti při kardiovaskulárním onemocnění, rakovině, cukrovce a respiračních onemocněních [12].

Celulóza je polysacharid skládající se z D-glukózových jednotek spojené β -1,4 glykosidickou vazbou. Celulóza je nejrozšířenější organickou sloučeninou na Zemi a s dalšími neškrobovými polysacharidy se podílí na tvorbě buněčné stěny. Je zcela nerozpustná ve vodě a také je nestavitelná pro většinu obratlovců [10].

U pentozanů už z názvu vyplývá, že se v polymeru nachází molekuly pentóz. Existují rozpustné i nerozpustné pentozany. Za nerozpustné považujeme hemicelulózy, které doprovází celulózu v buněčných stěnách. S celulózou tvoří hodnotný zdroj obilné vlákniny. Rozpustné pentozany neboli slizy mají schopnost vázat vodu a bobtnají. Do skupiny rozpustných pentozanů řadíme arabinózy a xylózy, které se nacházejí v žitu [13][14].

β -glukany jsou rozpustné polysacharidy a jsou významnou součástí obilné vlákniny [13]. Jsou složené z β -D-glukózových jednotek spojených β -1,3 a β -1,4 glykosidickou vazbou. β -glukany brání zpětnému vychytávání cholesterolu a žlučových kyselin v tenkém střevě, tím snižují hladinu cholesterolu. β -glukany pozitivně působí na zdraví člověka a snižuje postprandialní reakce glukózy a dále snižuje hladinu cholesterolu v krvi [15]. Obsah β -glukanů v obilných zrnech je poměrně velký u ječmenu a ovsa (3–10 %); pšenice jich naopak obsahuje pouze méně než 1 % [16].

2.3.2 Bílkoviny

Bílkoviny neboli proteiny jsou biopolymery složené z jednoho nebo více polypeptidových řetězců obsahujících sto až několik tisíc aminokyselinových zbytků. Aminokyseliny jsou spojeny peptidovou vazbou [10]. Zdrojem rostlinných proteinů jsou zejména semena rostlin, ale také plody, hlízy, aj. [17].

Cereálie obsahují jak esenciální (leucin, lysin, threonin, tryptofan), tak neesenciální (alanin, asparagová kyselina, glutamin, glutamová kyselina, prolin) aminokyseliny. Nejvíce zastoupené aminokyseliny v obilném zrně jsou kyselina glutamová a prolin. Oproti nim se v zrně nachází lysin, který je jejich limitující aminokyselinou a způsobuje sníženou biologickou hodnotu proteinu. Biologická hodnota obilovin se proto pohybuje v rozmezí 42–68 % [13]. Základní bílkoviny obsažené v obilovinách jsou albuminy, globuliny, prolaminy (gliadiny) a gluteliny. Kombinací prolaminů a glutelinů vzniká lepek [13][1].

2.3.2.1 Lepek

Je to pevný gel tvořený prolaminou a glutelinou, které v přítomnosti kyslíku bobtnají. Lepek je pak to, co způsobuje tažnost a pružnost těsta po hnětení. V potravinářském průmyslu se využívá jako pojivo a emulgátor. U běžných cereálií zastupuje lepek velkou část obsahu proteinů [1]. V posledních letech je lepek považován za jeden z nejčastějších potravinových alergenů a spojuje se s onemocněním celiakie. Jako alternativní zdroj existují bezlepkové („gluten-free“) cereálie. Za bezlepkové cereálie považujeme rýži, kukuřici, čirok, pohanku, jáhly, amarant a quinou [18].

2.3.3 Lipidy

Lipidy jsou skupina organických sloučenin, které jsou nerozpustné nebo omezeně rozpustné ve vodě. Ve výživě jsou významné hlavně triacylglyceroly. Obiloviny jsou nízkotučné, vděčí za to nízkému obsahu lipidů v obilném zrně, který je kolem 2 %. Výjimkou je oves, u kterého je obsah tuku 7,1 %. Vyšší výskyt tuku je v klíčcích zrna, kde se může dostat až k 64 %, ale také u pseudocereálií amarantu a quinoy [1]. Složení mastných kyselin se odvíjí od druhu. Obecně se vyskytují nejvíce mononenasyčené mastné kyseliny (29-53 %) a polynenasycené mastné kyseliny (25–51 %). Nasycených mastných kyselin je ve srovnání mnohem méně (15–25 %) [13]

2.3.4 Vitamíny

V obilovinách je jen malé množství vitamínů a nachází se zejména v obalových vrstvách a klíčku, velmi málo v endospermu. Vitamíny, které se vyskytují v cereáliích nejvíce, jsou vitamíny skupiny B. Především se zde nachází vitamín B₁ (thiamin), B₆ (pyridoxin), B₂ (riboflavin), niacin a kyselina listová. Celkový obsah vitamínů v obilné mouce se ale výrazně

sníží důsledkem vymletí. Ve světlých moukách zůstává jen 10–20 % původního obsahu vitamínů, ve tmavých moukách může být zachováno až 40 % [1]. Vitamín B₁ můžeme najít v ječmeni, pohance, hnědé a divoké rýži. Vitamín B₂ je v pohance a ve velkém množství v hnědé rýži. Ostatní skupiny vitamínu B jsou přítomny v pšenici, ječmeni, pohance a prosu. Dalším vitamínem, který lze nalézt v obilovinách, je vitamín E, který je antioxidant. Vyskytuje se v rýžových otrubách, kukuřičném zru a žitě [19].

2.3.5 Minerální látky

Tak jako u vitamínů, obsah minerálních látek je poměrně malý. V obilovinách je označujeme jako „popel“, což znamená anorganický zbytek po spálení rostlinného materiálu. Obsah popela je v celých zrnech v rozmezí 1,25–2,5 %. V cereáliích můžeme najít prvky vápník, fosfor, hořčík a ze stopových prvků železo, zinek, selen a mangan [1]. Ve většině bezlepkových cereálií je často nedostatek vápníku, hořčíku a železa [20].

2.3.6 Antioxidanty

Antioxidanty jsou sekundární metabolity v rostlinách, ovoci a mikroorganismech. Reagují s volnými radikály a tím zabraňují oxidačnímu poškození buněk. Antioxidanty mohou existovat v enzymové i v neenzymové formě [21]. Podle mechanismu účinku se dále dělí na primární a sekundární. Primární antioxidanty jsou velmi účinné a neutralizují oxidanty přenosem jednoho atomu vodíku nebo přenosem jednoho elektronu. Sekundární antioxidanty neutralizují oxidanty zhasením volných radikálů, tím ale dochází k jejich rychlému úbytku [22]. Podle původu se dělí na syntetické a přírodní. Syntetické antioxidanty jsou nestabilní a mohou způsobovat zdravotní problémy. Přírodní antioxidanty jsou netoxické, nekarcinogenní a biodegradabilní [23]. Patří mezi ně fenolické látky, karotenoidy a vitamíny [21][22].

2.3.6.1 Fenolické látky

Představují přírodní látky s dobrými nutričními vlastnostmi a příznivými účinky na lidský organismus. Ve své struktuře mají alespoň jeden aromatický kruh, který je substituovaný nejméně jednou hydroxylovou skupinou. Jelikož mají schopnost zachytávat volné radikály a zároveň poskytují vodíkový kation nebo volný elektron, jsou jednou z hlavních skupin přírodních antioxidantů. Nachází se v rostlinách, zelenině a ovoci, obilninách a luštěninách. V obilných zrnech bývají přítomny hlavně fenolové kyseliny a flavonoidy [24] [25].

Fenolové kyseliny se dělí do dvou skupin: kyselina hydroxybenzoové a kyseliny hydroxyskořicové. Patří sem například kyselina ferulová, vanilková, kávová a *p*-kumarová. Vyskytují se v ovoci, zelenině, cereáliích a kávových zrnech nejčastěji ve vázané formě, ale existují i ve volné formě [25].

Flavonoidy jsou největší skupinou fenolických sloučenin. V molekule se vyskytují alespoň dva aromatické kruhy spojené tří-uhlíkatým řetězcem. Schopnost zachytávat radikály úzce souvisí s počtem hydroxylových skupin a jejich polohou na struktuře aromatických kruhů. Dělí se na flavony, flavonoly, flavanonoly, flavanoly a antokyany. Antokyany jsou sloučeniny způsobující červené, modré a fialové pigmenty v ovoci, zelenině, okvětních lístcích ale také v cereáliích, například u černé rýže [26].

2.3.6.2 Karotenoidy

Karotenoidy jsou oranžové a žluté pigmenty, které se nachází v rostlinách, ovocích, zelenině, houbách, řasách a mikroorganismech [17]. Jejich molekula je složená ze 40 atomů uhlíku a dlouhých řetězců s 3-15 dvojnými vazbami vázané v konjugované formě. Díky konjugovanému systému vazeb jsou karotenoidy schopné pohlcovat UV záření. Dále jsou dobrými antioxidanty a slouží i jako prekurzor pro vitamín A. Nejlepším zdrojem karotenoidů je kukuřice [27].

2.4 Vybrané cereálie

2.4.1 Rýže

Rýže je jako obilovina nejvíce rozšířená v přímé konzumaci. K největší produkci dochází v Asii a Africe, velký vývoz je i z Ameriky [1]. Poprvé byla objevena v Thajsku, rozšířila se po Asii a poté do celého světa [28]. Prapůvodci současné rýže jsou tři odrůdy: Indická (*indica*), Indonéska (*javanica*) a Čínská (*japanica*) [1]. Rýže je konzumovaná polovinou světové populace, část produkce je využívána i pro další účely jako výroba rýžové mouky, škrobu, škrobových hydrolyzátů a alkoholu. Rýžová mouka postrádá proteiny tvořící lepek, proto není možné z ní vytvořit klasické kynuté pekařské produkty, na druhou stranu perfektně slouží jako náhrada pšeničné lepkové mouky pro celiaky [3].

Podle opracování se rýže dělí na rýži neloupanou, která má zachovanou svrchní vrstvu, rýži pololoupanou, která je zbavena svrchní vrstvy a rýži loupanou, u které už není žádná část oplodí a otrub ani klíčku. Podle tvaru zrna se dělí na dlouhozrnnou (6 mm), střednězrnnou (5,2–6 mm) a kulatozrnnou (méně než 5 mm) [1].

2.4.1.1 Bílá (mletá) rýže

Je to rýže, kterou nejčastěji vidíme v obchodech. Získává se opracováním hnědé rýže, kdy dochází k odstranění otrubových vrstev a obalů. To bohužel má negativní vliv na nutriční příspěvek, který bílá rýže může dodat. V otrubách se totiž nachází většina nutričních složek, jako proteiny, tuky, vitamíny a minerály [29]. Výhodou bílé rýže je rychlé tepelné zpracování, uvaření rýže je mnohem rychlejší, jelikož vodě nebrání v prostupu otruby rýžového zrna. [30]

2.4.1.2 Hnědá rýže

Je označení pro běžnou rýži, která neprošla procesem, který ji přemění na bílou (mletou) rýži. Kromě hnědého zbarvení je odstraněna jen její svrchní slupka, další vrstvy a obaly jsou na zrně zachovány. Hlavní chemickou složkou v zrně je škrob, a i ostatní neškrobové složky jsou hojně zastoupeny. Vlastnosti rýžového zrna mezi druhy výrazně ovlivňuje poměr amylozy a amylopektinu. Pro srovnání, bílá rýže, která je zpracovanou hnědou rýží, obsahuje značně menší množství všech nutričních látek [31]. V procesu vymletí obalů hnědé rýže na bílou přijde zrno o 28,6 % proteinů a 84,7 % minerálů [32]. Rýžové otruby jsou dobrým zdrojem vitamínů, zejména vitamínu B₁, B₂, B₃ a B₆ [31]. Z rýžových otrub vyrábí rýžový olej, který obsahuje nenasycené mastné kyseliny zlepšující hladiny cholesterolu [33]. Obsah vitamínů v zrně se liší u každého druhu rýže. Hnědá rýže obsahuje značné množství mědi, draslíku, hořčíku, manganu, sodíku, fosforu a zinku, tudíž je velmi vhodná pro bezlepkovou dietu a k doplnění potřebných minerálů [31].

Stravování se hnědou rýží potvrdilo snížení náchylnosti k chronickým nemocem, za což mohou antioxidanty obsažené v rýžovém zrně. V hnědé rýži můžeme najít velké množství fenolických

látek, flavonoidů, antokyanů a dalších antioxidantů. Tak jako všechny ostatní předchozí složky, i antioxidanty se vyskytují zejména v otrubových vrstvách rýže [31].

Bohužel i hnědá rýže má některé nevýhody, a to je obsah živin, které mohou způsobovat zažívací problémy nebo zhoršit absorpci některých minerálů. Mezi tyto látky patří fytáty, inhibitory trypsinu, cystatin a další inhibitory. Většina inhibičních látek je eliminována při tepelné úpravě rýže. Z tohoto důvodu se hnědá rýže nedoporučuje ke stravování, pokud vaše tělo reaguje negativně po její konzumaci [31].

2.4.1.3 Barevné rýže

Dalším speciálním druhem jsou barevné rýže. Barevná škála je od černé až po fialovou a červenou barvu a je způsobena obsahem pigmentu antokyanu, který napomáhá i svými antioxidačními vlastnostmi. Barevné rýže mají oproti hnědé schopnost odolnosti vůči hmyzu a škůdcům. [34].

Černá rýže se při mletí, oproti hnědé rýži, nezbaví všech svých obalů, čímž si zachovává své vysoké výživové hodnoty. Je bohatá na škrob a další sacharidy, vlákninu, esenciální aminokyseliny, vitamíny, zvláště vitamín B, vitamín A a vitamín E, také minerály draslík, železo, měď, hořčík, mangan a fosfor a fenolické látky. Požívání černé rýže je vhodné pro růst svalů, díky železu, draslíku a vitamínu B; železo má také vliv na produkci červených krvinek, což pozitivně působí na energetický výdej a trávení [35].

Červená rýže obsahuje velké množství železa a zinku, což způsobuje její vysokou odolnost vůči nepříznivým podmínkám. Dále je dobrým zdrojem vlákniny, manganu, selenu, hořčíku a dalších živin. Požíváním červené rýže se do těla dostávají proantokyanidiny, které poskytují ochranu před diabetem typu 2 a zároveň díky vyšší hladině hořčíku snižují riziko infarktů a dalších kardiovaskulárních onemocnění. Červená rýže je také známá pro své využití při léčení neduhů jako průjem, zvracení, horečka, řezné rány a popáleniny [34].

2.4.2 Kukuřice

Kukuřice patří do botanického druhu *Zea mays*, po celém světě existuje velké množství jejích odrůd. Ty se liší tvarem zrna, obsahem škrobu, podílem amylózy a amylopektinu, obsahem bílkovin aj. Tato rostlina pochází z Mexika, ale rozšířila se po celém světě a dnes je nejvíce pěstovanou obilninou na světě [1]. Největší produkce je ve Spojených státech amerických, Číně a Brazílii [36].

Kukuřičné zrno je ze 72 % tvořeno sacharidy, především škrobem. Zrno také obsahuje asi 8,8 % proteinů, které jsou tvořeny hlavně zeiny (tvoří více než 60 % všech proteinů v celém zrně). Další části zrna tvoří přibližně 4,6 % tuků, 2,15 % vlákniny a 2,33 % minerálních látek [3]. Také antioxidanty jsou zastoupeny v zrně, patří sem fenolické látky, flavonoidy, vitamíny a hojně zastoupené je barvivo karoten [37]. Kukuřičné klíčky obsahují asi 40–50 % oleje, ten obsahuje 14 % nasyčených mastných kyselin, 30 % monoenoových mastných kyselin a 56 % polyenoových mastných kyselin, také jsou bohatým zdrojem vitamínu E [3].

Z kukuřičného zrna se vyrábí mouka, krupice a otruby, které jsou vedlejším produktem. Zrno neobsahuje lepek a proto je kukuřičná mouka hojně využívaná pacienty trpící celiakií jako náhrada běžné například pšeničné mouky. Vyrábí se z ní například „corn flakes“, které jsou

oblíbenou snídaňovou pochoutkou. Ke konzumaci se využívá jen malé množství z celkové produkce [14] [38]. Hlavní využití nacházejí kukuřičné otruby jako krmivo pro dobytek [1].

2.5 Celiakie

Celiakie neboli glutenová enteropatie, je v současné době považovaná za geneticky podmíněné multisystémové autoimunní onemocnění. Vyznačuje se nesnášenlivostí lepku a dalších prolaminů, které jsou obsaženy v bílkovinách obilí. Hlavním projevem celiakie je poškození sliznice tenkého střeva, které vede k přecitlivělosti na lepek. Dnes tímto onemocněním trpí 0,5-1 % populace a nelze ho zatím vyléčit [40].

Podstatou tohoto onemocnění je porucha slizniční imunity, která vede k abnormální reakci na lepek. Lepek neboli gluten, je tvořený dvěma bílkovinami (glutaminem a gliadinem) a společně se škrobem je možné najít jej v endospermu některých obilovin. Hlavní podnět pro vyvolání protilátek pro vznik celiakie je gliadin, který při průniku do střeva způsobuje deaminaci pomocí tkáňové trans-glutaminázy a v důsledku toho jsou živiny těžko vstřebávány a zůstávají nestrávené ve střevě [40].

Mezi projevy celiakie se řadí úbytek hmotnosti, průjemy, dávení, nechutenství, únava, bolesti břicha, kožní problémy, hormonální poruchy, anémie, osteopenie a osteoporóza. V dnešní době je jediným léčebným řešením dodržování bezlepkové diety [40].

2.5.1 Citlivost na lepek

Citlivost na lepek je nově definovaná jednotka způsobená aktivací vrozené imunity bez účasti adaptivní imunity. Nemocní mají různé střevní a zejména mimostřevní symptomy. Rozdíly mezi citlivostí na lepek a celiakií jsou v permeabilitě střevní slizniční bariéry, histologii střevní biopsie a expresi genů slizniční imunity. Projevy citlivosti na lepek mohou pravděpodobně mít i jiné genetické pozadí potravinové intolerance, odlišné od celiakie. V současné době nemá citlivost na lepek žádný specifický biomarker. Diagnostika je možná pouze vyloučením jiných příčin symptomů a jejich ústupem při bezlepkové dietě [41].

2.5.2 Bezlepková dieta

Podstatou bezlepkové diety je vyloučení výrobků z obilovin, ve kterých je škrob kontaminován lepkem. Těmito obilovinami jsou pšenice, ječmen, žito a kříženci mezi zmíněnými druhy. Lepek a jeho toxické peptidy obsažené ve zmíněných cereáliích způsobují klinické příznaky celiakie, a proto se cereálie nahrazují bezlepkovými cereáliemi nebo pseudocereáliemi, které lepek obsahují v malé míře nebo vůbec. Hlavními rostlinami v této dietě jsou rýže, kukuřice, brambory, sója a potraviny, které přirozeně neobsahují lepek jako ovoce, zelenina nebo luštěniny [43].

S celiakií a omezenou dietou jsou spojeny malabsorpční příznaky. Do lidského těla se nedostává dostatek živin jako proteiny, vitamíny a minerály, zejména vápník a železo, tak jako při stravování běžnými cereáliemi. Je potřeba tyto látky doplnit jinou formou, aby se předešlo častým důsledkům jako anémie z nedostatku železa a kyseliny listové nebo častým zlomeninám při nedostatku vitamínu D nebo zhoršení zraku chybějícím vitamínem A. S rostoucím povědomím o celiakii se očekává, že bezlepkové produkty budou dostupnější a mnohé by

mohly být obohacené o vitamíny a minerály k předejití dalších zdravotních problémů [43][43][44].

Dalším následkem spojeným s celiakií je poškození střevních buněk kartáčového lemu. Buňky obsahují enzymy sacharázu a laktázu, které slouží ke štěpení disacharidů sacharózy a laktózy. Dochází k narušení syntézy laktózy, vedoucí k jejímu nedostatku, a to se projeví nesnášenlivostí laktózy. S tím se pojí další omezení v dietě, kdy je potřeba vyloučit i mléko a jeho výrobky [45][45].

2.6 Možnost obohacování

I přesto, že jsou bezlepkové cereálie perfektní náhradou za běžné cereálie, nedodávají lidskému tělu dostatečné množství potřebných látek, které by dostalo z běžné stravy. Například rýže a kukuřice obsahuje výrazně méně proteinů, vlákniny a některých vitamínů ve srovnání s běžnými obilovinami. Chybějící látky je proto potřeba doplnit jiným způsobem, aby se nedostatek vykompenzoval a lidskému tělu nebyly způsobeny další zdravotní problémy. Jednou z variant, jak předejít nedostatkům nutričních látek je doplnit je přímo do cereálií a vytvořit produkt z nich [46].

V této práci bylo zvoleno ovoce a zelenina pro obohacování cereálií, jelikož je známý fakt, že příjem ovoce a zeleniny je spojený se snížením rizika mnoha chronických onemocnění [47][47]. Ovoce a zelenina byla použita v lyofilizované formě z důvodu dlouhé doby trvanlivosti a udržení dostupnosti v průběhu celého roku [48].

2.6.1 Lyofilizace

Lyofilizace je sušící metoda založená na sublimaci. Dochází k přechodu zmražené kapaliny na plynné skupenství. První je potřeba materiál, který chceme vysušit, zmrazit na teplotu, při které už nemůže voda existovat v kapalném skupenství (-50 °C). Poté se pomalu začne zvyšovat teplota, ale zároveň se musí snižovat tlak, tím dochází k sublimaci. Vodní pára je odváděna do kondenzátoru, kde se mění zpět na led. Tato metoda je časově náročná, díky pomalému sušicímu procesu a také energeticky náročná, jelikož se provádí ve vakuu. S tím se pojí i finanční náročnost této metody [49][49].

Lyofilizované ovoce a zelenina tímto procesem ztratí velké množství vody (90 %) a také většinu svojí váhy. Zůstává zachována barva, vůně a také jejich složení a obsah antioxidantů, který často bývá vyšší než u čerstvého ovoce a zeleniny. Obsah vitamínu C v ovoci a zelenině u některých druhů zůstává stejný, u jiných zase klesne o přibližně 10-30 %. Hodnoty se odvíjí od druhu pochutiny a také vlastního obsahu vitamínu C. Vše záleží na stupni usušení, čím více je materiál vysušen, tím více látek bohužel ztratí [50].

2.6.2 Vybrané ovocné vzorky

Pro tuto práci bylo vybráno 8 druhů ovoce (brusinky, maliny, jahody, borůvky, černý rybíz, mango, banán, kiwi) z důvodu obsahového množství antioxidantů, vitamínů a jejich pozitivního vlivu na lidské zdraví.

Velké americké brusinky se skládají z 87 % vody, 12 % sacharidů a zbytek tvoří proteiny, tuky a vláknina. Dále jsou zdrojem vitamínu C, vitamínu E a vitamínu K a flavonoidů, fenolických

látek a antokyanů. Požívání brusinek zmenšují efekt určitých infekcí a zabraňují tvorbě zánětů, mají pozitivní vliv na srdce, ale nejvíce pozitivně působí na močové cesty [51].

Maliny obsahují esenciální minerály, vitamíny, mastné kyseliny, vlákninu a velkou řadu fenolických látek, jako flavonoidy, fenolické kyseliny, lignany a taniny. Díky fenolickým látkám mají maliny schopnost snížit růst rakovinových buněk, také snižují sekreci inzulínu a mohou zabránit průběhu chronických nemocí [52][52].

Jahody jsou jedny z nejvíce konzumovaných ovocných plodů a obsahují velké množství vitamínu C, folátů a fenolických látek. Ve studiích byl prokázán protizánětlivý efekt díky fenolickým látkám. Jahody by mohly hrát roli při prevenci chronických metabolických nemocí a rakoviny [53].

Borůvky jsou skvělým zdrojem flavonoidů, fenolických kyselin a také barviv antokyanů. Antioxidační látky obsažené v borůvkách brání aktivaci hepatických detoxifikačních enzymů, čímž blokuje aktivitu bakteriálních toxinů, zároveň zpomalují absorpci cholesterolu. Konzumace borůvek ukázala ve studiích inhibiční vliv na růst nádorů [54].

Černý rybíz, díky svému vysokému obsahu fenolických látek, má protizánětlivé účinky, inhibuje množení buněk několika typů rakovin, zároveň má pozitivní vliv na kardiovaskulární systém [55].

Mango se skládá převážně z proteinů, tuků, sacharidů, vlákniny, ale i z minerálů jako vápník, draslík, hořčík, železo a zinek. Je také bohaté na β -karoteny, vitamín A a vitamín C. Konzumace manga napomáhá snižování cholesterolu, prevenci rakoviny a regulaci glukózy v krvi [56].

Banán patří k populárnímu ovoci na světovém trhu. Je to také ovoce často využívané v dietě díky obsahu bioaktivních látek, jako fenoly, karotenoidy, biogenní aminy, fytosteroly a antioxidanty. Také obsahují větší množství minerálů draslíku, fosforu a hořčíku. Banány mají účinky proti tvorbě nádorů, jsou doporučeny pro pacienty s anémií, jelikož pomáhají udržovat hodnoty krevního tlaku. Dále může zabraňovat degenerativním onemocněním, jako jsou srdeční choroby, arterioskleróza, záněty, artritida, rakovina a mozková disfunkce [57].

Díky velkému obsahu vitamínu C, je kiwi známé pro své imunitu podporující účinky. Dále má skvělé antioxidační schopnosti, díky obsahu antioxidantů jako vitamín E, karotenoidy a fenolické látky. Kiwi obsahuje navíc chlorofyl a i chlorofyl b [58].

2.6.3 Vybrané zeleninové vzorky

Pro srovnání s ovocnými složkami byly vybrány 4 druhy zeleniny (brokolice, mrkev, hrášek, červená řepa) ze stejných důvodů, a to obsahu látek. Kromě toho také pro zvýšení variability produktu.

Brokolice je výborným zdrojem fotochemikálií, do kterých patří glukosinoláty fenoly, antioxidační vitamíny E, C, K. Dále je zdrojem minerálů sodíku, draslíku, vápníku, chloru, fosforu, ale také železa, zinku, mědi, manganu a selenu. Požívání brokolice má pozitivní efekt na tělo, zejména u pacientů s rakovinou a kardiovaskulárními problémy [59][59].

Mrkev obsahuje velké množství β -karotenů a také vitamínu C, vitamínu A a cholinu. Kromě toho obsahuje i vitamín B₆, vitamín K a foláty. Díky svému složení má mrkev pozitivní vliv na lidský zrak a také preventivně brání zdravotním problémům, jako infarkt, diabetes, rakovina, špatné vidění ve tmě a další [60].

Hrášek je přínosný pro zdraví především díky koncentraci a vlastnostem škrobu, bílkovin, vlákniny, vitamínů, minerálů a fotochemikálií. Vláknina z obalu semene přispívá k funkci trávicího traktu a snižuje stravitelnost škrobu v hrachu. Vitamíny a minerály mohou hrát důležitou roli při prevenci nemocí související s nedostatkem látek, především nedostatky selenu a folátů [61].

Červená řepa je bohatým zdrojem fytochemických látek, do kterých patří askorbová kyselina, karotenoidy, fenolické látky a flavonoidy. Je také jednou z mála zelenin, které obsahují vysoce bioaktivní červené barvivo β -kyan patřící pod β -lains. β -lains mají antioxidační a protizánětlivé vlastnosti. Díky tomu je možné, že červená řepa by mohla hrát roli v klinických patologiích vyznačující se oxidačním stresem a chronickým zánětem, jako onemocnění jater, artritida a rakovina [62].

2.6.4 Aplikace obohacených cereálií

Cereálie a cereální produkty jsou důležitým zdrojem energie, sacharidů, proteinů, vlákniny a také mikronutrientů, jako vitamín E, vitamín B, hořčík a zinek. Mezi cereální produkty dostupné na trhu řadíme pečivo, těstoviny, cereální tyčinky, snídaňové cereálie a kaše [63]. Do cereálních tyčinek, snídaňových cereálií i kaší se postupně začaly přidávat ovocné nebo zeleninové složky, které dodaly produktům kromě lepší chuti i více vitamínů, minerálů a celkově navýšily nutriční hodnoty. Nejlepší varianta je přidávat k jídlu čerstvé ovoce a zeleninu, ale v případě nedostupnosti existují produkty, které už ovocnou a zeleninovou složku mají začleněnou [64][65].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitých chemikálií

ABTS p.a., Sigma-Aldrich (SRN)
Aceton p.a., Penta (ČR)
Acetonitril pro HPLC, Penta (ČR)
Dihydrofosforečnan sodný, Lachema (ČR)
Dusitan sodný p.a., Lachema (ČR)
Ethanol 96 % p.a., Penta (ČR)
Ethylacetát pro HPLC, Penta (ČR)
Fenol p.a., oach-Ner (ČR)
Folin-Ciocalteuovo činidlo, VWR Chemicals (USA)
Glukóza monohydrát p.a., Lach-Ner (ČR)
Hexan pro HPLC, Carlo Erba (FR)
Hydroxid sodný p.a., Lach-Ner (ČR)
Chlorid hlinitý p.a., Lach-Ner (ČR)
Chloroform p.a., Penta (ČR)
Katechin, Sigma-Aldrich (SRN)
Kyselina gallová monohydrát, Sigma-Aldrich (SRN)
Kyselina chlorovodíková, Lach-Ner (ČR)
Kyselina octová 99,8 % p.a., Lachema (ČR)
Kyselina orthofosforečná 85 % p.a., Lach-Ner (ČR)
Kyselina sírová p.a., Lach-Ner (ČR)
Methanol pro HPLC, Penta (ČR)
Nutrient Broth w/ 1 % Peptone (ČR)
Peroxodisíran sodný p.a., Sigma-Aldrich (SRN)
Trolox p.a., Sigma-Aldrich (SRN)
Uhlíčan sodný p.a., Lach-Ner (ČR)
Vinan sodno-draselný tetrahydrát p.a., Lach-Ner (ČR)
Síran mědnatý pentahydrát p.a., Lach-Ner (ČR)
 β -karoten standard, Sigma-Aldrich (SRN)
 β -Glucan Assay Kit (Mixed Linkage), Megazyme (IRL)
RIDASCREEN Gliadin competitive, R-Biopharm (SRN)

3.2 Seznam použitých pomůcek a přístrojů

Analytické váhy Pioneer, Ohaus (USA)
Automatické pipety různých objemů, Biohit (SRN), Discovery (SRN)
Acura ® manual 855 multikanálová pipeta, Socorex (CHE)
Centrifuga EPP minispin plus (EU-IVD), Eppendorf (SRN)

Centrifuga MIKRO 120, Hettich (SRN)
 Centrifuga Z 366, Hermle (SRN)
 Denzitometr McFarland DEN-1, Biosan Ltd. (LV)
 ELISA Reader Synergy HTX, BioTek (SRN)
 EUTECH pH METER, Model No: pH700 (ČR, SK)
 GC sestava s detektorem FID, Thermo Fischer Scientific (USA)
 HPLC sestava s detektorem PDA, Thermo Fischer Scientific (USA)
 Kolona Kinetex Polar C18, Phenomenex (USA)
 Laminární box Airstream, ESCO (SRN)
 Lyofilizátor FreeZone 4.51 Freeze Dry System, Labconco (USA)
 Mlýnek na kávu SENCOR SCG 1050BK (JP)
 Předvážky, Ohaus (USA)
 Skleněné kuličky Glasperlen, Ø 0,25-0,5 mm, Carl ROTH GmbH + Co (SRN)
 Spektrofotometer NanoPhotometer UV/VIS, IMPLEN (SRN)
 Spektrofotometer UV/VIS 1600PC, VWR (BE)
 Syringe Filters CHS Filterpure, CHROMSERVIS
 Termoblok Dry Block Heater, Ohaus
 Trepáčka Unimax 1010, Heidolph (SRN)
 UltiMate 3000 HPLC and UHPLC Systems, Thermo Fisher Scientific (USA)
 Ultrazvuková lázeň, Ultrasonic compact cleaner 1,25 l, PS 02000, Powersonic
 Vodní lázeň TW 2, Julabo GmbH (SRN)
 Vortex – Fixed speed vortex mixer, Ohaus (USA)
 Vortex Genie, Scientific Industries, Inc. (USA)

3.3 Seznam použitých vzorků

Nutriční složení analyzovaných vzorků od výrobců je uvedeno v Tabulka 1, Tabulka 2 a Tabulka 3.

Tabulka 1: Nutriční složení analyzovaných cereálních vzorků na 100 g výrobku

Vzorek	Zkratka	Značka	Země	Energetická hodnota [kJ/kcal]	Tuky [g]	Sacharidy [g]	Bílkoviny [g]
Rýže černá	RČR	Countrylife	Mimo EU	1463/345	2,2	74,1	7,8
Rýže červená	RČV	Countrylife	Kambodža	1501/359	3,0	73,0	8,0
Rýže hnědá	RH	Countrylife	Pákistán	1496/353	3,3	72,0	7,0
Rýže bílá	RB	Countrylife	Kambodža	1424/341	0,5	76,0	6,5
Kukuřice	KU	Druid	Mrzkovice (ČR)	1448/342	2,3	69,0	7,7

Vzorky ovoce a zeleniny byly všechny v lyofilizované podobě. Vzorek brokolice byl zpracován v laboratoři lyofilizátorem FreeZone 4.51.

Tabulka 2: Nutriční složení analyzovaných ovocných vzorků na 100 g výrobku

Vzorek	Zkratka	Značka	Země	Energetická hodnota [kJ/kcal]	Tuky [g]	Sacharidy [g]	Bílkoviny [g]
Brusinky	BS	Svět plodů	Čína	1416/337	1,5	67,2	1,7
Maliny	ML	Svět plodů	Srbsko	1236/295	1,5	46,5	7,4
Jahody	JA	Svět plodů	Egypt	1359/323	3,8	52,6	7,9
Borůvky	BO	Svět plodů	Polsko	1519/363	1,8	73,0	5,4
Černý rybíz	ČR	Svět plodů	Polsko	1320/315	2,0	77,0	7,0
Mango	MG	Svět plodů	Čína	1493/357	1,8	89,3	3,6
Banán	BA	Svět plodů	Čína	1448/346	0,7	75,0	4,4
Kiwi	KI	Svět plodů	Čína	1240/296	3,6	52,7	5,8

Tabulka 3: Nutriční složení analyzovaných zeleninových vzorků na 100 g výrobku

Vzorek	Zkratka	Značka	Země	Energetická hodnota [kJ/kcal]	Tuky [g]	Sacharidy [g]	Bílkoviny [g]
Hrášek	HR	Natu	EU	1500/360	2,0	47	25
Mrkev	MR	Natu	EU	1412/335	1,2	67	4,5
Červená řepa	ŘP	Natu	EU	1338/318	0,5	58	9,5

Brokolice, odrůda MeridiomaAle, země původu Itálie.

3.4 Příprava vzorků pro analýzu

Pro analýzu musely být vzorky upraveny. Jednotlivé vzorky byly rozemlety pomocí mlýnku na kávu SENCOR na práškovou formu.

3.5 Přípravy extraktů

3.5.1 Vodné extrakty

Do plastové zkumavky byl navážen v případě cereálií 1 g vzorku, v případě ovoce a zeleniny 0,1 g vzorku. Dále bylo přidáno 10 ml destilované vody a roztok byl důkladně promíchán na vortexu. Suspenze byla ponechána na třepačce při 37 °C 24 hodin. Po uplynutí této doby byly vzorky zcentrifugovány při 9 000 otáčkách 10 minut. Supernatant byl následně odpipetován do čistých zkumavek. Extrakty byly skladovány v chladicí místnosti ve tmě v průběhu analýz.

3.5.2 Kyselá hydrolyza na stanovení dle Duboise

Navážka 1 g vzorku cereálií nebo 0,1 g vzorku ovoce a zeleniny byla přenesena do čistých plastových zkumavek a byla zalita 10 ml 6M kyseliny chlorovodíkové. Suspenze byla promíchána na vortexu a ponechána 90 minut na třepačce při 37 °C. Následně byly vzorky zcentrifugovány při 9 000 otáčkách 10 minut. Supernatant byl 1 000x naředěn a použit pro analýzu.

3.5.3 Extrakty na stanovení β -karotenu

Do čisté plastové zkumavky byl navážen 1 g vzorku cereálií nebo 0,1 g ovocného a zeleninového vzorku a byl zalit 10 ml acetonu. Vzorek byl promíchán na vortexu a 30 minut inkubován při 37 °C na třepačce ve tmě. Suspenze byla zcentrifugována při 10 000 otáčkách 6 minut a supernatant byl použit k analýze.

3.5.4 Extrakty na stanovení vitamínu C

Pro optimalizaci extrakce byly použity 4 metody, z nichž byla následně vybrána metoda s nejlepšími výsledky. Ve 3 metodách byly k navážce 0,1 g vzorku přidány skleněné kuličky a 10 ml studené destilované vody. Suspenze byla promíchána na vortexu 10 minut a následně ponechána určitou dobu ve tmě na třepačce při teplotě 37 °C. Délka doby inkubace vzorků byla 24 hodin, 1 hodina a 20 minut. Metoda dlouhá 24 hodin byla převzata z diplomové práce [67] a metoda 20 minut dlouhá byla převzata z bakalářské práce [68]. Ve 4. metodě bylo k navážce 0,1 g vzorku přidáno 10 ml 2% kyseliny orthofosforečné a skleněné kuličky. Suspenze byla promíchávána 20 minut na vortexu. Ve všech metodách byl vzorek po inkubaci zcentrifugován při 10 000 otáčkách 10 minut a přefiltrován před měřením na HPLC. Po měření byly výsledné hodnoty porovnávány a byla zvolena extrakce s nejlepšími výsledky a následně použita při měření ovocných a zeleninových vzorků.

3.6 Stanovení flavonoidů

Do zkumavky bylo napipetováno 0,5 ml extraktu vzorku vytvořeného podle kapitoly 3.5.1. K vzorku bylo přidáno 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml dusitanu sodného a roztok byl promíchán na vortexu a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Po 5 minutách bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého, opět promícháno a ponecháno 5 minut při laboratorní teplotě. Nakonec bylo přidáno 1,5 ml 1M roztoku hydroxidu sodného a 1 ml destilované vody. Výsledný roztok byl promíchán na vortexu a po 15 minutách byla měřena absorbance při 510 nm oproti blanku – voda místo vzorků.

Obsah flavonoidů ve vzorku byl počítán z rovnice kalibrační křivky, která byla připravena pro roztok katechinu v rozmezí 0,05 - 0,3 mg/ml. Každý vzorek byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

Rovnice 1: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení flavonoidů a koeficient R^2

$$y = 3,4114x; R^2 = 0,9997 \quad (1)$$

3.7 Stanovení polyfenolů

K 1 ml Folin-Ciocalteova činidla zředěného vodou v poměru 1:9 byl přidán 1 ml destilované vody a 50 μ l vodného extraktu vzorku připraveného dle kapitoly 3.5.1. Roztok byl promíchán a po 5 minutách byl přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Po promíchání byl roztok ponechán při laboratorní teplotě 15 minut a následně byla měřena absorbance při 750 nm oproti blanku – voda namísto vzorků.

Obsah polyfenolů ve vzorku byl vypočítán z rovnice kalibrační křivky, které byla připravena pro roztok kyseliny gallové v rozmezí 0,1 - 0,7 mg/ml. Každý vzorek byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

Rovnice 2: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení polyfenolů a koeficient R^2

$$y = 1,2726x; R^2 = 0,9946 \quad (2)$$

3.8 Stanovení antioxidační aktivity

Pro stanovení antioxidační aktivity byl použit roztok radikálového kationu ABTS \cdot^+ připravený smícháním 7 mM roztoku ABTS a 2,45 mM peroxodisíranu sodného. Tento roztok byl ponechán při laboratorní teplotě 12 hodin ve tmě.

Před použitím byl roztok ABTS zředěn 96% ethanolem na absorbanci $0,700 \pm 0,020$ při vlnové délce 734 nm. Blankem byl 96% ethanol. Následně byl 1 ml připraveného roztoku ABTS napipetován do zkumavky typu Eppendorf. Do zkumavky bylo přidáno 10 μ l analyzovaného extraktu připraveného dle kapitoly 3.5.1. Vzorky byly ponechané ve tmě 10 minut a následně byla změřena absorbance A_{10} v zúžené křemenné kyvetě při vlnové délce 734 nm. Hodnota absorbance A_0 byla zjištěna přidáním 10 μ l vody místo vzorku a absorbance byla měřena hned po přidání. Všechny vzorky byly měřeny v triplicátech.

Výsledná hodnota antioxidační aktivity byla získána rozdílem absorbancí A_0 a A_{10} a hodnota byla dosazena do rovnice kalibrační křivky. Kalibrační křivka byla sestrojena použitím modelového antioxidantu Troloxu rozpuštěného v 60% ethanolu na koncentraci 50 - 400 μ l/ml.

Rovnice 3: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení antioxidační aktivity a koeficient R^2

$$y = 1,0794x; R^2 = 0,995 \quad (3)$$

3.9 Stanovení proteinů dle Hartree-Lowryho

Proteiny byly stanoveny v extraktech cereálií připravených dle kapitoly 3.5.1. Do zkumavky byl napipetován 1 ml extraktu a 0,9 ml Hartree-Lowryho činidla A. Vzniklý roztok byl promíchán na vortexu a inkubován 10 minut ve vodní lázni při 50 °C. Následně byly vzorky ochlazeny na laboratorní teplotu, bylo přidáno 0,1 ml Hartree-Lowryho činidla B. Roztok byl promíchán na vortexu a ponechán 10 minut při laboratorní teplotě. Dále byly přidány 3 ml Hartree-Lowryho činidla C, vzorek byl opět promíchán a inkubován 10 minut ve vodní lázni nastavené na teplotu 50 °C. Výsledný roztok byl ochlazen na laboratorní teplotu a na spektrofotometru byla měřena absorbance při 650 nm na blank – destilovaná voda místo vzorku. Každý vzorek byl měřen třikrát a průměr hodnot byl dosazen do kalibrační křivky.

Kalibrační křivka byla stanovena stejným postupem s využitím albuminu rozpuštěném v destilované vodě na koncentraci v rozmezí 30 - 300 μ l/ml.

Rovnice 4: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení proteinů a koeficient R^2

$$y = 2,9371x; R^2 = 0,9927 \quad (4)$$

Hartree-Lowryho činidlo A: 0,5 g tetrahydrátu vinanu sodno-draselného, 25 g uhličitanu sodného, 125 ml 1M hydroxidu sodného, do 250 ml doplnit destilovanou vodou.

Hartree-Lowryho činidlo B: 2 g tetrahydrátu vinanu sodno-draselného, 1 g pentahydrátu síranu mědnatého, 10 ml hydroxidu sodného, do 100 ml doplnit destilovanou vodou.

Hartree-Lowryho činidlo C: směs Folin-Ciocalteova činidla a vody v poměru 1:15.

3.10 Stanovení sacharidů dle Duboise

Stanovení sacharidů metodou dle Duboise proběhlo u vzorků cereálií extrahovaných dle kapitoly 3.5.2. Do zkumavky byl napipetován 1 ml vzorku, 1 ml 5% roztoku fenolu a pomalu postupně přidáno 5 ml koncentrované kyseliny sírové. Směs byla promíchána a ponechána v digestoři při laboratorní teplotě po dobu 30 minut. Absorbance byla spektrofotometricky měřena při 490 nm oproti vodě namísto vzorku jako blanku. Vzorky byly analyzovány třikrát a průměrná hodnota byla dosazena do kalibrační křivky.

Pro kalibraci byl použit zásobní roztok glukózy o koncentraci 1 mg/ml, ze kterého byla vytvořena kalibrační řada v rozmezí 10 - 100 µg/ml

Rovnice 5: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení sacharidů a koeficient R^2

$$y = 11,708x; R^2 = 0,997 \quad (5)$$

3.11 Stanovení mastných kyselin v cereáliích na GC

Před stanovení mastných kyselin, které bylo provedeno pomocí plynové chromatografie, byla potřebná transesterifikace testovaných vzorků cereálií. Do skleněných vialek bylo naváženo 50 - 60 mg vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 1,8 ml transesterifikační směsi s obsahem inertního standardu C_{17} o koncentraci $c = 0,5$ g/ml, rozpuštěného v 15% roztoku kyseliny sírové v methanolu. Vialky byly umístěny do termobloku vyhřátého na 85 °C po dobu 2 hodin, kde probíhala transesterifikace. Následně byly vialky ochlazeny na laboratorní teplotu a převedeny do vialek o objemu 4 ml, ve kterých bylo nachystáno 0,5 ml 0,05M hydroxidu sodného. Ke směsi byl přidán 1 ml hexanu HPLC kvality a vialky byly ponechány na vortexu 6 minut. Díky promíchání a třepání došlo k oddělení fází. Z vrchní fáze bylo odebráno 0,1 ml do nové čisté vialky a přidáno 0,9 hexanu. Vzorky byly uchovány v mrazáku, než došlo k jejich analýze.

Tabulka 4: Parametry pro analýzu na GC

Přístroj	Thermo Fischer TRACETM GC				
Kolona	Zebon ZB-FAME; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µl				
Detektor	FID				
Dávkování	Autosampler Thermo Scientific A1 1310				
Nosný plyn a jeho průtok	vodík, 1ml/min				
Objem nástřiku	1 µl				
$T_{injektor} / T_{detektor}$	250 °C/260 °C				
Průtok vzduchu	350 ml/min	Průtok dusíku	30 ml/min	Průtok vodíku	35 ml/min

3.12 Stanovení antokyanů

Pro měření byly použity vzorky vytvořené podle kapitol 3.5.3, které byly následně okyseleny 0,1% kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu pH 2 - 3,5. Spektrofotometricky byla měřena absorbance při vlnové délce 528 nm a blankem byla okyselená voda s rozmezím pH také 2 - 3,5. Každý vzorek byl měřen třikrát a průměr výsledných hodnot byl dosazen do dříve naměřené kalibrační křivky převzaté ze zdroje [66].

Rovnice 6: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení antokyanů

$$y = 60,3368x \quad (6)$$

3.13 Stanovení β -karotenů

Ke stanovení β -karotenů ve vzorcích byly použity extrakty vytvořené podle kapitoly 3.5.3. Měření proběhlo spektrofotometricky při 450 nm na blank aceton a byla použita skleněná kyveta. Každý vzorek byl měřen třikrát a průměrná hodnota byla dosazena do kalibrační křivky.

K vytvoření kalibrační řady byl použit jako standard β -karoten o koncentraci 1 mg/ml, ze kterého byla vytvořena kalibrační řada v koncentračním rozsahu 0,2 -1,0 µl/ml. Standard byl zředěn acetonem a roztok byl 5 - 10 minut ponechán na ultrazvuku, aby došlo k úplnému rozpuštění.

Rovnice 7: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení β -karotenů a koeficient R^2

$$y = 0,5312x; R^2 = 0,9982 \quad (7)$$

3.14 Stanovení lipofilních vitamínů metodou HPLC

Lipofilní vitamíny byly stanovovány ve vzorcích cereálií, ovoce i zeleniny. Navážka 0,1 g vzorku byla spolu se skleněnými kuličkami přidána do 15 ml plastové zkumavky a následně bylo přidáno 10 ml směsi rozpouštědel chloroform:methanol (2:1). Vzorky byly umístěny na vortex, kde byly intenzivně míchány 30 minut. Dále byly přidány 3 ml destilované vody, vzorek byl promíchán a centrifugován při 4 500 otáčkách 6 minut. Spodní chloroformová vrstva byla odpipetována do skleněných zkumavek a odpařena na termobloku v inertní dusíkové atmosféře. Následně byl do zkumavky přidán 1 ml směsi rozpouštědel ethylacetát:acetonitril (1:1). Vzorek byl přefiltrován přes PFTE filtr do skleněných vialek pro HPLC. Všechny vzorky byly analyzovány v duplikátech.

Tabulka 5: Parametry pro analýzu na HPLC

Přístroj	HPLC Thermo Fischer Scientific
Kolona	EVO C18, KINETEX; 150 x 4,6 x 2,6 mm
Detektor	PDA
Čas analýzy	25 minut
Průtok MF	1,2 ml/min
MF A	MeOH : CH ₃ CN : 100 mM trisHCL pufr (2:84:14 obj %)
MF B	MeOH : ethylacetát (60:40 obj %)
Typ eluce	gradientová

Tabulka 6: Složení mobilních fází HPLC metody v různých časech analýzy

t [min]	0	13	19	20	25
MF A [obj. %]	100	0	0	100	100
MF B [obj. %]	0	100	100	0	0

Tabulka 7: Rovnice kalibračních křivek pro stanovované látky

Látka	Rovnice kalibrační křivky
β -karoten	$y = 3,9153x + 1,0108$
Ergosterol	$y = 1,7737x - 0,0411$
Chlorofyl A	$y = 8,3273x + 0,0663$
Chlorofyl B	$y = 4,4285x + 0,0695$
Lutein	$y = 17,391x + 0,2105$
Tokoferol	$y = 0,669x + 0,3371$
Torulen	$y = 9,7467x - 17,643$
Ubichinon	$y = 0,231x$
Violaxantin	$y = 20,559x + 0,2934$

3.15 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC

Ke stanovení byla využita extrakce ověřená v kapitole 3.5.4.. Po uplynutí doby extrakce byly vzorky stočeny v Eppendorf zkumavkách při 10 000 otáčkách 10 minut. Supernatant byl přefiltrován přes nylonové filtry do čistých Eppendorf zkumavek a použit k analýze na HPLC.

Každý vzorek byl měřen 2x a průměrná hodnota byla dosazena do kalibrační křivky převzaté z [69]58.

Rovnice 8: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení kyseliny askorbové

$$y = 15348,184x \quad (8)$$

Tabulka 8: Parametry pro analýzu na HPLC

Přístroj	UltiMate 3000 HPLC and UHPLC Systems		
Kolona	EVO C18, KINETEX; 150 x 4,6 x 2,6 mm		
Detektor	spektrofotometrický s UV/VIS detekcí		
Vlnová délka detekce	267 nm	Čas analýzy	20 minut
Průtok MF	1 ml/min	Objem nástřiku	10 µl
MF A	octan sodný	MF B	acetonitril
Typ eluce	gradientová	Teplota termostatu	35 °C

Tabulka 9: Složení mobilních fází HPLC metody v různých časech

t [min]	0	3	6	12	16	25
MF A [obj. %]	100	100	90	30	100	100
MF B [obj. %]	0	0	10	70	0	0

3.16 Stanovení lepku

Pro měření byl využit kit RIDASCREEN Gliadin competitive, díky kterému byly stanoveny fragmenty peptidu prolaminu v cereálních vzorcích. Test byl založen na reakci antigenu s protilátkou.

Před samotným stanovením byly vytvořeny extrakty přidáním 10 ml 60% ethanolu k 1 g vzorku. Suspenze ve zkumavce byla promíchána na vortexu a dalších 10 minut byla intenzivně protřepávána. Po uplynutí doby extrakce byla suspenze zcentrifugována při 4 500 otáčkách 10 minut a získaný supernatant byl následně 50x zředěn pufrem.

Vzorky a také standardy, sloužící k vytvoření kalibrační křivky, byly v množství 50 µl napipetovány do jamek destičky. Stěny jamek v mikrotitračních destičkách byly potažené gliadinem. Následně bylo přidáno 50 µl naředěného konjugátu a destička s jamkami byla opatrně promíchána a ponechána inkubovat 30 minut při pokojové teplotě. Po uplynutí doby inkubace byla tekutina z jamek vytřepána a po vyprázdnění bylo do jamek napipetováno 250 µl naředěného vymývacího pufru. Veškerá tekutina byla opět vytřepána z jamek a tento krok byl zopakován ještě 2x. Poté bylo do jamek napipetováno 100 µl chromogenu a proběhla desetiminutová inkubace při pokojové teplotě za tmy. Na závěr byl do každé jamky napipetován roztok zastavující reakci v množství 100 µl a byla změřena absorbance při 450 nm v každé jamce. Každý vzorek i standard byl proměřen třikrát. Z absorbance naměřené u vzorků byla následně vypočítána koncentrace gliadinu po dosazení do rovnice kalibrační křivky.

Rovnice 9: Rovnice kalibrační křivky pro stanovení lepku a koeficient R^2

$$y = -0,0122x + 1,767; R^2 = 0,836 \quad (9)$$

3.17 Stanovení β -glukanů

Množství β -glukanů v cereálních vzorcích bylo stanoveno pomocí kitu β -Glucan Assay Kit (Mixed Linkage). Do 3 skleněných zkumavek bylo naváženo 40–60 mg každého vzorku a bylo přidáno 0,1 ml 50% ethanolu a 2 ml fosfátového pufru (20 mM, pH 6,5). Zkumavky byly promíchány na vortexu a inkubovány 60 sekund ve vroucí vodní lázni. Následně byly zkumavky opět promíchány na vortexu a inkubovány další 2 minuty při 100 °C. Dalších 5 minut byly zkumavky se suspenzí inkubovány ve vodní lázni vyhřáté na 50 °C. Po inkubaci bylo do každé zkumavky přidáno 0,05 ml enzymu lichenázy, směs byla opět promíchána a inkubovaná 1 hodinu při 50 °C. V průběhu inkubace byly zkumavky ještě 3 - 4x promíchány. Následně bylo přidáno 2,5 ml acetátového pufru (200 mM, pH 4,0), směs byla promíchána a zcentrifugována při 10 000 otáčkách po dobu 10 minut. Množství 0,05 ml supernatantu z každé zkumavky bylo odebráno na dno dvou zkumavek typu Eppendorf s objemem 2 ml. Do jedné ze zkumavek bylo přidáno 0,05 ml enzymu β -glukosidáza a do druhé zkumavky bylo přidáno 0,05 ml acetátového pufru (50 mM, pH 4,0). Všechny zkumavky byly inkubované 10 minut při 50 °C. Na závěr bylo do všech zkumavek přidáno 1,5 ml GOPOD reagentu a zkumavky byly inkubovány dalších 20 minut při 50 °C. Po inkubaci byla u všech vzorků změřena absorbance při 510 nm oproti blanku.

3.18 Antimikrobiální testy

U vodných extraktů připravených dle postupu 3.5.1 byla testovaná jejich antimikrobiální aktivita na dvou vybraných bakteriálních kmenech, grampozitivní (*Micrococcus luteus* CCM 1569) a gramnegativní (*Serratia marcescens* CCM 8587). Použité bakteriální kultury byly získány z České sbírky mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně. Měření bylo provedeno bujónovým dilučním testem na 96-jamkových mikrotitračních destičkách. Práce byla prováděna ve sterilním boxu a ve sterilní místnosti.

3.18.1 Příprava médií

Na přípravu kapalných médií bylo použito médium Nutrient Broth (NB) a bylo postupováno podle pokynů výrobce. Do 100 ml destilované vody byla přidána navážka 2,5 g NB média.

3.18.2 Kultivace mikroorganismů

V průběhu antimikrobiálních testů bylo pracováno se dvěma druhy mikroorganismů, *Micrococcus luteus* a *Serratia marcescens*. Pro tyto bakterie bylo zvoleno vhodné médium, a to NB médium připravené podle kapitoly 3.18.13.18.1. Do 50 ml sterilního média byl zaočkován napipetováním 1 ml kultury z tekutého média. Po zaočkování byly mikroorganismy kultivovány na třepačce 24 hodin při teplotě 37 °C. Před použitím bakteriální kultury bylo provedeno ředění, tak aby naředěná kultura odpovídala hodnotě 0,5 McFarlandové zákalové stupnice.

3.18.3 Bujónová diluční metoda

Pro testování extraktů byla použita 96-jamková destička, do které bylo napipetováno 100 μ l buněčné kultury a 100 μ l vzorku, který byl ještě před použitím přefiltrován přes sterilní filtry. Jako kontrola prostředí byly použity jamky, do kterých bylo k 100 μ l kultury přidáno 100 μ l sterilní destilované vody. Jako kontrola nárůstu buněk sloužily jamky, do kterých bylo napipetováno 100 μ l kultury a 100 μ l čistého média. Následně byla změřena absorbance ve

všech jamkách pomocí přístroje ELISA Reader, toto měření značilo čas 0. Destičky byly ponechány 24 hodin na třepačce při 37 °C 24 hodin a byla opět změřena absorbance v čase $t = 24$ hod. Ze získaných dat byla stanovena antimikrobiální aktivita testovaných vzorků.

3.19 Vytvoření směsí

Po všech stanoveních následoval výběr vzorků s nejvyššími hodnotami pro vytvoření směsi. Jako hlavní cereální základ byla zvolena černá rýže, do některých směsí byl přidán i podíl kukuřičného základu z důvodu navýšení množství antokyanů a hodnoty antioxidační aktivity ve směsích. Dále byly vybrány 2 ovocné a 2 zeleninové vzorky s nejvyšším stanoveným množstvím polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity. Z ovoce byl zvolen černý rybíz a borůvky, ze zeleniny červená řepa a brokolice. Podíl vzorků ve směsích byl zaznamenán do Tabulka 10 a Tabulka 11.

Tabulka 10: Složení směsí se základem z černé rýže

Složka		Vzorek							
		Kontrola	A	B	C	D	E	F	G
Základ	RČR [g]	10	9	9	9	9	9	9	9
	Množství H ₂ O [ml]	10	10	10	15	15	10	15	10
Přídavek	ČR [g]	-	1	-	-	-	0,5	-	0,5
	BO [g]	-	-	1	-	-	0,5	-	-
	ŘP [g]	-	-	-	1	-	-	0,5	0,5
	BR [g]	-	-	-	-	1	-	0,5	-

Tabulka 11: Složení směsí se základem z černé rýže a kukuřice

Složka		Vzorek			
		Kontrola	H	I	J
Základ	RČR [g]	5	4,5	4,5	4,5
	KU [g]	5	4,5	4,5	4,5
	Množství H ₂ O [ml]	12	11	15	12
Přídavek	ČR [g]	-	0,5	-	0,5
	BO [g]	-	0,5	-	-
	ŘP [g]	-	-	0,5	0,5
	BR [g]	-	-	0,5	-

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce byla zaměřena na vývoj obohacených bezlepkových cereálií pro zvláštní výživu. Byly charakterizovány vybrané bezlepkové cereálie a lyofilizované ovocné a zeleninové vzorky. Z cereálního základu a přídavku ovoce či zeleniny byly vytvořeny kaše, které byly podrobeny stejným analýzám.

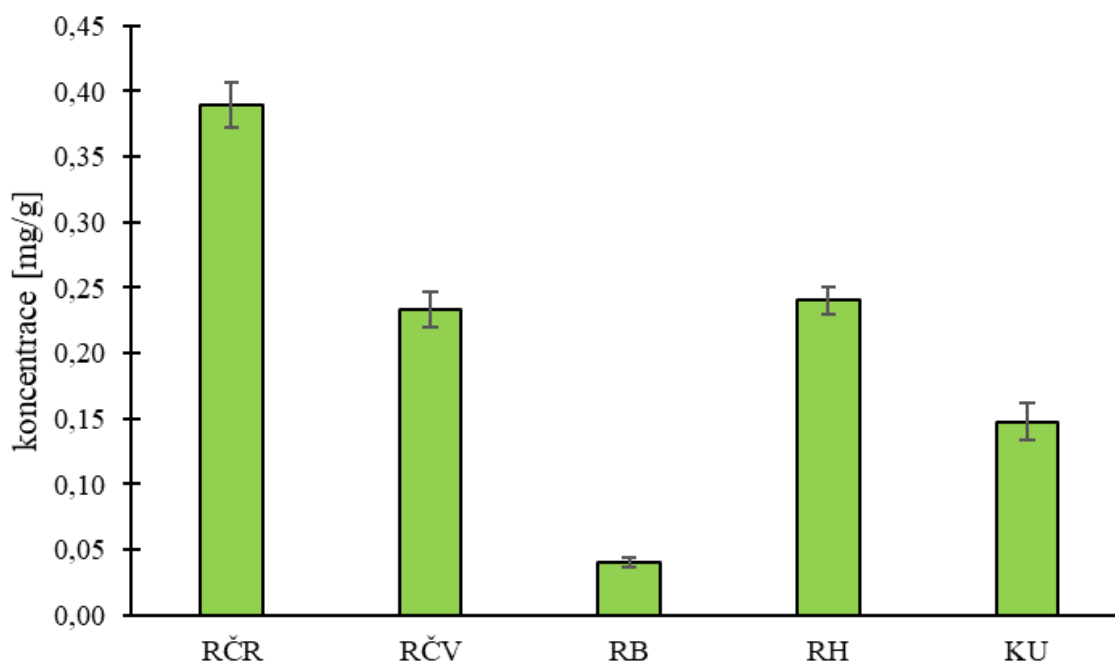
Tabulka 12: Zkratky vzorků cereálií, ovoce a zeleniny

Cereálie	Zkratka	Ovoce	Zkratka	Ovoce	Zkratka	Zelenina	Zkratka
Černá rýže	RČR	Brusinka	BS	Černý rybíz	ČR	Brokolice	BR
Červená rýže	RČV	Malina	ML	Mango	MG	Mrkev	MR
Bílá rýže	RB	Jahoda	JA	Banán	BA	Zelený hrách	HR
Hnědá rýže	RH	Borůvka	BO	Kiwi	KI	Červená řepa	ŘP
Kukuřice	KU						

4.1 Stanovení flavonoidů

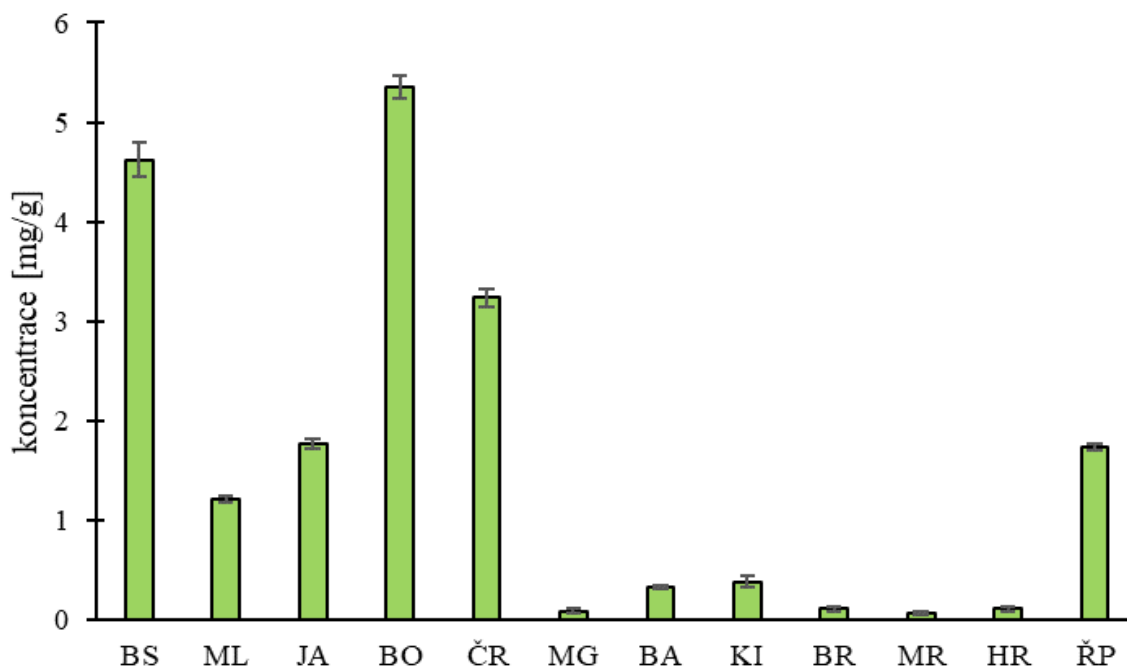
Obsah flavonoidů ve vzorcích cereálií, ovoce a zeleniny byl spektrofotometricky stanoven podle postupu v kapitole 3.6. Každý vzorek byl proměřen třikrát a průměrná hodnota byla dosazena do kalibrační křivky (Rovnice 1). Získané koncentrace flavonoidů vztahované na navážku vzorku byly zobrazeny do grafů níže.

V grafu na Obrázek 2 byly zobrazeny koncentrace flavonoidů v cereálních vzorcích. Nejvyšší obsah byl stanoven ve vzorku černé rýže ($0,389 \pm 0,017$ mg/g). Oproti tomu nejmenší množství flavonoidů byly podle očekávání ve vzorku bílé rýže ($0,040 \pm 0,003$ mg/g) jelikož 77 % flavonoidů v zrně se nachází v otrubách, které byly z bílé rýže odstraněny [31].



Obrázek 2: Graf koncentrací flavonoidů v cereálních vzorcích

Koncentrace flavonoidů v ovocných a zeleninových vzorcích byla zobrazena v grafu (Obrázek 3). Od pohledu je zřejmé, že ve většině ovocných vzorků měla vyšší koncentrace flavonoidů než u vzorků zeleniny. Mezi 3 ovocné vzorky s nejvyšší stanovenou koncentrací flavonoidů patřily borůvka ($5,36 \pm 0,12$ mg/g), brusinka ($4,62 \pm 0,17$ mg/g) a černý rybíz ($3,23 \pm 0,09$ mg/g). Tyto ovocné vzorky jsou obecně známé pro vyšší obsah fenolických látek a flavonoidů, jak už bylo zmíněno v kapitole 2.6.2. Nejnižší koncentrace flavonoidů v ovoci byla v mangu ($0,09 \pm 0,02$ mg/g). Tato koncentrace se skoro shodovala s hodnotami naměřenými pro zeleninové vzorky, až na vzorek červené řepy ($1,74 \pm 0,03$ mg/g), kde byl vidět značný rozdíl.

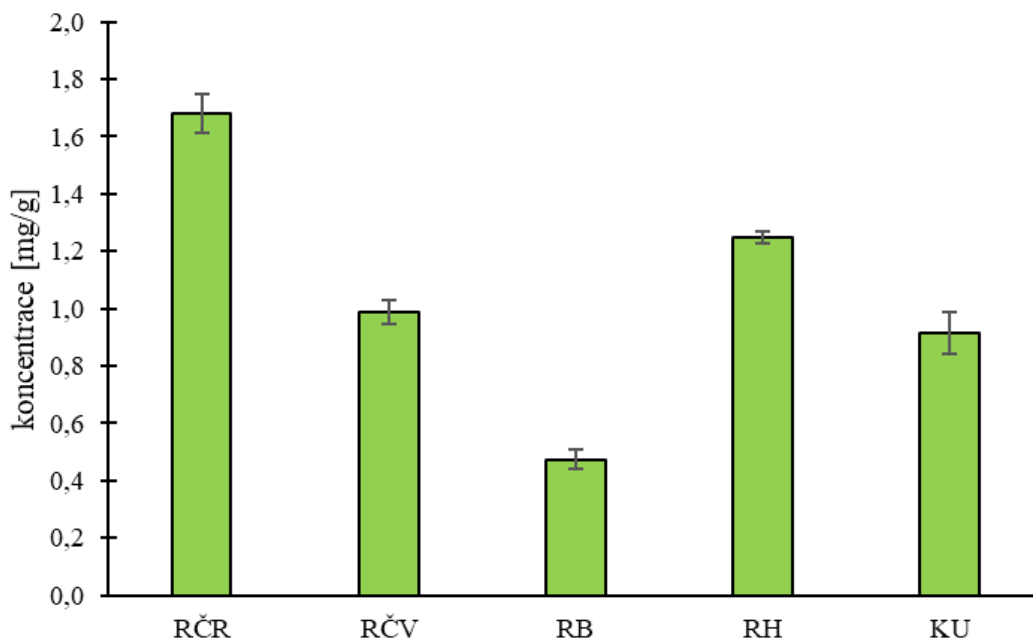


Obrázek 3: Graf koncentrací flavonoidů v ovocných a zeleninových vzorcích

4.2 Stanovení polyfenolů

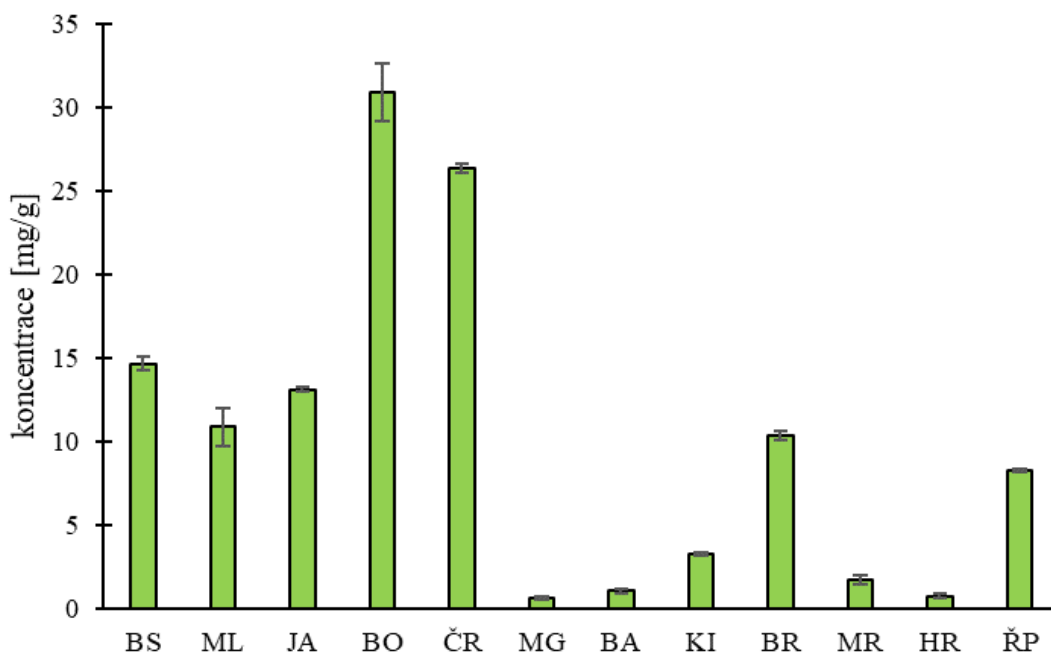
Celkový obsah polyfenolů ve vzorcích cereálií, ovoce a zeleniny byl stanoven spektrofotometrickou metodou popsanou v kapitole 3.7. Všechny vzorky byly proměřeny třikrát a průměrná hodnota absorbance byla dosazena do kalibrační křivky (Rovnice 2). Vypočítané množství bylo následně zobrazeno v grafech na Obrázek 4 a Obrázek 5. Jelikož jsou polyfenoly skupinou nadřazenou flavonoidům, v porovnání s výsledky v kapitole 4.1 jsou koncentrace vyšší, ale poměry koncentrací mezi vzorky zůstaly podobné.

Největší množství polyfenolů bylo zaznamenáno ve vzorku černé rýže ($1,68 \pm 0,07$ mg/g), poměrně vysoká koncentrace byla i ve vzorku hnědé rýže ($1,25 \pm 0,02$ mg/g). Nejmenší množství bylo v bílé rýži ($0,47 \pm 0,04$ mg/g) jelikož je ochuceno o otruby obsahující převážné množství fenolických látek v zrna [31].



Obrázek 4: Graf koncentrace polyfenolů v cereálních vzorcích

V ovocných vzorcích byla nejvyšší koncentrace stanovena u vzorků borůvka ($30,9 \pm 1,8$ mg/g), černý rybíz ($26,4 \pm 0,3$ mg/g) a brusinka ($14,6 \pm 0,4$ mg/g), nejmenší u vzorku mango ($0,66 \pm 0,09$ mg/g) obdobně jako v kapitole 4.1. Ze zeleninových vzorků byla nejvyšší koncentrace stanovena u brokolice ($10,4 \pm 0,3$ mg/g) a červené řepy ($8,25 \pm 0,08$ mg/g). V porovnání s kapitolou 4.1 byl rozdíl množství u vzorku brokolice velký, což značí, že flavonoidy tvoří pouze malou část zastoupení polyfenolických látek. Sloučeniny zastupující kategorii polyfenolů u brokolice by měly být převážně fenolické kyseliny jako kyselina gallová, ferulová, chlorogenová a neochlorogenová [70][70].

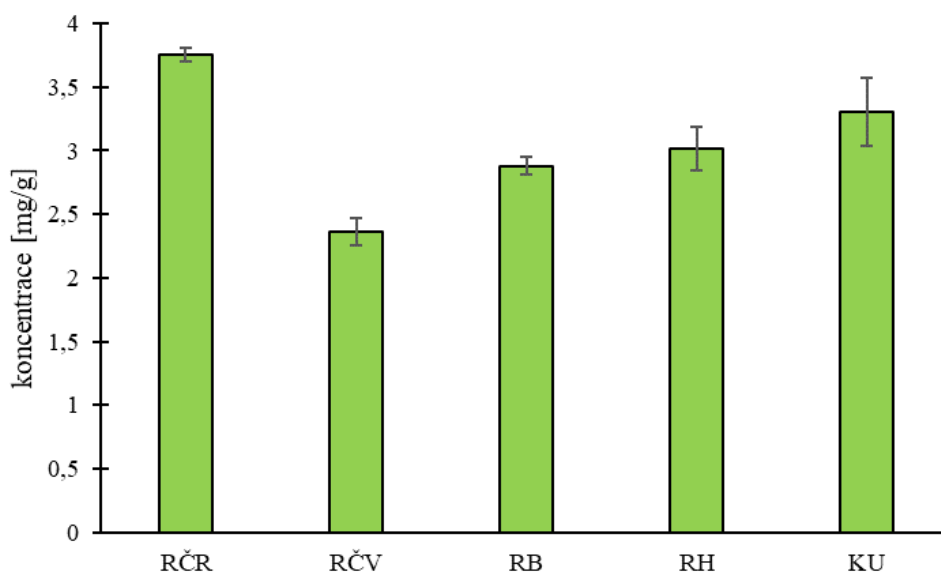


Obrázek 5: Graf koncentrace polyfenolů v ovocných a zeleninových vzorcích

4.3 Stanovení antioxidační aktivity

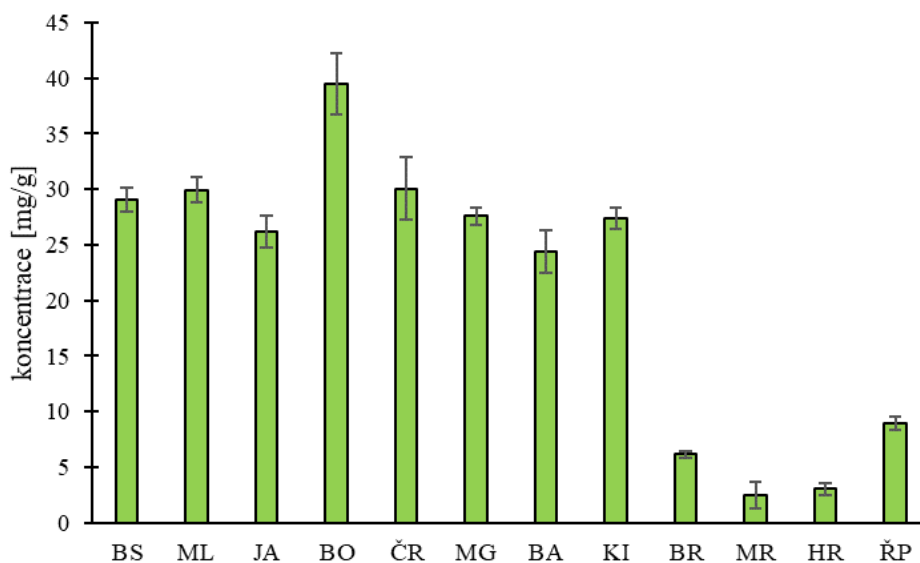
Antioxidační aktivita cereálních, ovocných a zeleninových vzorků byla spektrofotometricky stanovena podle postupu v kapitole 3.8. Každý vzorek byl měřen třikrát a průměrná hodnota absorbance byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (3) a hodnoty antioxidační aktivity byly zobrazeny do grafů (Obrázek 6 a Obrázek 7). Výsledné koncentrace jsou vyjádřené v mg ekvivalentu Troloxu na g vzorku.

Z cereálních vzorků vykazovala nejvyšší naměřenou antioxidační aktivitu černá rýže ($3,76 \pm 0,05$ mg/g), ostatní vzorky se naměřenými hodnotami o tolik nelišily. Nejnižších hodnot nabývala červená rýže ($2,36 \pm 0,11$ mg/g)



Obrázek 6: Graf s naměřenou antioxidační aktivitou cereálních vzorků

Oproti cereálním vzorkům vykazovaly ovocné i zeleninové vzorky mnohem vyšší antioxidační aktivitu. Důvodem byl převážně obsah fenolických látek a flavonoidů měřených v předchozích kapitolách, které jsou přírodní antioxidanty. Nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku borůvky (40 ± 2 mg/g), tento vzorek měl i nejvyšší koncentrace fenolických látek. Zeleninové vzorky neobsahují tolik fenolických látek, proto je jejich antioxidační aktivita značně nižší než u ovoce. Nejvyšší antioxidační aktivitu ze zeleniny prokázala červená řepa ($8,9 \pm 0,6$ mg/g), která obsahovala větší množství fenolických látek v porovnání s ostatní zeleninou.

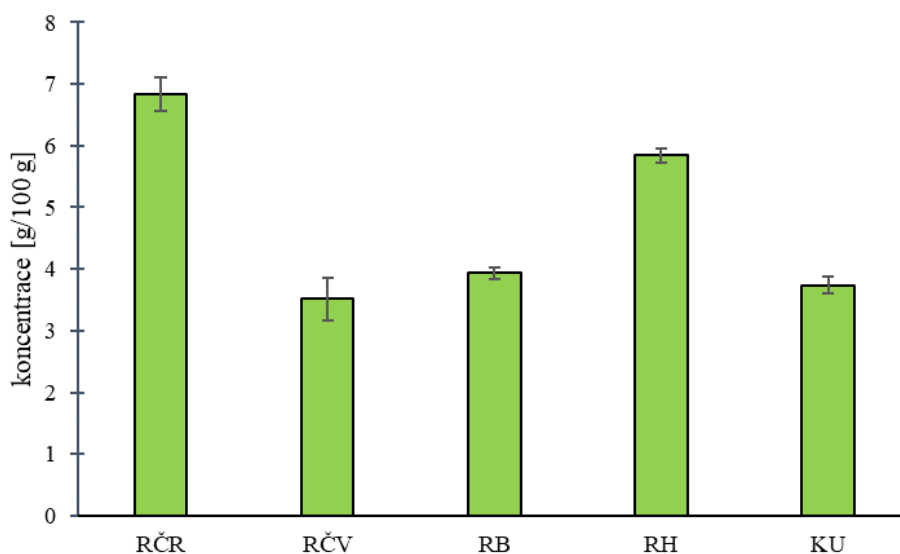


Obrázek 7: Graf s naměřenou antioxidační aktivitou ovocných a zeleninových vzorků

4.4 Stanovení proteinů dle Hartree-Lowryho

Stanovení ve vodě rozpustných proteinů bylo provedeno pouze u cereálních vzorků a bylo provedeno dle postupu v kapitole 3.9. Každý vzorek byl změřen třikrát a hodnoty absorbance byly zprůměrovány a dosazeny do rovnice kalibrační křivky (4). Celková koncentrace byla zobrazena v grafu (Obrázek 8).

Největší množství proteinů bylo stanoveno ve vzorku černé rýže ($6,8 \pm 0,3$ g/100 g) a hnědé rýže ($5,84 \pm 0,12$ g/100 g). Koncentrace proteinů v bílé rýži ($3,93 \pm 0,9$ g/100 g) a kukuřici ($3,74 \pm 0,13$ g/100 g) a červené rýži ($3,5 \pm 0,3$ g/100 g) byly téměř vyrovnané. V porovnání s údaji na obalu zapsané v tabulce (Tabulka 1) jsou naměřené hodnoty nižší. Rozdíl v hodnotách je způsoben tím, že v rámci tohoto měření byly stanovovány pouze ve vodě rozpustné proteiny, a ne celkové proteiny, jejichž hodnota je zapsána na obalu cereálních výrobků.

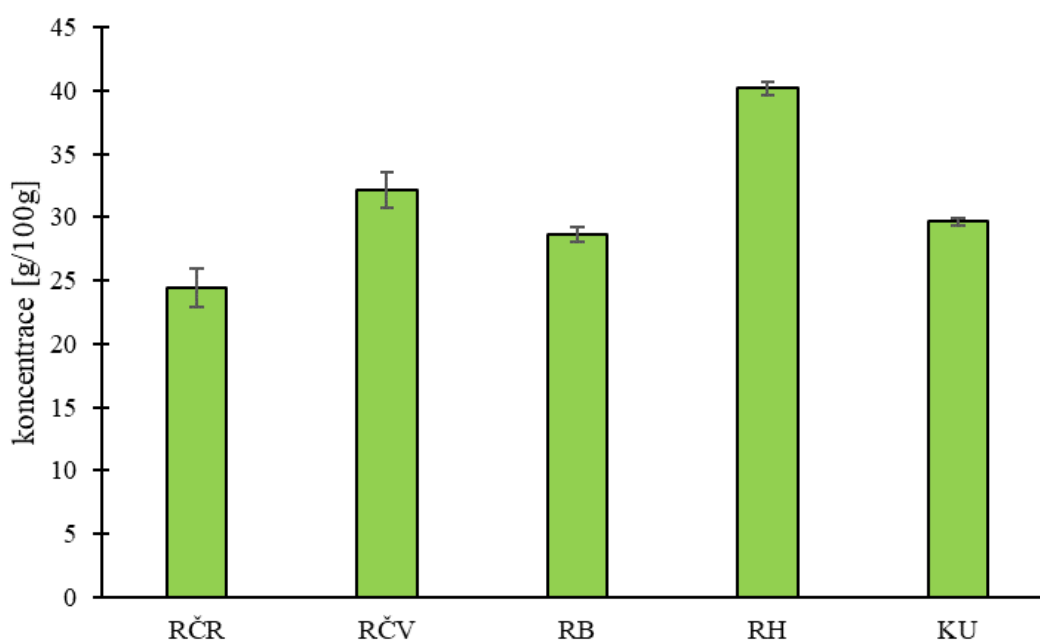


Obrázek 8: Graf s koncentrací proteinů v cereálních vzorcích

4.5 Stanovení celkových sacharidů dle Duboise

Obsah celkových sacharidů byl stanoven u cereálních vzorků spektrofotometrickou metodou popsanou v kapitole 3.10. Každý vzorek byl proměřen třikrát a průměrná hodnota absorbance byla následně dosazena do rovnice (5). Výsledné koncentrace sacharidů ve vzorcích byly zaznamenány v grafu (Obrázek 9).

Koncentrace celkových sacharidů v cereálních vzorcích se pohybovala v rozmezí 24–40 g/100 g. Nejvyšší koncentrace sacharidů byla u vzorku hnědé rýže (40,2±0,5 g/100 g) a nejnižší u vzorku černé rýže (24,4±1,5 g/100 g). V porovnání s hodnotami na obalu vzorků, kdy se hodnoty měly pohybovat v rozmezí 69–76 g/100 g (Tabulka 1), jsou hodnoty značně téměř poloviční. K chybě mohlo dojít díky degradaci cereálií v průběhu balení nebo při zpracování vzorku. K další chybě mohlo dojít při přípravě vzorků k měření.



Obrázek 9: Graf s koncentracemi celkových sacharidů v cereálních vzorcích

4.6 Stanovení mastných kyselin v cereáliích na GC

Obsah lipidů a zastoupení jednotlivých skupin mastných kyselin v cereálních vzorcích byl stanoven pomocí analýza na GC. Postup měření je uveden v kapitole 3.11 a naměřená data byla zpracována do tabulek uvedených níže.

Tabulka 13: Obsah lipidů v cereálních vzorcích v g/100 g

Vzorek	RČR	RČV	RB	RH	KU
obsah lipidů [g/100g]	1,572 ± 0,141	1,646 ± 0,076	0,488 ± 0,028	1,702 ± 0,055	1,441 ± 0,083

Tabulka 14: Procentuální zastoupení skupin mastných kyselin v cereálních vzorcích

Vzorek	RČR	RČV	RB	RH	KU
SFA [%]	26 ± 0,000	27 ± 0,001	39 ± 0,007	27 ± 0,003	19 ± 0,006
MUFA [%]	37 ± 0,001	38 ± 0,004	21 ± 0,003	34 ± 0,000	19 ± 0,009
PUFA [%]	37 ± 0,001	35 ± 0,003	40 ± 0,004	39 ± 0,003	62 ± 0,016

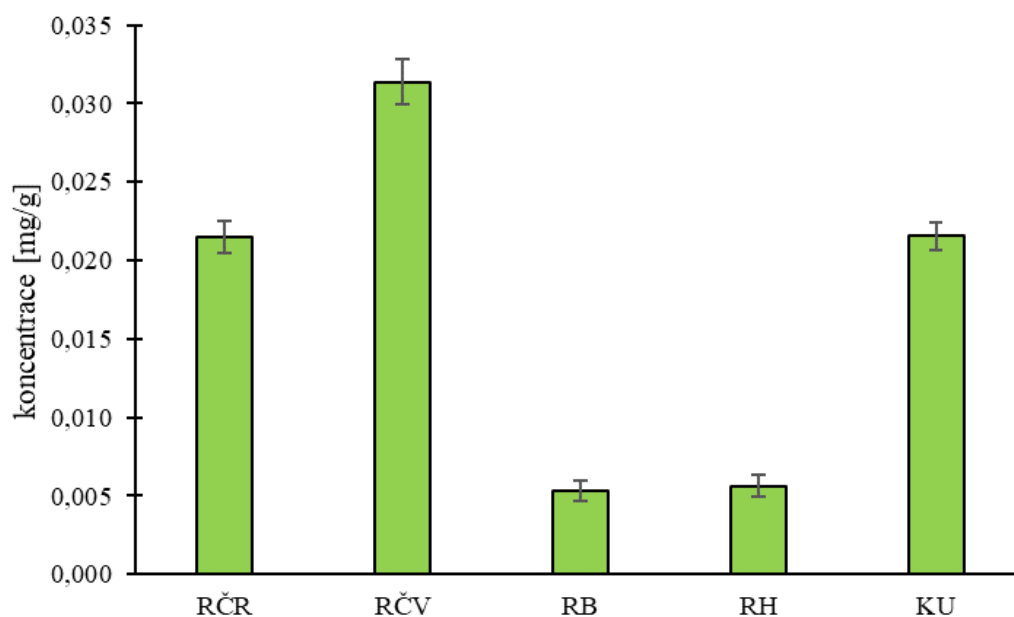
V tabulce (Tabulka 13) je možno vidět, že nejvyšší zastoupení lipidů obsahoval vzorek hnědé rýže (1,70 g/100 g) a nejnižší obsahoval vzorek bílé rýže (0,49 g/100 g). Naměřené hodnoty odpovídají údajům na obalech od výrobce uvedené v tabulce (Tabulka 1) až na vzorek bílé rýže. Hodnoty stanovené u ostatních vzorků byly nižší než údaje na obalu. Chyba mohla nastat z důvodu nedokonalé transesterifikace. Hodnoty mohly být ovlivněné také tím, že metoda měří jen mastné kyseliny, z jejichž hodnot se následně získá součet tuků.

V rámci jednotlivých kategorií bylo u vzorků zjišťováno procentuální zastoupení nasycených MK (SFA), mononenasycených MK (MUFA) a polynenasycených MK (PUFA). Výsledky byly zapsány do tabulky (Tabulka 14). Nejvyšší obsah SFA byl zaznamenán u vzorku bílé rýže (38,58 %), zároveň tento vzorek obsahoval poměrně malé množství MUFA (20,93 %). Nejnižší obsah SFA byl u vzorku kukuřice (18,55 %), který měl zároveň i nejnižší obsah MUFA (18,96 %), ale i nejvyšší obsah PUFA (62,49 %).

4.7 Stanovení antokyanů

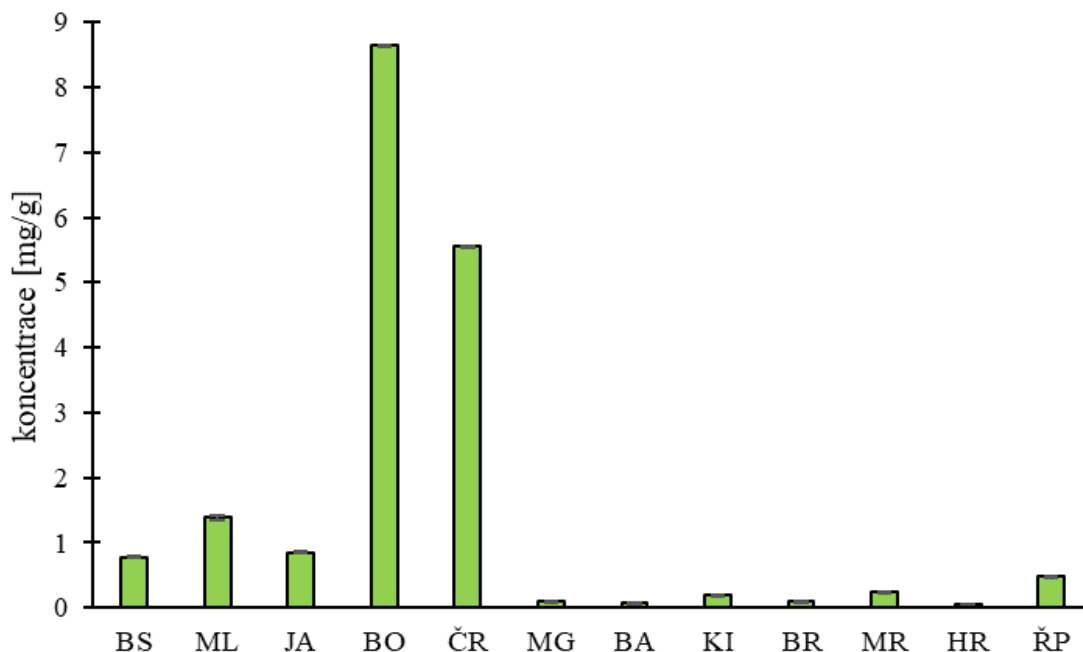
Obsah antokyanů v cereálních, ovocných a zeleninových vzorcích byl stanoven spektrofotometrickou metodou podle postupu v kapitole 3.12. Všechny vzorky byly měřeny třikrát a průměrná hodnota absorbance byla dosazena do kalibrační křivky (6). Výsledné hodnoty koncentrací byly zaznamenány do grafů (Obrázek 10 a Obrázek 11).

Obsah antokyanů v cereálních vzorcích byl velmi malý, koncentrace se pohybovala v řádu setin a tisícín mg/g. Nejvyšší koncentrace antokyanů byla podle očekávání naměřena u vzorku červené rýže (0,0314±0,0014 mg/g), jelikož jsou to barviva zodpovědná za červené a fialové zbarvení. Z téhož důvodu byly zaznamenány vyšší hodnoty i u černé rýže (0,0215±0,0009 mg/g). K srovnání, ve vzorku bílé rýže (0,0053±0,0006 mg/g) a hnědé rýže (0,0056±0,0007 mg/g) je množství antokyanů téměř zanedbatelné. Podle studie z roku 2012 bylo zjištěno, že v endospermu zrna rýže se nevyskytují žádné antokyaniny a dále, že obsah je převážně v otrubách, a to hlavně u pigmentovaných druhů rýže [71].



Obrázek 10: Graf s koncentrací antokyanů v cereálních vzorcích

U ovocných i zeleninových vzorků červeného a fialového zbarvení byla naměřena vyšší koncentrace antokyanů než u vzorků zelené, žluté či oranžové barvy. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u vzorku borůvka ($8,6459 \pm 0,0015$ mg/g) a černý rybíz ($5,563 \pm 0,004$ mg/g). Zeleninový vzorek, který měl vyšší koncentraci antokyanů, byl vzorek červené řepy ($0,487 \pm 0,006$ mg/g), i tak byla koncentrace nižší než v červeně zbarvených ovocných vzorcích (ML, JA, BS).

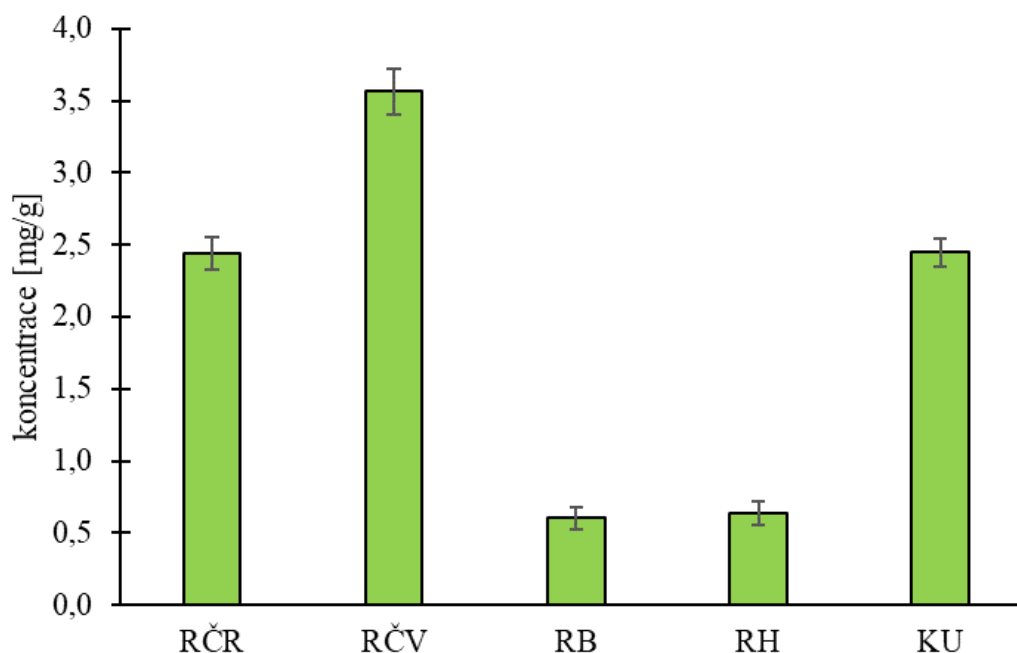


Obrázek 11: Graf s koncentrací antokyanů v ovocných a zeleninových vzorcích

4.8 Stanovení β -karotenů

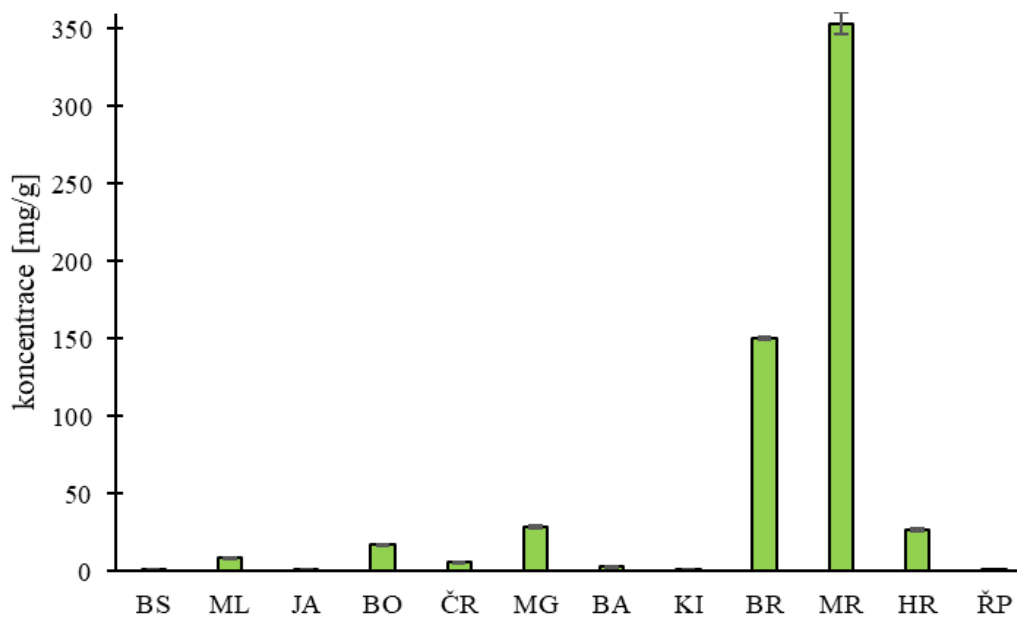
Celkový obsah β -karotenů v cereálních, ovocných a zeleninových vzorcích byl spektrofotometricky stanoven podle kapitoly 3.13. Každý vzorek byl proměřen třikrát a průměrná hodnota byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (7). Vypočítané hodnoty koncentrace β -karotenů ve všech vzorcích byly zaznamenány do grafů (Obrázek 12 a Obrázek 13).

Karotenoidy jsou oranžové a žlutá barviva, proto byl očekáván jejich nálezný v kukuřičném vzorku ($2,441 \pm 0,113$ mg/g). Toto množství se rovnalo množství naměřenému ve vzorku černé rýže ($2,441 \pm 0,113$ mg/g) avšak největší množství bylo naměřeno ve vzorku červené rýže ($3,56 \pm 0,16$ mg/g). Nejmenší množství bylo naměřeno u vzorků hnědé ($0,64 \pm 0,08$ mg/g) a bílé ($0,60 \pm 0,07$ mg/g), obdobně jako v předchozí kapitole 4.7.



Obrázek 12: Graf s koncentrací β -karotenů v cereálních vzorcích

Mezi ovocnými a zeleninovými vzorky byly koncentrace β -karotenů vyšší převážně u zeleniny. Nejvyšší koncentrace byla u vzorku mrkve ($353,4 \pm 7$ mg/g), což splnilo očekávání, jelikož mrkve je obecně známá pro velký obsah β -karotenů [60]. Mimo mrkve, další vzorek s velkým obsahem β -karotenů byla brokolice ($150,3 \pm 0,7$ mg/g). Nejmenší obsah z kategorie zeleniny i ovoce měl vzorek červené řepy ($0,39 \pm 0,5$ mg/g). Z ovocných vzorků obsahoval nejvyšší koncentraci vzorek manga ($28,6 \pm 0,7$ mg/g), koncentrace ostatních vzorků se pohybovaly v rozmezí 0,69–17,19 mg/g.



Obrázek 13: Graf s koncentrací β -karotenů v ovocných a zeleninových vzorcích

4.9 Stanovení lipofilních vitamínů metodou HPLC

Obsah lipofilních vitamínů ve vzorcích cereálií, ovoce a zeleniny byl stanoven pomocí metody HPLC popsané v kapitole 3.14. Každý vzorek byl analyzován dvakrát a z naměřených hodnot byla vypočítána koncentrace lipofilních látek obsažených ve vzorku (Tabulka 15, Tabulka 16, Tabulka 17)

V tabulce (Tabulka 15) je vidět, že v cereálních vzorcích nebylo velké množství lipofilních metabolitů. Téměř ve všech se vyskytoval ubiquinon, v největším množství ve vzorku hnědé rýže ($81,747 \pm 5,733 \mu\text{g/g}$). Ubichinon neboli koenzym Q se vyskytuje téměř ve všech potravinách, nejvíce ale ve vnitřnostech, hovězím mase či rybách a v listových rostlinách jako je špenát, petržel, zelí [72]58. Oproti cereáliím byla koncentrace ubiquinonu v ovoci a zelenině výrazně vyšší (Tabulka 16, Tabulka 17). Nejvyšší koncentrace ubiquinonu v ovoci byla naměřena u brusinky ($2414,550 \pm 88,425 \mu\text{g/g}$) a v zelenině u vzorku mrkve ($1084,169 \pm 22,597 \mu\text{g/g}$).

Lutein je žlutooranžové barvivo patřící do skupiny karotenoidů, vyskytuje se převážně ve vaječném žloutku, ale také například ve špenátu, kukuřici a brokolici [73]. U měřených vzorků se lutein vyskytoval v největším množství u brokolice ($74,720 \pm 3,403 \mu\text{g/g}$), zeleného hrachu ($18,270 \pm 0,532 \mu\text{g/g}$) a u kukuřice ($4,442 \pm 0,153 \mu\text{g/g}$). Dále se vyskytoval ve stopovém množství i u vzorků maliny, banánu, kiwi a mrkve.

β -karoten, nejvýznamnější zástupce karotenoidů, se vyskytuje hlavně v mrkvi. Tento fakt byl potvrzen i při měření, kdy nejvyšší koncentrace byla naměřena u vzorku mrkve ($899,190 \pm 20,092 \mu\text{g/g}$). Ve větším množství byl naměřen i u vzorku brokolice ($186,901 \pm 1,809 \mu\text{g/g}$) a manga ($160,392 \pm 4,696 \mu\text{g/g}$). Dále byl naměřen i u vzorků maliny, banán, kiwi a zeleného hrachu.

Mezi další významné barviva patří i zelené barvivo chlorofyl. V rámci měření byly stanovovány koncentrace chlorofylu a a chlorofylu b. Podle očekávání byla nejvyšší koncentrace chlorofylů naměřena u zeleninových vzorků zelené barvy. Koncentrace chlorofylu a byla nejvyšší u vzorku brokolice ($616,565 \pm 18,472 \mu\text{g/g}$) a u vzorku zeleného hrachu ($117,338 \pm 3,974 \mu\text{g/g}$). Dále byl nalezen u i vzorků černé rýže, brusinky, jahody, borůvky, černého rybízu, maliny, kiwi, mrkve a řepy. Chlorofyl b se v největším množství vyskytoval také u vzorku brokolice ($390,086 \pm 12,997 \mu\text{g/g}$). V menším množství byl nalezen u vzorků mango, kiwi, mrkev a zelený hrách, v minimálním množství pak u vzorku hnědé rýže, brusinky a banánu.

Tokoferol neboli vitamín E, měl nejvyšší naměřenou koncentraci ve vzorku manga ($364,755 \pm 15,749 \mu\text{g/g}$) a brusinky ($217,673 \pm 2,229 \mu\text{g/g}$). Dále se vyskytoval i ve vzorku bílé rýže ($75,984 \pm 1,514 \mu\text{g/g}$), banánu ($71,511 \pm 4,123 \mu\text{g/g}$) a jahody ($10,323 \pm 0,190 \mu\text{g/g}$).

Tabulka 15: Lipofilní vitamíny v cereálních vzorcích

Metabolity [$\mu\text{g/g}$]	RČR	RČV	RB	RH	KU
β -karoten	-	-	-	-	-
Ergosterol	-	-	-	-	-
Chlorofyl A	$1,426 \pm 0,078$	-	-	-	-
Chlorofyl B	-	-	-	$0,062 \pm 0,007$	-
Lutein	-	-	-	-	$4,442 \pm 0,153$
Tokoferol	-	-	$75,984 \pm 1,514$	-	-
Torulen	-	-	-	-	-
Ubichinon	$137,599 \pm 8,035$	$81,747 \pm 5,733$	-	$318,019 \pm 8,905$	$170,312 \pm 8,051$
Violaxantin	-	-	-	-	-

Tabulka 16: Lipofilní vitamíny v ovocných vzorcích

Metabolity [$\mu\text{g/g}$]	BS	ML	JA	BO
β -karoten	-	$21,169 \pm 1,078$	-	-
Ergosterol	-	$28,964 \pm 0,547$	-	$13,313 \pm 0,963$
Chlorofyl A	$0,790 \pm 0,047$	-	$2,259 \pm 0,116$	$54,851 \pm 2,816$
Chlorofyl B	$0,121 \pm 0,009$	-	-	-
Lutein	-	$0,245 \pm 0,015$	-	-
Tokoferol	$217,673 \pm 2,229$	-	$10,323 \pm 0,190$	-
Torulen	-	$18,999 \pm 0,154$	-	-
Ubichinon	$2414,550 \pm 88,425$	$230,636 \pm 5,504$	$55,078 \pm 1,518$	$598,533 \pm 10,034$
Violaxantin	-	$2,561 \pm 0,031$	-	-
Metabolity [$\mu\text{g/g}$]	ČR	MG	BA	KI
β -karoten	-	$160,392 \pm 4,696$	$9,199 \pm 0,447$	$77,172 \pm 5,172$
Ergosterol	$20,256 \pm 0,679$	$15,458 \pm 0,610$	-	$2,271 \pm 0,052$
Chlorofyl A	$36,493 \pm 1,502$	$11,064 \pm 0,391$	-	$4,975 \pm 0,101$
Chlorofyl B	-	$15,119 \pm 0,974$	$0,126 \pm 0,014$	$6,167 \pm 0,358$
Lutein	-	-	$0,384 \pm 0,032$	$0,487 \pm 0,039$
Tokoferol	-	$364,755 \pm 15,749$	$71,511 \pm 4,123$	-
Torulen	-	-	-	-
Ubichinon	$57,292 \pm 4,307$	$1017,749 \pm 48,977$	$281,671 \pm 9,085$	$143,569 \pm 6,508$
Violaxantin	-	-	-	-

Tabulka 17: Lipofilní vitamíny v zeleninových vzorcích

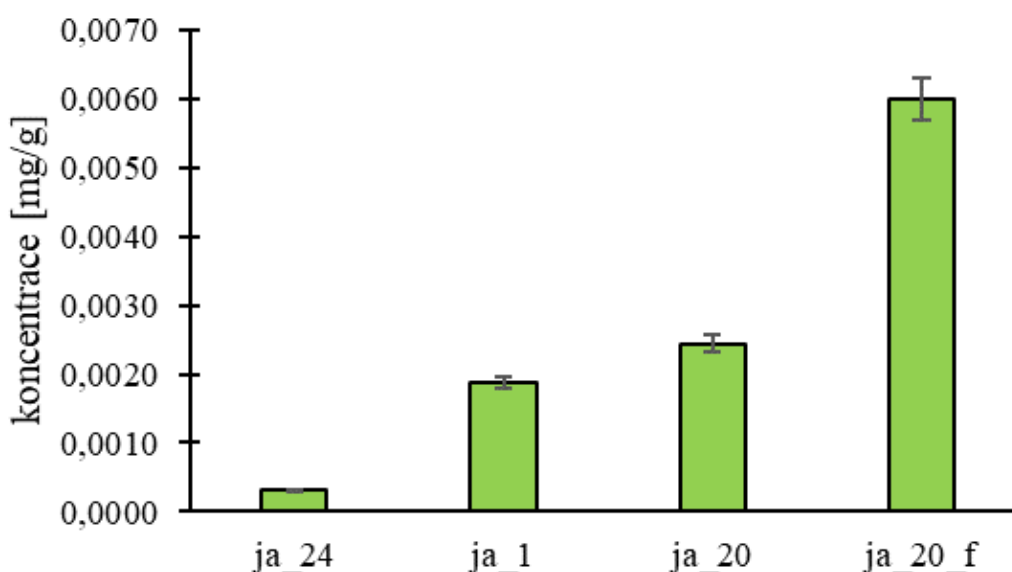
Metabolity [$\mu\text{g/g}$]	BR	MR	HR	ŘP
β -karoten	$186,901 \pm 1,809$	$899,190 \pm 20,092$	$5,052 \pm 0,162$	-
Ergosterol	-	-	-	-
Chlorofyl A	$616,565 \pm 18,472$	$16,767 \pm 0,895$	$117,338 \pm 3,974$	$0,067 \pm 0,003$
Chlorofyl B	$390,086 \pm 12,997$	$46,289 \pm 2,474$	$64,192 \pm 3,037$	-
Lutein	$74,720 \pm 3,403$	$2,192 \pm 0,149$	$18,270 \pm 0,532$	-
Tokoferol	-	-	-	-
Torulen	-	$24,359 \pm 0,888$	-	-
Ubichinon	$225,433 \pm 5,522$	$1084,169 \pm 22,597$	$338,911 \pm 22,441$	$127,792 \pm 5,204$
Violaxantin	$40,996 \pm 2,257$	-	-	-

4.10 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC

4.10.1 Výsledky optimalizace extrakce

Před stanovením koncentrace kyseliny askorbové v ovocných a zeleninových vzorcích byla provedena optimalizace extrakcí popsaná v kapitole 3.5.4. Pro optimalizaci byl vybrán vzorek jahody, který podle literatury měl obsahovat větší množství kyseliny askorbové [53]. Každý vzorek byl proměřen dvakrát a průměrná hodnota plochy píku byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (8). Výsledné hodnoty koncentrace kyseliny askorbové byly dosazeny do grafu (Obrázek 14).

Z grafu je viditelné, že nejvyšší koncentrace byla naměřena při použití čtvrté metody, kdy se navážka vzorku smíchala s 2% kyselinou fosforečnou. Tato extrakce byla následně využita pro naměření koncentrace u všech ovocných a zeleninových vzorků.

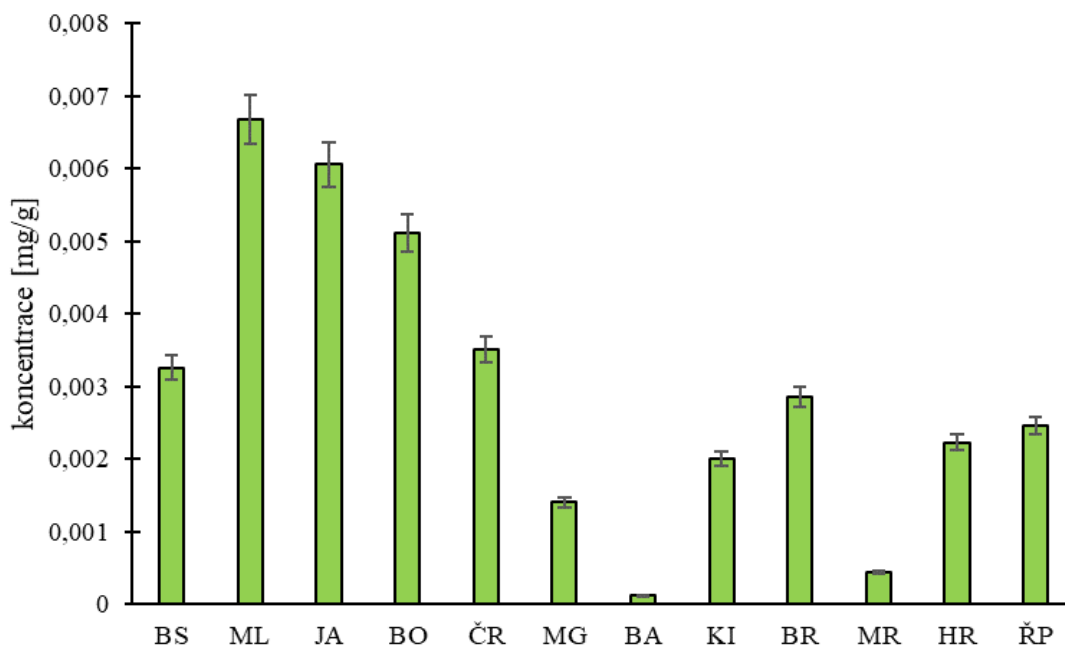


Obrázek 14: Graf s koncentracemi kyseliny askorbové při použití různých extrakčních metod

4.10.2 Stanovení kyseliny askorbové v ovocných a zeleninových vzorcích

Obsah kyseliny askorbové v ovocných a zeleninových vzorcích byl stanoven podle metody HPLC popsané v kapitole 3.15. Každý vzorek byl změřen dvakrát a naměřené hodnoty byly zprůměrovány a dosazeny do rovnice kalibrační křivky (8). Výsledné koncentrace kyseliny askorbové ve vzorcích byly zaznamenány do grafu (Obrázek 15).

V ovocných vzorcích byla nejvyšší koncentrace naměřená u vzorku maliny ($6,68 \pm 0,16 \cdot 10^{-3}$ mg/ml) a jahody ($6,05 \pm 0,33 \cdot 10^{-3}$ mg/g), nejnižší u vzorku banánu ($1,2 \pm 0,06 \cdot 10^{-4}$ mg/g). U zeleninových vzorků byla koncentrace u vzorků brokolice ($2,85 \pm 0,14 \cdot 10^{-3}$ mg/g), zeleného hrachu ($2,23 \pm 0,11 \cdot 10^{-3}$ mg/g) a červené řepy ($2,46 \pm 0,12 \cdot 10^{-3}$ mg/g) podobná. Nejnižší koncentrace byla u vzorku mrkve ($4,41 \pm 0,02 \cdot 10^{-4}$ mg/g).



Obrázek 15: Graf s naměřenou koncentrací kyseliny askorbové v ovocných a zeleninových vzorcích

4.11 Stanovení lepku

Stanovení koncentrace lepku v cereálních vzorcích proběhlo postupem popsaným v kapitole 3.16. Každý vzorek byl proměřen třikrát a průměrné naměřené hodnoty byly dosazeny do rovnice kalibrační křivky (9). Po dosazení do rovnice byla zjištěna koncentrace gliadinu ve vzorcích, která byla přepočtena na koncentraci lepku a převedena na jednotku mg/kg. Koncentrace lepku ve vzorcích byla zapsána do tabulky (Tabulka 18)

Podle literatury přiložené k postupu v kitu jsou produkty považovány za bezlepkové v případě, že obsahují méně než 20 mg/kg lepku. Produkty s obsahem lepku v rozmezí 20–100 mg/kg jsou označovány jako produkty s velmi nízkým obsahem lepku. Do kategorie bezlepkové produkty spadaly vzorky černé ($9,52 \pm 0,02$ mg/kg), červené ($1,70 \pm 0,07$ mg/kg) a bílé ($9,88 \pm 0,08$ mg/kg) rýže. Vzorky hnědé rýže ($33,30 \pm 0,03$ mg/kg) a kukuřice ($29,39 \pm 0,07$ mg/kg) by na základě měření měly být zařazeny do kategorie produkty s velmi nízkým obsahem lepku. Vyšší přítomnost lepku mohla být způsobena kontaminací v procesu výroby a balení nebo v průběhu analýzy.

Tabulka 18: Naměřené koncentrace lepku v cereálních vzorcích

vzorek	RČR	RČV	RB	RH	KU
c gluten [mg/kg]	$9,52 \pm 0,02$	$1,7 \pm 0,07$	$9,88 \pm 0,08$	$33,3 \pm 0,03$	$29,39 \pm 0,07$

4.12 Stanovení β -glukanů

Obsah β -glukanů v cereálních vzorcích byl stanoven podle postupu v kapitole 3.17. K stanovení byl využit enzymatický kit od společnosti Megazyme. Obsah β -glukanů byl zjištěn pomocí výpočtu uvedeném v návodu přiloženém ke kitu. Kromě vzorků byly změřeny i kontrolní vzorky ovsu a ječmene. Z hodnot absorbance byl stanoven obsah β -glukanů ve vzorku pomocí výpočtového excelu od výrobce kitu (Tabulka 19).

Obsah β -glukanů ve vzorcích se pohyboval v rozsahu 0,021–0,062 g/100 g. Nejvyšší koncentrace byla u vzorku černě rýže (0,062±0,017 g/100 g) a nejnižší koncentrace byla u vzorku hnědě rýže (0,021±0,007 g/100 g). V porovnání s kontrolními vzorky ovesa a ječmene jsou hodnoty velmi nízké.

Tabulka 19: Procentuální obsah β -glukanů v cereálních vzorcích

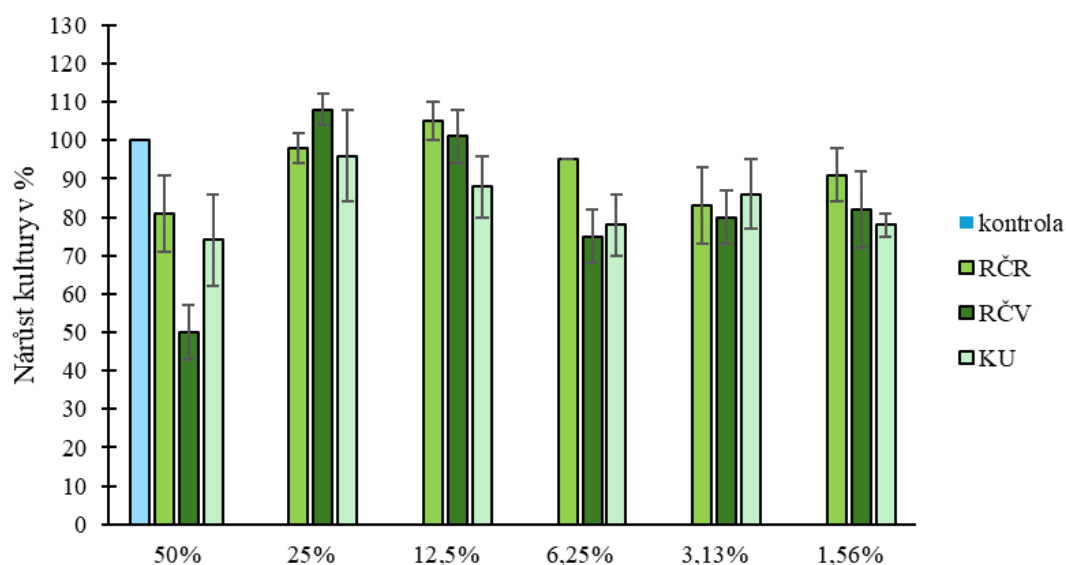
Vzorek	β -glukany [g/100 g]
RČR	0,062 ± 0,017
RČV	0,030 ± 0,008
RB	0,042 ± 0,011
RH	0,021 ± 0,007
KU	0,052 ± 0,011
Oves	6,495 ± 0,325
Ječmen	4,0483 ± 0,202

4.13 Antimikrobiální testy

Antimikrobiální aktivita vodných extraktů vybraných cereálií, ovoce a zeleniny byla testována na dvou kmenech bakterie – *Micrococcus luteus* a *Serratia marcescens*. Byla prováděna diluční metoda popsaná v kapitole 3.18.3. Naměřené data byly zpracovány podle účinků na grampozitivní kmen *Micrococcus luteus* a účinků na gramnegativní kmen *Serratia marcescens*. Připravené cereální extrakty měly koncentraci 0,1 mg/ml a ovocné a zeleninové extrakty měly koncentraci 0,01 mg/ml. Vzorky byly vhodně naředěné, aby vznikla koncentrační škála, u které byla antimikrobiální aktivita.

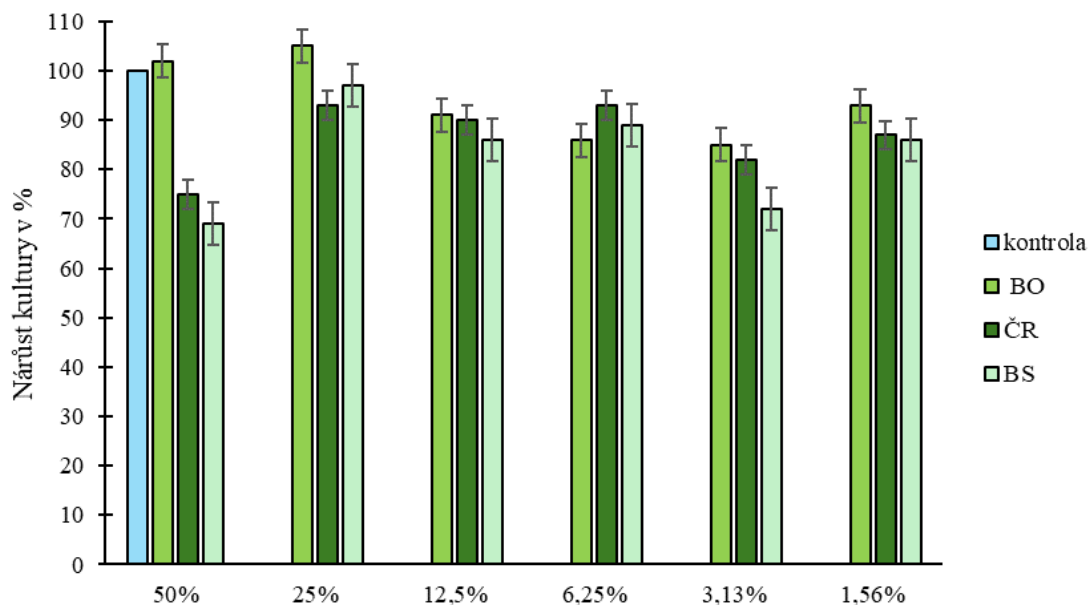
4.13.1 Kmen *Micrococcus luteus*

V grafu (Obrázek 16) byla zobrazena antimikrobiální účinnost cereálních extraktů na bakterii *Micrococcus luteus*. Účinnost byla srovnávána s kontrolním vzorkem a všechny vzorky vykazaly antimikrobiální účinnost hlavně při 50% koncentraci. U 25% a 12,5% koncentrace antimikrobiální účinnost téměř nebyla, důvodem mohla být kontaminace. Nejvyšší účinnost z testovaných cereálií měl vzorek červené rýže.



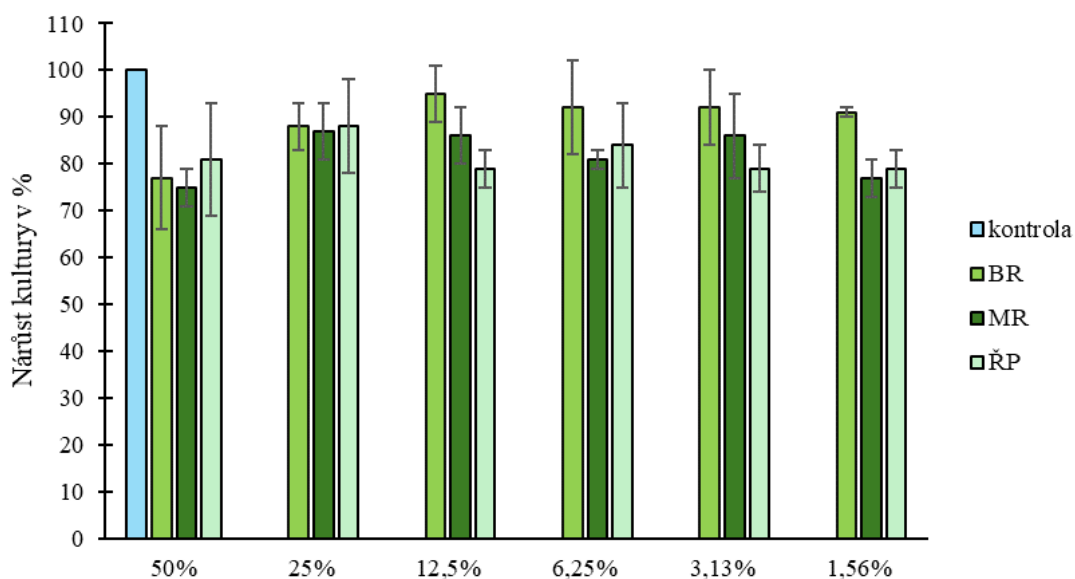
Obrázek 16: Antimikrobiální test cereálních extraktů – *Micrococcus luteus*

V grafu (Obrázek 17) byla zpracována antimikrobiální účinnost ovocných extraktů na bakterii *Micrococcus luteus*. Účinnost byla srovnávána s kontrolním vzorkem a vzorek borůvky nevykazoval antimikrobiální účinky. Antimikrobiální účinnost 50% vzorků černého rybízu a brusinky se pohybovala kolem 30 %.



Obrázek 17: Antimikrobiální test ovocných extraktů – *Micrococcus luteus*

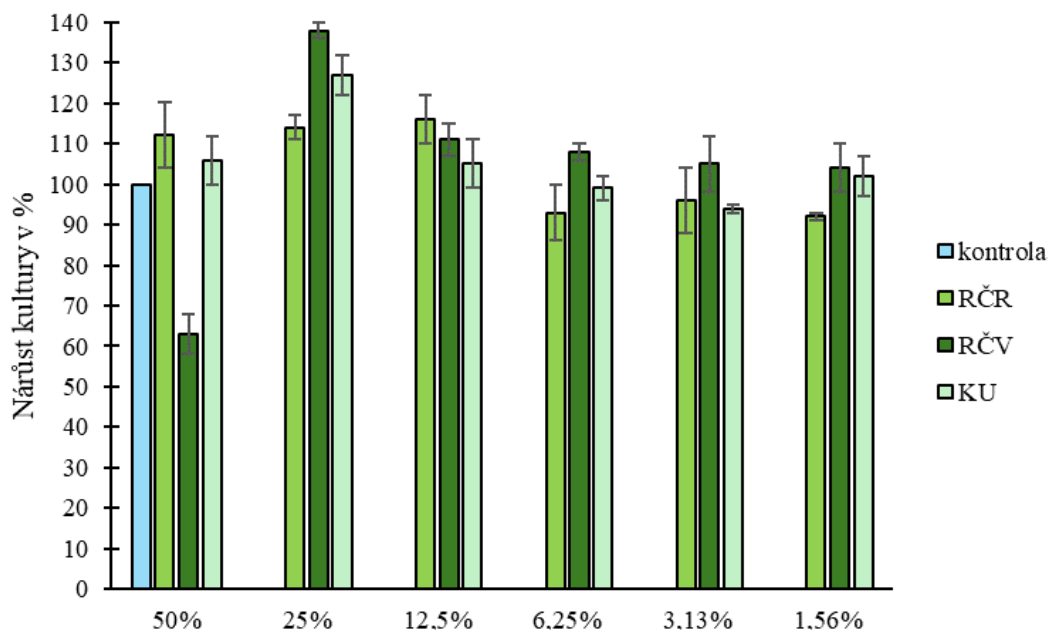
V grafu (Obrázek 18) byla zobrazena antimikrobiální účinnost zeleninových extraktů na bakterii *Micrococcus luteus*. Antimikrobiální účinnost byla srovnávána s kontrolním vzorkem a všechny zeleninové vzorky vykazovaly antimikrobiální aktivitu, nejvyšší byla prokázána u 50% vzorků.



Obrázek 18: Antimikrobiální test zeleninových extraktů – *Micrococcus luteus*

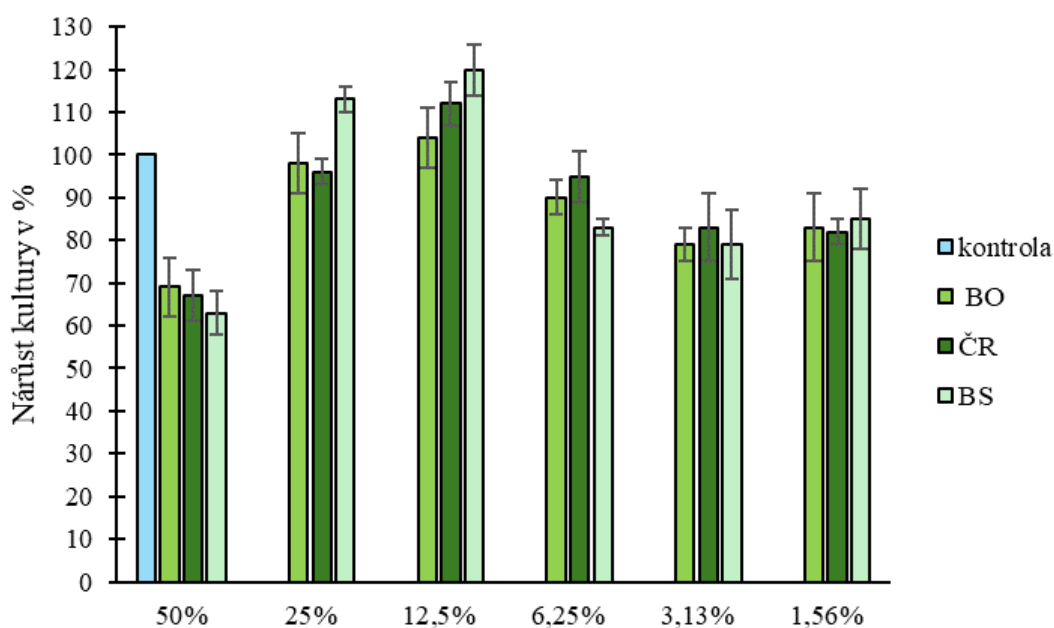
4.13.2 Kmen *Serratia marcescens*

Antimikrobiální účinnost u cereálních extraktů na *Serratia marcescens* byla zobrazená v grafu (Obrázek 19). Z grafu lze vidět, že vzorky černé rýže a kukuřice nevykazovaly žádnou antimikrobiální aktivitu. Vzorek červené rýže vykazoval skoro 40 % antimikrobiální aktivitu jen v 50% koncentraci.



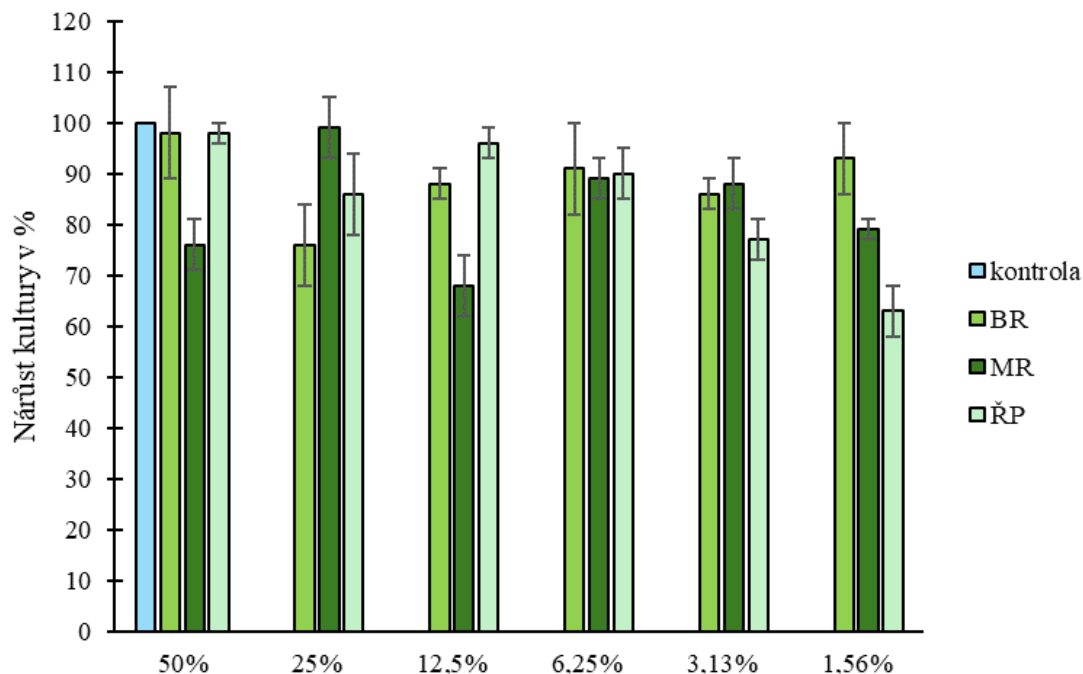
Obrázek 19: Antimikrobiální test cereálních extraktů – *Serratia marcescens*

V grafu (Obrázek 20) byla zobrazena antimikrobiální aktivita ovocných extraktů na *Serratia marcescens*. Všechny ovocné vzorky prokázovaly antimikrobiální účinnost pouze v 50% koncentraci. Ve vzorcích s 25% a 12,5% koncentrací antimikrobiální aktivita nebyla prokázána, ale ve více zředěných vzorcích nízká antimikrobiální aktivita byla. U méně zředěných vzorků mohlo dojít ke kontaminaci.



Obrázek 20: Antimikrobiální test ovocných extraktů – *Serratia marcescens*

V grafu (Obrázek 21) byla zobrazena antimikrobiální účinnost zeleninových extraktů na bakterii *Serratia marcescens*. Antimikrobiální účinnost byla srovnávána s kontrolním vzorkem a u vzorků brokolice a červené řepy se antimikrobiální aktivita pohybovala kolem 98 % u extraktu s koncentrací 50 %. Nejvyšší antimikrobiální účinnost vykazoval vzorek mrkve.



Obrázek 21: Antimikrobiální test zeleninových extraktů – *Serratia marcescens*

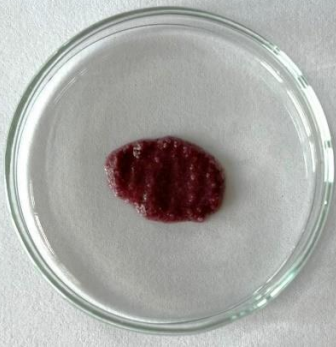

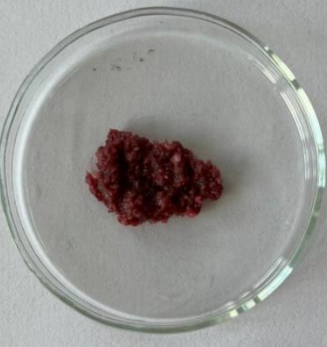

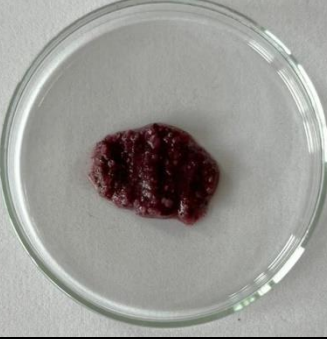




4.14 Analýza směsí


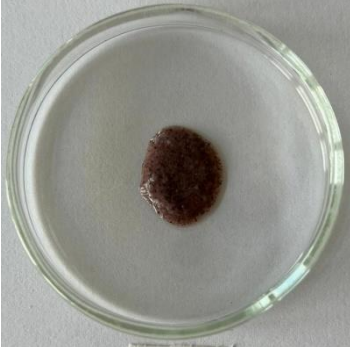

Směsi byly vytvořeny podle postupu zapsaného v kapitole 3.19. Vzorky byly následně podrobeny vizuální a čichové senzorce (Tabulka 21) a také testům pro spektrofotometrické stanovení polyfenolů a antioxidační aktivity.

Tabulka 20: Soupis vzorků obsažených ve směsích

A	RČR + ČR
B	RČR + BO
C	RČR + ŘP
D	RČR + BR
E	RČR + ČR + BO
F	RČR + ŘP + BR
G	RČR + ČR + ŘP
H	RČR + KU + ČR + BO
I	RČR + KU + ŘP + BR
J	RČR + KU + ČR + ŘP
X	RČR kontrola
Y	RČR + KU kontrola

Tabulka 21: Analýza směsí

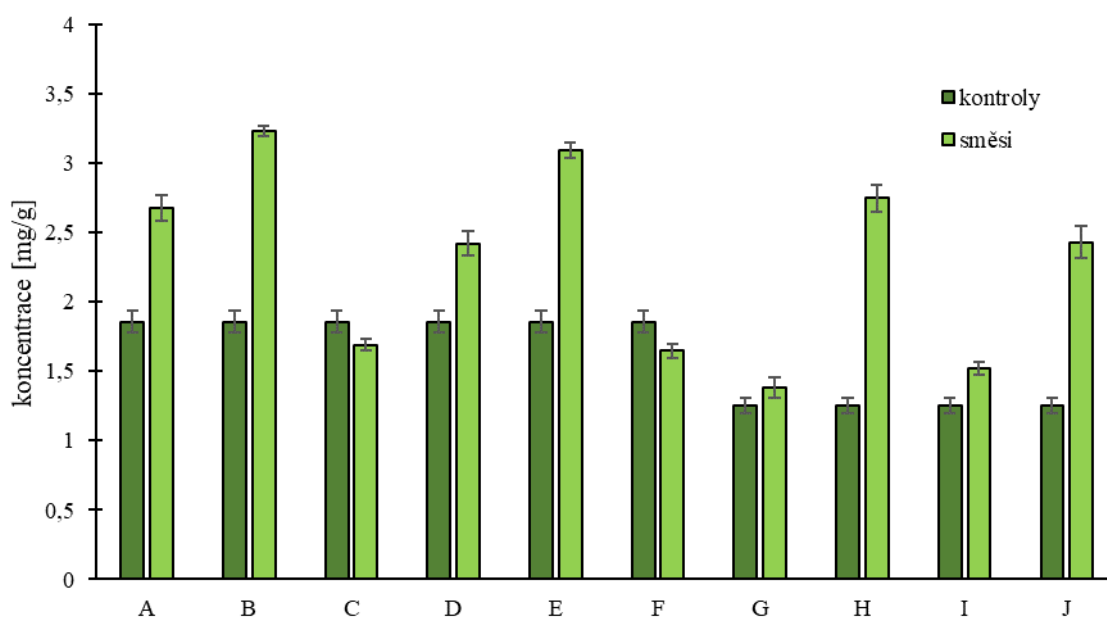
A	B	C
		
Tmavě červená barva, silná vůně černého rybízu.	Tmavě fialová, skoro černá barva, silná vůně borůvek.	Červená barva, nevýrazná vůně červené řepy.
D	E	F
		
Hnědá barva se zeleným nádechem, nepříjemná vůně.	Tmavá vínová barva, příjemná výrazná vůně.	Červená barva se stopami zelené, nepříjemná vůně.
G	H	I
		
Tmavě červená barva, příjemná vůně černého rybízu.	Tmavě červenohnědá barva, příjemná vůně lesního ovoce.	Převážně červená barva se stopami zelené a hnědé barvy, nepříjemná vůně kombinace vzorků.

J	X	Y
		
Tmavě červená barva, příjemná vůně převážně černého rybízu.	Tmavě hnědá až černá barva, výrazná vůně rýže.	Žlutohnědá barva, nepříjemná vůně.

4.14.1 Stanovení celkových polyfenolů u směsí

Celkový obsah polyfenolů ve vzorcích směsí byl stanoven spektrofotometrickou metodou popsanou v kapitole 3.7. Všechny vzorky byly proměřeny třikrát a průměrná hodnota absorbance byla dosazena do kalibrační křivky (). Výsledné hodnoty koncentrace polyfenolů byly zaznamenány do grafu (Obrázek 22), kde byly srovnávány s kontrolními vzorky bez přídavku ovoce nebo zeleniny.

U všech vzorků, kde je příměsí borůvka (B, E, H) došlo k velkému nárůstů polyfenolů oproti kontrolnímu vzorku s čistým cereálním základem. Další příměsí, která navyšovala koncentraci polyfenolů u směsí, byl vzorek černého rybízu (A, E, H, J). U vzorků C a F došlo k malému snížení koncentrace polyfenolů. Zde mohlo dojít k chybě při měření nebo k degradaci při přípravě kaše či v procesu lyofilizace, jelikož vzorek červené řepy i brokolice, které byly do směsí přidány, podle kapitoly 4.2 měly vyšší koncentraci polyfenolů, tudíž by měly koncentraci ve směsích také navýšit.

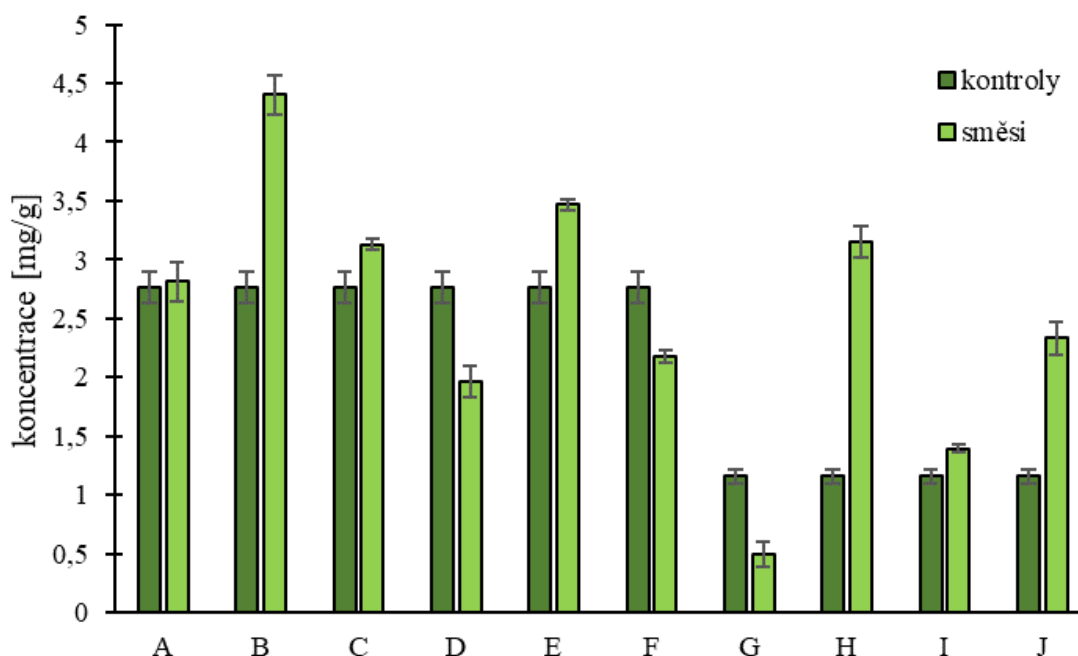


Obrázek 22: Graf s koncentrací polyfenolů ve směsích

4.14.2 Stanovení antioxidační aktivity u směsí

Antioxidační aktivita ve směsích byla spektrofotometricky stanovena podle postupu v kapitole 3.8. Každý vzorek byl měřen třikrát a průměrná hodnota absorbance byla dosazena do rovnice kalibrační křivky (3) a hodnoty antioxidační aktivity byly zobrazeny do grafu (Obrázek 23), kde byly srovnávány s kontrolním vzorkem. Výsledné koncentrace jsou vyjádřené v mg ekvivalentu Troloxu na g vzorku.

Hodnoty antioxidační aktivity směsí s ovocnou nebo zeleninovou příměsí byly srovnávány s kontrolními vzorky, které obsahovaly pouze cereální základ. U směsí D, F, G došlo k poklesu antioxidační aktivity. Tyto vzorky obsahovaly buď brokolici, která snižovala antioxidační aktivitu (D) nebo červenou řepu. Pokles mohl být způsoben degradací při tvorbě kaší nebo v procesu lyofilizace či v průběhu měření. Nejvyšší nárůst antioxidační aktivity byl zaznamenán převážně u vzorků obsahující příměs borůvky (B, E, H, J).



Obrázek 23: Graf s naměřenou antioxidační aktivitou ve směsích

5 ZÁVĚR

Bakalářská práce byla zaměřena na vývoj cereálních výrobků pro zvláštní výživu s přidavkem ovocné a zeleninové složky. Nejznámějšími bezlepkovými cereáliemi jsou rýže, kukuřice, čirok, proso a jáhly. Vybranými bezlepkovými cereáliemi pro tuto práci byla černá, červená, hnědá a bílá rýže a kukuřice. Jako obohacující prvek bylo pro tuto práci vybráno osm druhů ovoce (brusinka, malina, jahoda, borůvka, černý rybíz, mango, banán, kiwi) a čtyři druhy zeleniny (brokolice, mrkev, zelený hrášek, červená řepa). Všechny cereální, ovocné a zeleninové vzorky byly podrobeny analýzám a ze získaných výsledků byly vybrány nejzajímavější vzorky cereálií, ovoce a zeleniny, které byly použity na přípravu obohacených cereálních produktů.

V experimentální části byly cereální vzorky podrobeny několika analýzám. Ve vzorcích byla stanovena koncentrace flavonoidů, kdy nejvyšší koncentrace byla ve vzorku černé rýže ($0,389 \pm 0,017$ mg/g) a nejnižší ve vzorku bílé rýže ($0,040 \pm 0,003$ mg/g). Další analyzovanou složkou byly polyfenoly, nejvyšší koncentrace byla opět u vzorku černé rýže ($1,68 \pm 0,07$ mg/g) a nejnižší u vzorku bílé rýže ($0,47 \pm 0,04$ mg/g). Při stanovení antioxidační aktivity u cereálních vzorků vykazoval nejlepší výsledky vzorek černé rýže ($3,76 \pm 0,05$ mg/g) a nejnižších hodnot nabýval vzorek červené rýže ($2,36 \pm 0,11$ mg/g). Obsah ve vodě rozpustných proteinů ve vzorcích byl stanoven Hartree-Lowryho metodou a nejvyšší koncentrace proteinů byla naměřena u vzorku černé rýže ($6,8 \pm 0,3$ g/100 g). Dále byl stanoven obsah celkových sacharidů v cereálních vzorcích a nejvyšší koncentraci sacharidů zde měl vzorek hnědé rýže ($40,2 \pm 0,5$ g/100 g). Pomocí analýzy na GC byl stanoven obsah lipidů a také zastoupení skupin mastných kyselin ve vzorcích. Nejvyšší obsah lipidů obsahoval vzorek hnědé rýže ($1,70$ g/100 g) a nejnižší obsahoval vzorek bílé rýže ($0,49$ g/100 g). Spektrofotometrickou metodou byl stanoven obsah antokyanů a β -karotenů. Nejvyšší koncentrace antokyanů ($0,0314 \pm 0,0014$ mg/g) i β -karotenů ($3,56 \pm 0,16$ mg/g) byla naměřena u vzorku červené rýže. Pomocí analýzy na HPLC byl stanoven obsah lipofilních vitamínů u cereálních vzorků. Ve všech vzorcích až na bílou rýži byl nalezen ubiquinol. V bílé rýži byla naměřena poměrně vysoká koncentrace tokoferolu ($75,984 \pm 1,514$ μ g/g). U ostatních vzorků byly ve stopovém množství nalezeny další lipofilní metabolity jako chlorofyl A, chlorofyl B nebo lutein. Všechny ostatní vzorky byly testovány i na obsah lepku. Vzorky černé, červené a bílé rýže byly na základě tohoto měření zařadily do kategorie bezlepkových produktů, vzorky hnědé rýže a kukuřice kvůli mírně zvýšené koncentraci lepku byly zařazeny do kategorie produktů s velmi nízkým obsahem lepku. Při stanovení β -glukanů v cereálních vzorcích bylo zjištěno velmi nízký obsah těchto látek v rozsahu $0,021$ – $0,062$ g/100 g. Vybrané vzorky cereálií (černá a červená rýže a kukuřice) byly podrobeny antimikrobiálním testům na dvou kmenech bakterií – *Micrococcus luteus* a *Serratia marcescens*. Všechny vzorky prokázaly antimikrobiální účinky na grampozitivní kmen *Micrococcus luteus* a pouze vzorek červené rýže prokázal antimikrobiální účinnost na gramnegativní kmen *Serratia marcescens*.

Další částí experimentální části byla analýza ovocných a zeleninových vzorků. Ve vzorcích byla spektrofotometrickými metodami stanovena koncentrace bioaktivních látek, konkrétně flavonoidů, polyfenolů, antioxidantů, antokyanů a β -karotenů. Nejvyšší koncentrace flavonoidů byla naměřena u ovocných vzorků borůvky ($5,36 \pm 0,12$ mg/g), brusinky ($4,62 \pm 0,17$ mg/g) a

černého rybízu ($3,23 \pm 0,09$ mg/g) a zeleninového vzorku červené řepy ($1,74 \pm 0,03$ mg/g). Nejvyšší koncentrace polyfenolů byla u ovoce ve vzorku borůvky ($30,9 \pm 1,8$ mg/g), černého rybízu ($26,4 \pm 0,3$ mg/g), u zeleniny ve vzorku brokolice ($10,4 \pm 0,3$ mg/g) a červené řepy ($8,25 \pm 0,08$ mg/g). Antioxidační aktivita dosáhla nejvyšších hodnot u ovocného vzorku borůvky (40 ± 2 mg/g) a ze zeleniny měl nejvyšší hodnotu vzorek červené řepy ($8,9 \pm 0,6$ mg/g). Nejvyšší obsah antokyanů byl naměřen u vzorků borůvka ($8,6459 \pm 0,0015$ mg/g) a černý rybíz ($5,563 \pm 0,004$ mg/g). Ve vzorku mango ($28,6 \pm 0,7$ mg/g) a vzorku mrkve ($353,4 \pm 7$ mg/g) byla naměřena nejvyšší koncentrace β -karotenů za jejich příslušné kategorie. Pomocí analýzy na HPLC byl ve vzorcích stanoven obsah kyseliny askorbové a lipofilních vitamínů. Vzorek maliny obsahoval největší množství askorbové kyseliny ($6,68 \pm 0,16 \cdot 10^{-3}$ mg/g). Z lipofilních metabolitů, ve všech ovocných i zeleninových vzorcích byl nalezen ubichinon, s nejvyšší koncentrací ve vzorku brusinky ($2414,550 \pm 88,425$ μ g/g). Nejvyšší koncentrace β -karotenů byla naměřena u vzorku mrkve ($899,190 \pm 20,092$ μ g/g) a luteinu u vzorku brokolice ($74,720 \pm 3,403$ μ g/g). Dalším lipofilním metabolitem byl chlorofyl a ($616,565 \pm 18,472$ μ g/g) a chlorofyl b ($390,086 \pm 12,997$ μ g/g) s nejvyšší koncentrací u vzorku brokolice. Z ovocných i zeleninových vzorků byly vybrány tři vzorky s nejlepšími výsledky (brusinka, borůvka, černý rybíz, brokolice, mrkev, červená řepa), na kterých byla následně testována antimikrobiální aktivita na dvou bakteriálních kmenech *Micrococcus luteus* a *Serratia marcescens*. Všechny zeleninové vzorky prokázaly přibližně 20% antimikrobiální účinnost na kmen *Micrococcus luteus*. Z ovocných vzorků jen brusinka a černý rybíz prokázaly antimikrobiální aktivitu na tento kmen. Antimikrobiální účinnost na kmen *Serratia marcescens* se u ovocných vzorků pohybovala okolo 30–40 % a u zeleninových vzorků byla mnohem nižší.

Finálním produktem této práce byly kaše vytvořené z nejlepšího cereálního základu a nejlepších ovocných a zeleninových příměsí. Pro tyto směsi byl zvolen cereální základ černé rýže a pro některé směsi i příměs kukuřičného základu. Ovoce a zelenina zvolené na základě výsledků jako nejlepší příměs byly borůvka, černý rybíz, červená řepa a brokolice. V kaších byla stanovena koncentrace polyfenolů a antioxidantů stejnou spektrofotometrickou metodou jako u jednotlivých složek. Nejvyšší koncentrace obou složek byly naměřeny u kaší, které měly základ z černé rýže a jako příměs borůvku. Příměs kukuřice do základu z černé rýže neměla pozitivní efekt na zvýšení hodnot. Příměs černého rybízu a červené řepy způsobila nárůst polyfenolických látek a antioxidantů, bohužel ne v takové míře jako borůvka. Ze získaných výsledků této práce je patrný pozitivní vliv ovocných a zeleninových příměsí do bezlepkových produktů.

6 SEZNAM LITERATURY

- [1] PŘÍHODA, Josef, Marie HRUŠKOVÁ a Pavel SKŘIVAN. *Cereální chemie a technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-708-0530-7
- [2] CASTRO-RUBIO, A.; GARCÍA, M.C. a MARINA, M.L. Rapid separation of soybean and cereal (wheat, corn, and rice) proteins in complex mixtures: Application to the selective determination of the soybean protein content in commercial cereal-based products. Online. *Analytica Chimica Acta*. 2006, roč. 558, č. 1-2, s. 28-34. ISSN 00032670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.076>.
- [3] SKŘIVAN, Pavel. *Cereální chemie a technologie II: sekundární zpracování obilovin – pekárenská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2022. ISBN 978-80-7592-135-2.
- [4] FLETCHER, R.J. Pseudocereals: Overview. Online. In: *Encyclopedia of Food Grains*. Elsevier, 2016, s. 274-279. ISBN 9780123947864. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00039-5>.
- [5] DUARTE, S.C.; PENA, A. a LINO, C.M. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. Online. *Food Microbiology*. 2010, roč. 27, č. 2, s. 187-198. ISSN 07400020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.016>.
- [6] SALDIVAR, S.O. Serna. Cereals: Dietary Importance. Online. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 2016, s. 703-711. ISBN 9780123849533. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00130-6>.
- [7] LAFIANDRA, Domenico; RICCARDI, Gabriele a SHEWRY, Peter R. Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. Online. *Journal of Cereal Science*. 2014, roč. 59, č. 3, s. 312-326. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.001>.
- [8] HANSEN, Hanne B.; MØLLER, Birthe; ANDERSEN, Sven B.; JØRGENSEN, Johannes R. a HANSEN, Åse. Grain Characteristics, Chemical Composition, and Functional Properties of Rye (*Secale cereale* L.) As Influenced by Genotype and Harvest Year. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, roč. 52, č. 8, s. 2282-2291. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf0307191>.
- [9] KADLEC, Pavel. *Technologie sacharidů*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000. ISBN 80-7080-400-9.
- [10] KODÍČEK, Milan, Olga VALENTOVÁ a Radovan HYNEK. *Biochemie: chemický pohled na biologický svět. 2. přepracované vydání*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2018. ISBN 978-80-7592-013-3.
- [11] VIRKKI, L.; JOHANSSON, L.; YLINEN, M.; MAUNU, S. a EKHOLM, P. Structural characterization of water-insoluble nonstarchy polysaccharides of oats and barley. Online. *Carbohydrate Polymers*. 2005, roč. 59, č. 3, s. 357-366. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.10.006>.
- [12] CHANSON-ROLLE, Aurelie; MEYNIER, Alexandra; AUBIN, François; LAPPI, Jenni; POUTANEN, Kaisa et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Human Studies to Support a Quantitative Recommendation for Whole Grain Intake in Relation to Type 2 Diabetes. Online. *PLOS ONE*. 2015, roč. 10, č. 6. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131377>.

- [13] STRÁNSKÝ, Miroslav a Lydie RYŠAVÁ. *Fyziologie a patofyziologie výživy*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2010, 182 s. ISBN 978-807-3942-410.
- [14] BULKOVÁ, Věra. *Rostlinné potraviny*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2011. ISBN 978-807-0135-327.
- [15] HENRION, Muriel; FRANCEY, Céilia; LÊ, Kim-Anne a LAMOTHE, Lisa. Cereal B-Glucans: The Impact of Processing and How It Affects Physiological Responses. Online. *Nutrients*. 2019, roč. 11, č. 8. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu11081729>.
- [16] CHARALAMPOPOULOS, D, R WANG, S.S PANDIELLA a C WEBB. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2002, **79**(1-2), 131-141 [cit. 2023-06-18]. ISSN 01681605. Dostupné z: [doi:10.1016/S0168-1605\(02\)00187-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00187-3)
- [17] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac.* 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [18] JUHÁSZ, Angéla; COLGRAVE, Michelle L. a HOWITT, Crispin A. Developing gluten-free cereals and the role of proteomics in product safety. Online. *Journal of Cereal Science*. 2020, roč. 93. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102932>.
- [19] FARDET, Anthony; ROCK, Edmond a RÉMÉSY, Christian. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? Online. *Journal of Cereal Science*. 2008, roč. 48, č. 2, s. 258-276. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.01.002>.
- [20] THOMPSON, TRICIA. Folate, Iron, and Dietary Fiber Contents of the Gluten-free Diet. Online. *Journal of the American Dietetic Association*. 2000, roč. 100, č. 11, s. 1389-1396. ISSN 00028223. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(00\)00386-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00386-2).
- [21] NIMSE, Satish Balasaheb a Dilipkumar PAL. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances* [online]. 2015, **5**(35), 27986-28006 [cit. 2023-06-18]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: [doi:10.1039/C4RA13315C](https://doi.org/10.1039/C4RA13315C)
- [22] RANI, Alka; SAINI, Khem; BAST, Felix; MEHARIYA, Sanjeet; BHATIA, Shashi et al. Microorganisms: A Potential Source of Bioactive Molecules for Antioxidant Applications. Online. *Molecules*. 2021, roč. 26, č. 4. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26041142>.
- [23] LOURENÇO, Sofia C.; MOLDÃO-MARTINS, Margarida a ALVES, Vítor D. Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. Online. *Molecules*. 2019, roč. 24, č. 22. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>.
- [24] STRATIL, P.; KLEJDUS, B. a KUBÁŇ, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Online. *Talanta*. 2007, roč. 71, č. 4, s. 1741-1751. ISSN 00399140. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.08.012>.

- [25] ABBAS, Munawar; SAEED, Farhan; ANJUM, Faqir Muhammad; AFZAAL, Muhammad; TUFAIL, Tabussam et al. Natural polyphenols: An overview. Online. *International Journal of Food Properties*. 2017, roč. 20, č. 8, s. 1689-1699. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>.
- [26] ARFAOUI, Leila. Dietary Plant Polyphenols: Effects of Food Processing on Their Content and Bioavailability. Online. *Molecules*. 2021, roč. 26, č. 10. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26102959>.
- [27] TRONO, Daniela. Carotenoids in Cereal Food Crops: Composition and Retention throughout Grain Storage and Food Processing. Online. *Plants*. 2019, roč. 8, č. 12. ISSN 2223-7747. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants8120551>.
- [28] HIGHAM, C.F.W. Rice cultivation and the growth of Southeast Asian civilization. Online. *Endeavour*. 1989, roč. 13, č. 2, s. 82-88. ISSN 01609327. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0160-9327\(89\)90007-0](https://doi.org/10.1016/0160-9327(89)90007-0).
- [29] SALEH, Ahmed S. M.; WANG, Peng; WANG, Na; YANG, Liu a XIAO, Zhigang. Brown Rice Versus White Rice: Nutritional Quality, Potential Health Benefits, Development of Food Products, and Preservation Technologies. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019, roč. 18, č. 4, s. 1070-1096. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12449>.
- [30] WU, Kao; GUNARATNE, Anil; GAN, Renyou; BAO, Jinsong; CORKE, Harold et al. Relationships Between Cooking Properties and Physicochemical Properties in Brown and White Rice. Online. *Starch - Stärke*. 2018, roč. 70, č. 5-6. ISSN 0038-9056. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/star.201700167>.
- [31] MANICKAVASAGAN, Annamalai, Chandini SANTHAKUMAR a N. VENKATACHALAPATHY, ed. Brown Rice [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017 [cit. 2023-06-18]. ISBN 978-3-319-59010-3. Dostupné z: [doi:10.1007/978-3-319-59011-0](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59011-0)
- [32] LIU, Kunlun; CAO, Xiaohong; BAI, Qingyun; WEN, Huanbin a GU, Zhenxin. Relationships between physical properties of brown rice and degree of milling and loss of selenium. Online. *Journal of Food Engineering*. 2009, roč. 94, č. 1, s. 69-74. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.03.001>.
- [33] JOLFAIE, N.; ROUHANI, M.; SURKAN, P.; SIASSI, F. a AZADBAKHT, L. Rice Bran Oil Decreases Total and LDL Cholesterol in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. Online. *Hormone and Metabolic Research*. 2016, roč. 48, č. 07, s. 417-426. ISSN 0018-5043. Dostupné z: <https://doi.org/10.1055/s-0042-105748>.
- [34] RATHNA PRIYA, T. S.; ELIAZER NELSON, Ann Raeboline Lincy; RAVICHANDRAN, Kavitha a ANTONY, Usha. Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India: a review. Online. *Journal of Ethnic Foods*. 2019, roč. 6, č. 1. ISSN 2352-6181. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0017-3>.
- [35] ITO, Vivian Cristina a LACERDA, Luiz Gustavo. Black rice (*Oryza sativa* L.): A review of its historical aspects, chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies. Online. *Food Chemistry*. 2019, roč. 301. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125304>.

- [36] SERNA-SALDIVAR, Sergio O., ed. *Corn: Chemistry and Technology*. Third Edition. Elsevier Inc. in cooperation with AACCC International, 2019. ISBN 978-0-12-811886-3.
- [37] BIELECKA, Joanna; MARKIEWICZ-ŻUKOWSKA, Renata; PUŚCION-JAKUBIK, Anna; GRABIA, Monika; NOWAKOWSKI, Patryk et al. Gluten-Free Cereals and Pseudocereals as a Potential Source of Exposure to Toxic Elements among Polish Residents. Online. *Nutrients*. 2022, roč. 14, č. 11. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu14112342>.
- [38] KOPÁČOVÁ, Olga. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: ÚZPI, 2007, 55 s. ISBN 978-80-7271-184-0.
- [39] FREEMAN, Hugh J. Celiac disease and selected long-term health issues. *Maturitas* [online]. 2012, **73**(3), 206-211 [cit. 2023-06-18]. ISSN 03785122. Dostupné z: [doi:10.1016/j.maturitas.2012.08.005](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2012.08.005)
- [40] JACKSON, Jessica R., William W. EATON, Nicola G. CASCELLA, Alessio FASANO a Deanna L. KELLY. Neurologic and Psychiatric Manifestations of Celiac Disease and Gluten Sensitivity. *Psychiatric Quarterly* [online]. 2012, **83**(1), 91-102 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0033-2720. Dostupné z: [doi:10.1007/s11126-011-9186-y](https://doi.org/10.1007/s11126-011-9186-y)
- [41] FRIČ, P., ZAVORAL, M. & DVOŘÁKOVÁ, T. 2013. Choroby způsobené lepkem. *Vnitřní Lékařství*, 59, 376-82.
- [42] SATURNI, Letizia; FERRETTI, Gianna a BACCHETTI, Tiziana. The Gluten-Free Diet: Safety and Nutritional Quality. Online. *Nutrients*. 2010, roč. 2, č. 1, s. 16-34. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu2010016>. [cit. 2024-01-27].
- [43] KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. [Hradec Králové]: Nucleus HK, 2004. ISBN 80-86225-50-x.
- [44] THEETHIRA, Thimmaiah G; DENNIS, Melinda a LEFFLER, Daniel A. Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet. Online. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2013, roč. 8, č. 2, s. 123-129. ISSN 1747-4124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1586/17474124.2014.876360>.
- [45] LERNER Aaron, WUSTERHAUSEN Patricia, RAMESH Ajay, MATTHIAS Torsten. Celiac Disease and Lactose Intolerance. *International Journal of Celiac Disease*. Vol. 6, No. 3, 2018, pp 68-70. <http://pubs.sciepub.com/ijcd/6/3/8>
- [46] DE FRUTOS, Mario Fernández; FOTSCHKI, Bartosz; MUSOLES, Ricardo Fernández a LLOPIS, José Moisés Laparra. Gluten-Free Cereals and Pseudocereals: Nutrition and Health. Online. In: MÉRILLON, Jean-Michel a RAMAWAT, Kishan Gopal (ed.). *Bioactive Molecules in Food*. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer International Publishing, 2019, s. 847-864. ISBN 978-3-319-78029-0. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_60.
- [47] ESFAHANI, Amin; WONG, Julia M.W; TRUAN, Jennifer; VILLA, Christopher R; MIRRAHIMI, Arash et al. Health Effects of Mixed Fruit and Vegetable Concentrates: A Systematic Review of the Clinical Interventions. Online. *Journal of the American College*

- of Nutrition*. 2011, roč. 30, č. 5, s. 285-294. ISSN 0731-5724. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/07315724.2011.10719971>.
- [48] LILIANA, Serna-Cock; DIANA, Patricia Vargas-Munoz a ALFREDO, Ayala Aponte. Structural, physical, functional and nutraceutical changes of freeze-dried fruit. Online. *African Journal of Biotechnology*. 2015, roč. 14, č. 6, s. 442-450. ISSN 1684-5315. Dostupné z: <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14189>.
- [49] KASPER, Julia Christina a FRIESS, Wolfgang. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. Online. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2011, roč. 78, č. 2, s. 248-263. ISSN 09396411. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.03.010>.
- [50] Hui, Y. H, Food drying science and technology : microbiology, chemistry, applications, 2008, ISBN 9781932078565
- [51] NEMZER, Boris V.; AL-TAHER, Fadwa; YASHIN, Alexander; REVELSKY, Igor a YASHIN, Yakov. Cranberry: Chemical Composition, Antioxidant Activity and Impact on Human Health. Online. *Molecules*. 2022, roč. 27, č. 5. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules27051503>.
- [52] RAO, A. Venketeshwer a SNYDER, Dawn M. Raspberries and Human Health: A Review. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, roč. 58, č. 7, s. 3871-3883. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf903484g>.
- [53] GIAMPIERI, Francesca; ALVAREZ-SUAREZ, José M. a BATTINO, Maurizio. Strawberry and Human Health: Effects beyond Antioxidant Activity. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, roč. 62, č. 18, s. 3867-3876. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf405455n>.
- [54] NICOLETTI A.M., et al., Blueberry Bioactive Properties and Their Benefits for Health: A Review, *International Journal of New Technology and Research*, vol. 1, Nov. 2015
- [55] GOPALAN, Ashwin; REUBEN, Sharon C.; AHMED, Shamima; DARVESH, Altaf S.; HOHMANN, Judit et al. The health benefits of blackcurrants. Online. *Food & Function*. 2012, roč. 3, č. 8. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c2fo30058c>.
- [56] RIBEIRO, Sônia Machado Rocha a SCHIEBER, Andreas. Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). Online. In: *Bioactive Foods in Promoting Health*. Elsevier, 2010, s. 507-523. ISBN 9780123746283. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374628-3.00034-7>.
- [57] SINGH, Balwinder; SINGH, Jatinder Pal; KAUR, Amritpal a SINGH, Narpinder. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. Online. *Food Chemistry*. 2016, roč. 206, s. 1-11. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.033>.
- [58] HUNTER, Denise C.; SKINNER, Margot A. a FERGUSON, A. Ross. Kiwifruit and health. Online. In: *Fruits, Vegetables, and Herbs*. Elsevier, 2016, s. 239-269. ISBN 9780128029725. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802972-5.00012-3>.
- [59] VASANTHI, Hannah; MUKHERJEE, Subhendu a DAS, Dipak. Potential Health Benefits of Broccoli- A Chemico-Biological Overview. Online. *Mini-Reviews in Medicinal*

- Chemistry*. 2009, roč. 9, č. 6, s. 749-759. ISSN 13895575. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/138955709788452685>.
- [60] NAGRAJ, Geetha Shree; JAISWAL, Swarna; HARPER, Niamh a JAISWAL, Amit K. Carrot. Online. In: *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*. Elsevier, 2020, s. 323-337. ISBN 9780128127803. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812780-3.00020-9>.
- [61] DAHL, Wendy J.; FOSTER, Lauren M. a TYLER, Robert T. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). Online. *British Journal of Nutrition*. 2012, roč. 108, č. S1, s. S3-S10. ISSN 0007-1145. Dostupné z: <https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>.
- [62] CLIFFORD, Tom; HOWATSON, Glyn; WEST, Daniel a STEVENSON, Emma. The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. Online. *Nutrients*. 2015, roč. 7, č. 4, s. 2801-2822. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu7042801>.
- [63] MCKEVITH, Brigid. Nutritional aspects of cereals. Online. *Nutrition Bulletin*. 2004, roč. 29, č. 2, s. 111-142. ISSN 1471-9827. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x>.
- [64] Autor, N. "Porridge: Benefits And Side Effects." *Myupchar*, online, <https://www.myupchar.com/en/healthy-foods/nutritious-foods/porridge?ref=linkstock>.
- [65] WILLIAMS, Peter G. The Benefits of Breakfast Cereal Consumption: A Systematic Review of the Evidence Base. Online. *Advances in Nutrition*. 2014, roč. 5, č. 5, s. 636S-673S. ISSN 21618313. Dostupné z: <https://doi.org/10.3945/an.114.006247>. [cit. 2024-05-15].
- [66] MÁROVÁ, Ivana a Dana VRÁNOVÁ. *Praktikum z biochemie: Pracovní sešit*. Ústav chemie potravin a biotechnologií FCH VUT v Brně, 2016
- [67] HORÁKOVÁ, Klára. *Lyofilizované ovoce – chemické vlastnosti a možnosti zpracování*. 2016.
- [68] DOHNALOVÁ, Marie. *Příprava a charakterizace nanočástic s enkapsulovanou antioxidační složkou*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2023.
- [69] KRUPÍČKOVÁ, Lucie. *Příprava a charakterizace potravin a doplňků stravy s obsahem vybraných vitamínů*. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2021.
- [70] GARCÍA, Sheila Lucía Rodríguez a RAGHAVAN, Vijaya. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Broccoli (*Brassica oleracea*) Stems, Leaves, and Florets: Optimization, Characterization, and Comparison with Maceration Extraction. Online. *Recent Progress in Nutrition*. 2022, roč. 2, č. 2, s. 1-1. ISSN 27719871. Dostupné z: <https://doi.org/10.21926/rpn.2202011>.
- [71] GOUFO, Piebiep a TRINDADE, Henrique. Rice antioxidants γ -oryzanol, and phytic acid: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. Online. *Food Science & Nutrition*. 2014, roč. 2, č. 2, s. 75-104. ISSN 2048-7177. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/fsn3.86>.
- [72] KUBO, Hiroshi; FUJII, Kenji; KAWABE, Taizo; MATSUMOTO, Shuka; KISHIDA, Hideyuki et al. Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet.

Online. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008, roč. 21, č. 3, s. 199-210. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.10.003>.

- [73] OCHOA BECERRA, Mario; MOJICA CONTRERAS, Luis; HSIEH LO, Ming; MATEOS DÍAZ, Juan a CASTILLO HERRERA, Gustavo. Lutein as a functional food ingredient: Stability and bioavailability. Online. *Journal of Functional Foods*. 2020, roč. 66. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103771>.

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABTS	2,2'-azinobis(2-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
FID	flame ionization detector
GC	plynová chromatografie
HPLC	vysoko účinná kapalinová chromatografie
MUFA	mononenasyčené mastné kyselina
NB	nutrient broth
PDA	detektor fotodiodového pole
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
SFA	nasyčené mastné kyseliny
UV-VIS	oblast ultrafialového a viditelného záření