



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**STANOVENÍ AKTIVNÍCH SLOŽEK A BIOLOGICKÝCH
ÚČINKŮ VYBRANÝCH NETRADIČNÍCH CEREÁLÍ**

ANALYSIS OF ACTIVE SUBSTANCES AND BIOLOGICAL EFFECTS OF SOME NON-
TRADIZIONAL CEREALS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Michal Pecháček

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1579/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Michal Pecháček**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.**

Název bakalářské práce:

Stanovení aktivních složek a biologických účinků vybraných netradičních cereálií

Zadání bakalářské práce:

- 1) rešerše – přehled netradičních cereálií a jejich aktivních složek
- 2) optimalizace metod analýzy struktury a účinků aktivních látek
- 3) analýza obsahu aktivních složek, stability a biologické aktivity vybraných cereálií
- 4) senzorická analýza

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2020:

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

Michal Pecháček
student(ka)

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce byla zaměřena na charakterizaci aktivních látek a biologických účinků vybraných netradičních cereálií. V práci byly charakterizovány základní složky netradičních cereálií, jako jsou cukry nebo bílkoviny, dále pak aktivní látky, jako jsou například antioxidanty, fenolické látky nebo β -glukany. Tyto látky byly převážně stanoveny pomocí spektrofotometrických analytických metod.

Teoretická část práce byla zaměřena obecně na cereálie, stavbu obilného zrna, cereální výrobky a zejména pak na chemické složení cereálií. V rámci této části práce byl vypracován souhrn látek vyskytujících se v obilném zrně, jako jsou sacharidy, bílkoviny, vitamíny, minerální látky a další tělu prospěšné aktivní látky.

V praktické části byly analyzovány vzorky vybraných netradičních cereálií, konkrétně amaranth, čirok, jáhly, kamut, pohanka, quinoa, slzovka a teff. Amaranth, pohanka a jáhly byly analyzovány navíc ve formě vloček. Teff byl analyzován pouze ve formě vloček, čirok a quinoa byly analyzovány i ve svých barevných variantách. Nejprve byly připraveny vodné extrakty těchto vzorků, které byly použity pro stanovení antioxidační aktivity, stanovení celkových fenolických látek a flavonoidů. Pro stanovení sacharidů byly použity hydrolyzované vzorky a pro další základní stanovení byly využity vzorky v práškové formě. Obecně bylo nejlepších výsledků dosaženo při těchto stanovení u vzorku quinoi, dále pak amaranthu a pohanky.

Kromě základních stanovení byl také analyzován obsah β -glukanů, který byl v případě vybraných netradičních cereálií velice nízký. Nakonec byly provedeny testy cytotoxicity s využitím humánních buněk. Stanovení bylo provedeno pomocí MTT testů na lidských keratinocytech HaCaT a na lidských buňkách adenokarcinomu tlustého střeva CaCO-2.

V poslední části práce byla provedena senzorická analýza 6 vzorků, ze kterých byla připravena mouka a z této mouky byly vyrobeny muffiny, které byly analyzovány a senzoricky hodnoceny.

KLÍČOVÁ SLOVA

pseudocereálie, netradiční cereálie, aktivní látky, biologické účinky, lepek, cytotoxicita, senzorická analýza

ABSTRACT

This thesis deals with the characterization of active substances and biological effects of non-traditional cereals. Basic substances of these non-traditional cereals such as carbohydrates or proteins are characterized in this work. Active compounds such as antioxidants, polyphenols or β -glucans are also characterized. These substances were mainly analysed by spectrophotometric methods.

The theoretical part describes cereals in general. It focuses on grain morphology, cereal products and mostly on chemical composition. The summary of substances appearing in the cereal grain such as carbohydrates, proteins, vitamins, minerals etc. was processed in this part.

In the practical part, the samples of the non-traditional cereals such as amaranth, sorghum, millet, kamut, buckwheat, quinoa, Job's tears and teff were analysed. Amaranth, millet and buckwheat were also analysed in the form of flakes. Teff was analysed only in the form of flakes. Sorghum and quinoa were analysed also in their coloured variations. Firstly, the water extracts were prepared, then they were used for determination of antioxidant activity, the content of polyphenols compounds and flavonoids. The hydrolysed samples were used for determination of the carbohydrates. For other basic analysis, samples were used in the form of powder. Best results were measured for quinoa, amaranth and buckwheat.

Besides basic analysis, the content of β -glucans was measured. However, the content of β -glucans in these non-traditional cereals was very low. Selected cereals were tested for cytotoxicity on human cells. Cytotoxicity was evaluated by using the MTT cytotoxicity test on human keratinocytes HaCaT and human caucasian colon adenocarcinoma CaCO-2.

The sensory analysis was carried out in the last part of the thesis. There were tested 6 samples. From these samples were made muffins that were analysed and sensorically evaluated.

KEYWORDS

pseudocereals, non-traditional cereals, active substances, biological effects, gluten, cytotoxicity, sensory analysis

PECHÁČEK, Michal. *Stanovení aktivních složek a biologických účinků vybraných netradičních cereálií*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123933>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Ivana Márová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. 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

Rád bych poděkoval vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Ivaně Márové, Csc za odborné vedení a rady, které mi při vypracování bakalářské práce poskytla. Dále bych rád poděkoval Ing. Agátě Bendové a Ing. Daně Byrtusové za ochotu, trpělivost, cenné rady a čas, který mi věnovaly.

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1	Cereálie.....	10
2.2	Cereální výrobky	10
2.3	Obilné zrna	11
2.4	Chemické složení obilovin	11
2.4.1	Sacharidy	11
2.4.2	Bílkoviny	14
2.4.3	Lipidy	14
2.4.4	Vitaminy.....	15
2.4.5	Minerální látky	15
2.4.6	Antioxidanty	15
2.5	Studované netradiční cereálie.....	17
2.5.1	Amaranth.....	17
2.5.2	Čirok.....	17
2.5.3	Jáhly.....	17
2.5.4	Kamut	17
2.5.5	Pohanka	18
2.5.6	Quinoa	18
2.5.7	Slzovka obecná.....	18
2.5.8	Teff.....	18
2.6	Používané analytické metody.....	19
2.6.1	UV-VIS spektrofotometrie	19
2.6.2	Stanovení antioxidační aktivity	19
2.6.3	Enzymové stanovení β -glukanů (Mixed-linkage β -glucan assay kit)	20
2.6.4	Imunochemické stanovení lepku (RIDASCREEN® Gliadin competitive)	20
2.6.5	Testování cytotoxicity	21
2.6.6	Senzorická analýza	22
3	CÍL PRÁCE.....	23
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
4.1	Seznam použitých chemikálií.....	24
4.2	Seznam použitých pomůcek a přístrojů.....	24

4.3	Použité humánní buňky	25
4.4	Materiál požitý pro senzoricou analýzu	25
4.5	Seznam použitých vzorků.....	26
4.6	Příprava vzorků pro analýzu.....	26
4.6.1	Příprava vzorku pro stanovení sacharidů dle Duboise	26
4.6.2	Příprava vzorků pro stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla.....	27
4.6.3	Příprava vzorků pro spektrofotometrické stanovení.....	27
4.6.4	Příprava vzorků pro testování cytotoxicity.....	27
4.6.5	Příprava vzorků pro stanovení lepku.....	27
4.6.6	Příprava vzorků pro senzoricou analýzu	27
4.7	Charakterizace vzorků	28
4.7.1	Stanovení celkových sacharidů dle Duboise	28
4.7.2	Stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla	28
4.7.3	Stanovení celkové antioxidační aktivity.....	28
4.7.4	Stanovení celkových fenolických látek	28
4.7.5	Stanovení flavonoidů.....	29
4.7.6	Stanovení β -glukanů	29
4.7.7	Stanovení lepku	29
4.7.8	Testování cytotoxicity	30
4.7.9	Senzorická analýza	32
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	33
5.1	Stanovení celkových sacharidů dle Duboise	33
5.2	Stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla	34
5.3	Stanovení celkové antioxidační aktivity.....	35
5.4	Stanovení celkových fenolických látek	36
5.5	Stanovení flavonoidů.....	38
5.6	Stanovení β -glukanů	39
5.7	Stanovení lepku	40
5.8	Testování cytotoxicity	41
5.8.1	Testování cytotoxicity s využitím střevních buněk CaCO-2.....	41
5.8.2	Testování cytotoxicity s využitím keratinocytů HaCaT.....	42
5.9	Senzorická analýza	44
5.9.1	Senzorické hodnocení vzorků.....	45

6	ZÁVĚR.....	50
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	52
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	62
9	PŘÍLOHY	63
9.1	Příloha 1: Dotazník pro sensorické hodnocení.....	63

1 ÚVOD

V současné době se lidská populace značně zajímá o své zdraví, životní styl a s tím spojené potraviny, které jedinci konzumují. Značný zájem budí zejména superpotraviny, tedy potraviny vyznačující se vysokým obsahem živin, antioxidantů a dalších tělu prospěšných látek, čímž přispívají ke správné životosprávě. Zároveň se vyznačují příznivými účinky na lidské zdraví a snižují tak riziko vzniku civilizačních chorob. Mezi tyto potraviny patří rovněž některé pseudocereálie, což je skupina rostlin, které nepatří mezi traviny, avšak jejich využití je shodné s tradičními cereáliemi.

V poslední době se v rámci lidské populace často setkáváme s různými potravinovými alergiemi, jako je alergie na lepek nebo celiakie. Jedná se o autoimunitní onemocnění způsobené nesnášenlivostí lepku. Setkáváme se však i s jedinci, kteří bez jakýchkoli zdravotních komplikací vyhledávají spíše bezlepkové potraviny. Proto by mohly být do budoucna pseudocereálie využívány jako vhodná náhrada obyčejné pšenice. V současnosti se již pro výrobu bezlepkového pečiva používají některé pseudocereálie, jako je například amarant. Výroba těchto produktů již probíhá, avšak v minimálním množství ve srovnání s produkcí běžného pšeničného pečiva, které je i výrazně levnější, oproti bezlepkovému pečivu.

Mezi významné pseudocereálie využívané v potravinářství patří například amarant, čirok, jáhly, pohanka nebo quinoa. Tyto pseudocereálie se využívají jak pro přímou výrobu pečiva jako hlavní surovina, například při výrobě čistě bezlepkového pečiva, které se vyrábí z amarantu, tak jako obohacující složka běžného pšeničného pečiva. Kromě pečiva se můžeme s pseudocereáliemi setkat u různých typů snídaňových cereálií, kdy se často využívá směs více druhů pseudocereálií.

V rámci této práce budou charakterizovány vybrané netradiční cereálie, z nichž právě většinu tvoří výše zmíněné pseudocereálie. Charakterizováno bude zejména jejich složení, tedy obsah sacharidů a bílkovin, dále pak různé aktivní látky, jako jsou například antioxidanty, které jsou tělu prospěšné. U vybraných netradičních cereálií budou rovněž charakterizovány jejich cytotoxické účinky a práce bude zakončena senzoričnou analýzou.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Cereálie

Obiloviny neboli cereálie jsou botanicky řazeny mezi traviny (latinsky *Gramineae*) a téměř všechny patří do čeledi lipnicovitých (latinsky *Poaceae*). Společný původ obilovin čeledi lipnicovité předurčuje jejich vzájemnou podobnost ve struktuře, tvorbě zrna a jeho chemickém složení. Současně však existují i odlišnosti mezi botanickými rody, druhy i mezi jednotlivými odrůdami téhož druhu. Mezi obiloviny běžně pěstované pro potravinářské využití patří pšenice, žito, ječmen, oves, rýže, kukuřice, proso, čirok a další [1].

Kromě obilovin existují i pseudoobiloviny (pseudocereálie). Jedná se o rostliny, které produkují plody využitelné pro výrobu mouky, vhodné pro lidskou stravu a nepatří mezi ně rostliny, které jsou již charakterizovány jako obiloviny, luštěniny, olejnatá semena nebo ořechy. Přestože jsou relativně bezvýznamné v celosvětovém měřítku produkce obilovin, v určitých oblastech a kulturách jsou hojně využívány. Zároveň představují potenciální náhradu pro osoby s alergiemi na tradiční obiloviny. Jejich další výhodou je, že mohou růst v chudých půdách a při podmínkách, které nejsou vhodné pro jiné druhy zrn. Mezi nejznámější pseudocereálie patří amarant, quinoa nebo pohanka. Existuje však mnoho dalších druhů, zejména ze třídy dvouděložných rostlin [2].

Obiloviny mají v rámci ekosystému rozhodující postavení. Osévají se na více než 50 % orné půdy. Představují nejpěstovanější plodiny na Zemi a jedná se tak o nejvýznamnější plodiny pro existenci lidské populace. Historicky vzniklé použití obilovin v potravě zabezpečuje vysokou část příjmů energie a mnohdy i nemalý příjem bílkovin. Zejména v rozvojových zemích je energetická potřeba zajištěna až z 60 % obilovinami. Ve vyspělých zemích je podíl menší [3].

Dle statistik FAO OSN činila v roce 2018 světová produkce obilovin 2 609 milionů tun, a to včetně rýže. Došlo tak k meziročnímu poklesu globální produkce obilovin, který se odhaduje na 1,9 %. Naopak celosvětová produkce rýže byla v roce 2018 přibližně o 1,6 % vyšší než v roce 2017 a tvořila 515 milionů tun. Kromě rýže patří k celosvětově nejvíce produkováným plodinám pšenice. Největšími producenty pšenice jsou Evropská unie, Čína, Indie, Rusko a Spojené státy americké [1][4].

2.2 Cereální výrobky

Z obilovin se vyrábí velké množství potravinářských výrobků. Tyto produkty se řadí mezi potraviny s vysokým stupněm inovace. Vývoj nových výrobků odpovídá požadavkům spotřebitelů. V současné době se však výrobky odvíjí od názorů nutričních terapeutů a lékařů. Ti se snaží zejména o přispění k řešení zdravotních problémů populace. Na trhu se objevují produkty celozrnné, produkty se sníženým energetickým obsahem či zvýšeným obsahem vlákniny, produkty bez cholesterolu, s redukováným obsahem tuku, ale v posledních letech také různé bezlepkové produkty, které jsou vyrobeny z obilovin nebo pseudoobilovin neobsahujících lepek. Mezi konkrétní výrobky patří různé tyčinky, nápoje s cereální přísadou, jako je například rýžové mléko, dále pak snídanové cereálie, mouka, kroupy, těstoviny a další [1][5].

2.3 Obilné zrno

Morfologická stavba zrna všech obilovin je zhruba stejná. Liší se tvarem, velikostí a podílem jednotlivých vrstev. Existují zrna od tenkých a protáhlých až po téměř kulatá. Charakteristickým rysem pro jednotlivé obiloviny je tvar zrna i to, zda má zrno pluchy nebo je nahé. Pšenice, žito a kukuřice mají zrna nahá. Naopak ječmen, oves, rýže, proso a některé čiroky mají zrna pluchatá. Pořadí jednotlivých vrstev je však shodné. Na povrchu se nachází obalové vrstvy obsahující vlákninu. Endosperm je tvořen jednou vrstvou aleuronových buněk, tzv. aleuronovou vrstvou a moučným jádrem. Nejmenší částí zrna je pak klíček neboli zárodek. Rozměry zrna se mohou lišit i v rámci jednoho druhu v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách, lokalitě růstu, kvalitě půdy a agrotechnice. Je tedy zřejmé, že skutečná velikost zrna je ovlivněna mnoha faktory a je nemožné předem předpovídat, jakých výsledků bude v jednotlivých letech sklizně dosaženo [1]. Rostliny vystavené trvalému nebo opakujícímu se stresu mohou vykazovat širokou škálu komplexních a variabilních odpovědí. Specifická reakce, která se projevuje, závisí zejména na závažnosti poruchy. Čas pro vývoj zrna je často zkrácen a dochází k redukci počtu buněk endospermu, čímž dochází ke snížení obsahu škrobu ve zralém zrně. Mezi faktory vystavující rostlinu stresovým podmínkám patří sucho, teplo, vysoká salinita, nedostatek dusíku, vysoký obsah oxidu uhličitého, zima nebo kyselost [6]. Zastoupení hlavních chemických složek v jednotlivých částech zrna je velmi rozdílné [1].

2.4 Chemické složení obilovin

Obiloviny jsou hlavním zdrojem energie, bílkovin, vitaminů skupiny B a minerálů pro světovou populaci. Jsou považovány především za potraviny kalorické, ale také jako významný zdroj vlákniny [7]. Obilná zrna a výrobky z nich získaly popularitu díky svému pozitivnímu účinku na lidské zdraví. Ten je dán antioxidačními vlastnostmi, které jsou spojeny s ochranou před chronickými nemocemi [8]. Zároveň jsou významným zdrojem fytochemikálií, jako jsou fenolové kyseliny, flavonoidy, anthokyany, fytosteroly, karotenoidy a další látky [7]. V rýžových otrubách a oleji z nich vyrobeném se nachází γ -oryzanoly, které mají až desetkrát vyšší antioxidační vlastnosti než tokoferoly. Kukuřičné otruby jsou zase jedním z nejlepších zdrojů kyseliny ferulové ve srovnání s jinými obilovinami, ovocem nebo zeleninou. Otruby čiroku jsou jedinečným zdrojem 3-deoxyanthokyanidinu, což je vzácný typ flavonoidu, který vykazuje silné cytotoxické účinky. Pšeničné a žitné otruby obsahují arabinoxylany, které přispívají ke snížení hladiny glukózy v krvi, ovesné otruby jsou pak významným zdrojem β -glukanů [9].

2.4.1 Sacharidy

Obiloviny obsahují množství sacharidů od jednoduchých cukrů (monosacharidů) až po vysokomolekulární polysacharidy. V obilném zrně jsou některé sacharidy obsaženy pouze v malém množství, naopak jiné představují až desítky procent z celkového obsahu zrna. Mezi hlavní sacharidy obsažené v obilovinách jsou řazeny volné cukry, škrob, celulóza, pentozany nebo β -glukany [1].

Sacharidy představují asi 65–70 % pšeničného zrna, přičemž podobné hodnoty jsou udávány i u dalších typů obilovin. Hodnoty obsahu sacharidů se liší mezi jednotlivými studiemi, ale

řádově udávají přibližně 1 % nebo méně mono a disacharidů, asi 1 % oligosacharidů, 1–2 % fruktanů, 65–70 % škrobu a přibližně 10 % polysacharidů buněčných stěn [10].

2.4.1.1 Mono a oligosacharidy

Monosacharidy jsou jedny z nejvýznamnějších strukturních komponent hlavních biomolekul, jako jsou polysacharidy, nukleové kyseliny, glykolipidy a glykoproteiny [11]. Hlavními monosacharidy tvořící nerozpustnou vlákninu amaranthu, která představuje asi 5–8 % obilného zrna, jsou glukóza (57,35 %), arabinóza (21,77 %), xylóza (8,71 %), galaktóza (6,07 %), rhamnóza (3,95 %), manóza (1,59 %) a fukóza (0,55 %). Podobné složení pak bylo prokázáno u quinoi a dalších cereálií [12].

Oligosacharidy jsou tvořeny monosacharidovými jednotkami, které jsou vzájemně spojeny glykosidickými vazbami. Mezi významné oligosacharidy patří maltóza, isomaltóza nebo sacharóza. Ve zralém neporušeném zrně se však oligosacharidy vyskytují pouze ve velmi nízkých koncentracích [13]. Oligosacharidy mohou být izolovány z rostlinných materiálů nebo syntetizovány enzymaticky a v potravinářském průmyslu se využívají jednoduché oligosacharidy jako bifidogenní látky [14].

2.4.1.2 Polysacharidy

Vedle bílkovin jsou nejvýznamnější skupinou biopolymerů obilovin polysacharidy. Představují významný zdroj energie pro organismus. Jejich štěpením pokrývají živé systémy značnou část svých energetických potřeb, zejména pak v období začátku růstu nové rostliny. Stavební polysacharidy tvoří základ buněčných stěn rostlin. Mezi ně patří celulóza, hemicelulózy, lignin a další. Kromě zásobních a stavebních polysacharidů existují tzv. rozpustné nebo ve vodě bobtnající polysacharidy, které mohou způsobovat koloidní vlastnosti [13].

Struktura polysacharidů je dána monosacharidovými jednotkami, které jsou vzájemně vázány glykosidickými vazbami. Často jsou tvořeny pouze jedním typem monosacharidu, a tak je jejich struktura ve srovnání s proteiny méně složitá. Polysacharidy dělíme na škrob a neškrabové polysacharidy [1].

2.4.1.3 Škrob

Škrob je primárním zásobním sacharidem v mnoha rostlinách a je důležitým polysacharidem v potravinách, krmivech a průmyslu [15]. Je tvořen dvěma polymery glukózy – amylosem, která obsahuje jednoduché nerozvětvené α (1→4) spojené řetězce několika tisíc glukózových jednotek a amylopektinem, který je naopak velice rozvětvený s α (1→4) a α (1→6) vazbami. Amylopektin může obsahovat i více než 100 000 glukózových jednotek. Není přítomen ve vnějších vrstvách zralého zrna [16]. V době zrání však dochází k akumulaci škrobu v buňkách endospermu, kde jsou rovněž ukládány proteiny [17]. Průměrný obsah škrobu v obilném zrně se pohybuje v rozmezí 65–70 % [1]. Z neznámého důvodu obsahuje škrob obilovin nízké koncentrace fosfátových esterů vázaných na škrob, které vznikají fosforylací. K ní dochází v podstatě ve všech rostlinách a jedná se o jedinou přirozenou modifikaci škrobu [15].

2.4.1.4 Neškrobové polysacharidy

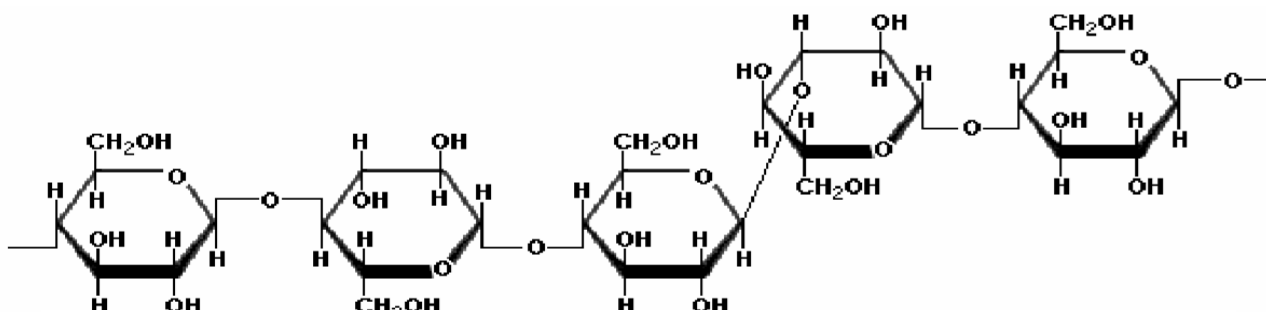
Hlavními neškrobovými polysacharidy obilovin jsou celulóza a hemicelulózy, tedy β -glukany a pentozany. Společně s dalšími polysacharidy, glykoproteiny a ligninem jsou důležitou složkou buněčné stěny endospermu obilovin. Neškrobové polysacharidy vytváří společně s dalšími rostlinnými složkami vlákninu. Ta je definována jako jedlá část rostliny, která je odolná vůči trávení a absorpci v lidském tenkém střevě. Vláknina se často dělí na ve vodě rozpustnou a nerozpustnou. β -glukany a arabinoxylany se nacházejí jak ve formě rozpustné, tak ve formě nerozpustné vlákniny. Naopak celulóza je tuhá, vysoce krystalická a nerozpustná. Mezi nerozpustnou vlákninu bývají dále řazeny lignin, rezistentní škrob, nehydrolyzovaný protein, taniny a kutiny [18].

Celulóza je polysacharid, který je tvořen mikrovlákniny sestávající se z D-glukopyranózových jednotek, které jsou spojeny β (1 \rightarrow 4) glykosidickou vazbou [19]. Jedná se o nejrozšířenější polysacharid v rámci biosféry [20].

Pentozany jsou hlavní složkou hemicelulóz a jsou asociovány s dalšími složkami včetně celulózy, β -glukanů, glykoproteinů a polyfenolů. Vykazují vysokou afinitu k vodě a jsou částečně zodpovědné za vysokou absorpci vody [21]. Nejzajímavějšími jsou pentozany arabinózy a xylózy, tzv. arabinoxylany. Nacházejí se v obilovinách, převážně v žitu [22]. Bohatým zdrojem arabinoxylanů jsou také pšeničné otruby [19]. Jsou známy mnohé zdravotní výhody a již příjem 2–10 g arabinoxylanů denně snižuje hladinu cholesterolu a glukózy v krvi [22].

2.4.1.5 β -glukany

Jednou z nejdůležitějších částí vlákniny jsou β -glukany. Jedná se o nerozvětvený polysacharid složený z (1 \rightarrow 4) a (1 \rightarrow 3) vázaných β -D-glukopyranózových jednotek v různých poměrech. Různé formy β -glukanů mají významné pozitivní účinky na srdeční onemocnění, snížení cholesterolu a glykemické odezvy. Kromě toho byl popsán vliv β -glukanů na růst laktobacilů a bifidobakterií v experimentech na krysách a ve studiích in vitro. Ze všech obilných zrn obsahují nejvyšší podíl β -glukanů v sušině ječmen (3–11 %) a oves (3–7 %). Naopak pšenice obsahuje méně než 1 % β -glukanů v sušině [14]. V pseudocereáliích jako je pohanka, amarant nebo jáhly se pak β -glukany vyskytují v minimálních koncentracích, a to v rozmezí od 0,01 do 0,15 % v sušině [23].



Obrázek 1: Základní struktura β -glukanů v cereáliích se smíšenou (1 \rightarrow 3) a (1 \rightarrow 4) vazbou [23]

2.4.2 Bílkoviny

Hlavním zdrojem rostlinných proteinů jsou semena rostlin. Jako omezené zdroje mohou sloužit také plody, listy, hlízy, bulvy a další. Z rostlinných materiálů jsou nejvýznamnějším zdrojem proteinů pro výživu člověka obiloviny. Větší část proteinů je soustředěna ve vnějších vrstvách zrna, ve vnitřních je obsah značně nižší [24]. Zralá zrna obsahují podle druhů a odrůd nejčastěji 9–13 % bílkovin v sušině [13]. U některých obilovin, jako je například quinoa nebo amarant, se dokonce setkáváme s vyšším obsahem bílkovin, a to až 17 % [25].

Základními bílkovinami všech obilovin jsou albuminy, globuliny, prolaminy a gluteliny. Složení aminokyselin potravin rostlinného původu je odlišné proti potravinám živočišného původu. Většinou obsahují velké množství kyseliny asparagové a glutamové včetně jejich amidů [24].

Obilné proteiny jsou klasifikovány do frakcí dle jejich rozpustnosti ve vodě (albuminy), zředěných roztocích solí (globuliny), 40–70% vodném roztoku ethanolu (prolaminy) a zředěné kyselině octové (gluteliny). Albuminy a globuliny se skládají z metabolických a ochranných proteinů, jejichž hlavní funkcí je vývoj zrna a rezistence vůči patogenům a škůdcům. Prolaminy a gluteliny jsou zásobními proteiny, které slouží jako zdroj aminokyselin a dusíku během klíčení [26].

2.4.2.1 Lepek

Unikátním proteinem obilovin je tzv. lepek. Jedná se o pevný gel, který tvoří pšeničné gliadiny a gluteniny, které omezeně bobtnají za přítomnosti kyslíku. Lepek je příčinou vlastností těsta, jako jsou tažnost a pružnost. Průmyslově získávaný, tzv. vitální lepek vykazuje velký rozptyl obsahu složek. Tradičně jsou uvažovány jako klíčová složka proteiny dvou frakcí – prolaminy a gluteliny [1]. U běžných cereálií představuje lepek značný podíl z celkového množství proteinů. U pšenice je to 31 %, u žita 24 %, u ovsa až 25 %. Alternativními zdroji těchto obilovin jsou tzv. „gluten-free“ neboli bezlepkové cereálie, mezi které se řadí téměř všechny pseudocereálie. Jako bezlepkové se označují rýže, kukuřice, čirok, jáhly, pohanka, quinoa nebo amarant. [25].

Dle PROVÁDĚCÍHO NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 828/2014 o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům lze označit potraviny několika způsoby. Potraviny, které jsou označené tvrzením „bez lepku“ mohou být takto označeny pouze v případě, kdy neobsahuje potravina v konečném stavu více než 20 mg/kg lepku [27].

2.4.3 Lipidy

Úloha lipidů ve výživě je velmi rozmanitá. Kromě vlastních triacylglycerolů obsahují tukové výrobky různé doprovodné látky významné pro výživu. Tuky se dělí podle původu na živočišné a rostlinné [28].

Obilná zrna jsou na lipidy poměrně chudá. Při extrakci etherem byl zjištěn obsah lipidů asi 1,9 %, při extrakci polárním rozpouštědlem 2,2 % a po kyselé hydrolyze 2,5 %. Výjimkou je oves, v jehož zrnu je obsaženo okolo 6 % lipidů. Vyšší obsah lipidů je patrný v klíčcích,

a to až 64 % [1]. Z některých obilovin se lisují oleje (kukuřičný olej), které jsou ceněny pro svůj vysoký podíl nenasycených mastných kyselin [13].

2.4.4 Vitaminy

Vitaminy můžeme rozdělit do dvou kategorií, na vitaminy rozpustné v tucích, mezi které patří vitaminy A, D, E a K a na vitaminy rozpustné ve vodě, mezi které se řadí vitaminy skupiny B, vitamin C a H [29]. U obilovin se nacházejí v obalových vrstvách a klíčku v podstatně větším množství než v endospermu. Obiloviny jsou především považovány za zdroj vitaminů skupiny B [1]. Thiamin a riboflavin jsou obsaženy v obalových vrstvách a klíčcích většiny obilovin. V moukách zbývá pak podle stupně vymletí pouze 10–40 % původního obsahu vitaminů B [13]. Thiamin se nachází v ječmeni, pohankové krupici nebo prosu. Zdrojem thiaminu je také hnědá rýže a divoká rýže. Vitaminu B2 (riboflavin) je ve velké míře obsažen v pohance. Hnědá rýže pak obsahuje až dvojnásobné množství riboflavinu než ostatní druhy rýže [30]. Kyselina nikotinová a další ze skupiny vitaminů B jsou ve vyšších množstvích přítomny v pšenici, ječmeni, pohance či prosu [13].

Vitaminy rozpustné v tucích mají významnou roli při udržení metabolických funkcí u lidí i jiných druhů. Společně s triglyceridy, steroly, fosfolipidy a dalšími minoritními sloučeninami představují část lipidové frakce [31]. Z vitaminů rozpustných v tucích je v obilovinách zastoupen vitamin E, který je významným antioxidantem. Nachází se zejména v rýžových otrubách a obilných zrnech [32]. V nízkém množství je v cereáliích obsažen i vitamin K [33].

2.4.5 Minerální látky

Minerální látky jsou souhrnně označovány jako „popel“ a jedná se o anorganický zbytek po spálení rostlinného materiálu. Tímto způsobem se zároveň stanovuje souhrn minerálních složek obilovin. Obsah popela se v celých zrnech různých obilovin pohybuje od 1,25 do 2,5 % [13].

Minerály jsou esenciálními látkami pro metabolismus a homeostázu lidského těla. Nedostatek může vést k projevu různých poruch a nemocí. V obilovinách jsou zastoupeny ve větším množství hlavně vápník (1 580–1 620 mg/100 g), draslík (600–1 180 mg/100 g), fosfor (215–260 mg/100 g), hořčík (220–240 mg/100 g), železo (13,9–14,5 mg/100 g) a zinek (4–8 mg/100 g) [34].

Zajímavostí je, že velké množství bezlepkových potravin obsahuje nedostatečné množství vápníku, hořčíku a železa [35]. Naopak pseudocereálie, jako je amaranth, quinoa nebo pohanka jsou dobrým zdrojem výše uvedených minerálů. Dokonce bylo zjištěno, že ze všech obilovin obsahuje amaranth nejvyšší množství minerálů, následovaný quinoou a pohankou [36].

2.4.6 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které inhibují nebo uhasínají volné kyslíkové radikály a tím zamezují poškození buněk. Účinek antioxidantů se liší dle jejich druhu, výskyt je však univerzální. Antioxidanty existují jak v enzymové, tak v neenzymové formě [37]. Antioxidační enzymy odstraňují aktivní volné radikály dříve, než dojde k iniciaci oxidačního poškození buněk. Prvním charakterizovaným antioxidačním enzymem byl enzym kataláza. Dalšími antioxidačními enzymy jsou glutathion peroxidáza nebo superoxiddismutáza. Významným

antioxidantem nacházejícím se v obilovinách je vitamin E. Dalšími jsou karotenoidy, flavonoidy a jiné fenolické látky [38]. Celková antioxidační aktivita dosahuje 0,40–0,67 mg/g vzorku u amaranthu, 1,55 mg/g u quinoi a až 3,8 mg/g u pohanky [39].

2.4.6.1 Fenolické látky

Fenolické sloučeniny jsou značně rozšířeny v rostlinách, zelenině, ovoci, obilninách a luštěninách. Jsou důležitou skupinou přírodních antioxidantů s možnými příznivými účinky na lidské zdraví. Z hlediska spotřeby jednotlivých druhů potravin, představují zelenina, ovoce a obiloviny nejdůležitější zdroj fenolických látek [40]. Hlavními sloučeninami vyskytujícími se v obilném zrně jsou fenolové kyseliny, flavonoidy a taniny [41]. Studie prokázaly, že pravidelný příjem celých zrn a celozrnných produktů se pojí se snížením rizika vzniku chronických onemocnění jako jsou kardiovaskulární onemocnění, diabetes typu 2, některé druhy rakoviny a další. Celozrnné produkty jsou bohaté na fotochemikálie. Dokonce obsahují množství bioaktivních látek srovnatelné s jejich množstvím v ovoci a zelenině [42]. Obsah fenolických látek v obilovinách se pohybuje od 0,5–2 mg/g vzorku u amaranthu, 3,5 mg/g vzorku u quinoi, 2,2 mg/g u čiroku bílého a 0,65 mg/g vzorku u čiroku červeného až po 8,2 mg/g vzorku u pohanky [39][43].

2.4.6.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkatým řetězcem. Množství všech flavonoidů se odhaduje na 5 000, avšak stále dochází k novým objevům. Vyskytují se ve formě vonných látek, glykosidů nebo polymerů. Flavonoidy dělíme podle stupně oxidace C₃ řetězce a jeho substituce na katechiny, leukoanthokyany, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly a anthokyany [24].

V pseudocereáliích jako je pohanka, amaranth nebo quinoa byly objeveny flavonoidy rutin, vitexin, orientin, hesperidin a další [24]. Z flavonoidů jsou v obilovinách ve větším množství obsaženy anthokyany, existuje velké množství obilovin, které jsou přirozeně pigmentovány. Tyto barevné cereálie, mezi které patří například fialová kukuřice, černá, červená a hnědá rýže, bývají bohaté na anthokyany. Kromě těchto obilovin jsou anthokyany zastoupeny také v pšenici nebo ječmeni [44].

2.4.6.3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou žluté a oranžové převážně lipofilní pigmenty rostlin, hub, řas, mikroorganismů a živočichů. V rostlinách jsou asociovány s chlorofyly v chromoplastech. V současnosti je známo přes 700 přirozeně se vyskytujících karotenoidních pigmentů [24]. Karotenoidy se dělí do dvou skupin na karoteny a xantofyly. V obilovinách se karotenoidy vyskytují přirozeně ve volné nebo esterifikované formě v závislosti na genotypu rostliny [45]. Některé obiloviny, jako například žlutá kukuřice a pšenice obsahují relativně vysoké množství karotenoidů, zejména pak lutein. Existují i synteticky připravené obiloviny, jako je tritordeum, které obsahuje vyšší množství karotenoidů než běžné obiloviny [46].

2.5 Studované netradiční cereálie

2.5.1 Amaranth

Amaranth (*Amaranthus*), neboli laskavec je zástupce čeledi laskavcovité (*Amaranthaceae*), která zahrnuje více než 60 druhů. Některé z nich jsou pěstovány jako cereálie, zelenina nebo také jako okrasné rostliny, jiné jsou považovány za plevel [47]. Jedná se o jednu z nejstarších obilovin na světě, která byla pěstována již před 4 000 lety. Amaranth sloužil jako potrava Mayů, Aztéků a Inků a byl téměř stejně důležitý jako kukuřice nebo fazole. V současné době je pěstován v různých částech světa, jako jsou Jižní a Střední Amerika, Afrika, Indie, Čína a Spojené státy americké [48]. V posledních desetiletích byla nutriční hodnota amaranthu široce studována a bylo zjištěno, že amaranth obsahuje 12,6–18 % bílkovin, 5–8 % tuku, 60–65 % sacharidů a 3–5 % vlákniny [49].

2.5.2 Čirok

Čirok (*Sorghum*) je obilninou z čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Jedná se o pátou nejpěstovanější obilninu na světě s původem v Africe, kde byla pěstována již před 3 000 až 5 000 lety. V současnosti je nám známo více jak 7 000 druhů čiroku [50]. Čirok je znám jako zdroj fenolických a jiných bioaktivních látek, avšak z důvodu obsahu anti-nutričních faktorů je využíván spíše jako krmivo pro dobytek. V západních zemích se však čirok stal důležitou plodinou pro lidskou populaci, zejména díky odolnosti vůči nepříznivým podmínkám, jeho nutričním a funkčním vlastnostem [51]. Exosperm je tvořen převážně neškrobovými polysacharidy a fenolickými látkami jako jsou například taniny. Hlavními složkami endospermu jsou škrob (60–70 %) a proteiny (10–12 %). Dále jsou v endospermu obsaženy vitaminy skupiny B a minerální látky. Zárodek je pak bohatý na lipidy, vitaminy rozpustné v tucích, vitaminy skupiny B a minerální látky [50][52].

2.5.3 Jáhly

Jedná se o vyloupané proso (*Panicum*), zástupce čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Jsou bezpečnou potravinou s vysokým obsahem vlákniny, bohaté na obsah minerálních látek. Díky vysokému obsahu vlákniny mají jáhly nízký glykemický index a mohou snižovat riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění [53]. Existuje několik druhů prosa, jako je například *Pennisetum glaucum*, šestá nejpěstovanější obilnina na světě, pěstovaná v Indii a Číně. Pěstuje se zejména v suchých a polosuchých tropických oblastech a jedná se o levný zdroj potravy zejména v chudých částech světa. Obsahuje zejména velké množství železa a zinku [54][55].

2.5.4 Kamut

Pšenice Khorasan (*Triticum turanicum*) je zástupce čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Byla poprvé popsána roku 1921 Johnem Percivalem. Svůj název získala dle svého původu, Perské provincie Khorasan, někdy je proto označována jako Orientální pšenice. Dříve byla považována za hybrid mezi pšenicí tvrdou a pšenicí polskou. V současnosti je však dle parametrů své obilky považována za kombinaci více druhů pšenice. Název Kamut získala od značky produktů zdravé výživy Kamut[®], která si získala značnou pozornost v 90. letech minulého století. V současnosti

je pěstována zejména v malém regionu Severní Ameriky na území státu Montana, Severní Dakota a kanadských provincií Alberta a Saskatchewan [56].

2.5.5 Pohanka

Pohanka (*Fagopyrum*) je rostlina z čeledi rdesnovité (*Polygonaceae*) pocházející z Číny. V současnosti je pěstována v chladných horských oblastech Ruska, Číny a Ukrajiny, které jsou zároveň největšími producenty pohanky [57]. Pohanka se zpracovává ve formě krup, mouky, nudlí, ale vyrábí se také pohankový čaj. Jedná se o nutričně významnou obilovinu, používanou v Asijské i Evropské kuchyni. Pohanka je hlavním zdrojem rutinu a flavonoidů, které mají příznivé účinky na zdraví, působí jako antioxidanty a mají protizánětlivé účinky [58]. Obsah sacharidů je až 70 %, z čehož asi 50 % představuje škrob. Obsah proteinů je však pouze 9,6 %. Pohanka je bohatým zdrojem lysinu, který představuje až 6 % z celkového obsahu aminokyselin [59].

2.5.6 Quinoa

Quinoa neboli merlík čilský (*Chenopodium quinoa*) je rostlinou z čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Pochází z oblasti regionu Altiplano nacházejícího se v Andách, kde byla pěstována již po staletí. Díky své genové variabilitě se umí adaptovat na chladné horské klima i na subtropické podmínky. Hlavními producenty jsou Bolívie a Peru, dále pak v Ekvádor a Argentina. V současnosti je však produkce celosvětová a quinoa je pěstována ve Spojených státech Amerických, Kanadě, Austrálii, Číně, Spojeném království a Indii [60]. Společně s jinými pseudocereáliemi obsahuje značné množství fenolických látek, antioxidantů, vitaminů a minerálních látek v porovnání s běžnými cereáliemi [61]. Dle různých studií obsahuje quinoa 64–74 % sacharidů v sušině. Množství vlákniny dosahuje 7,0–16,3 %, což je mnohem vyšší množství, než je tomu u běžných cereálií. Obsah bílkovin v quinoi je asi 13,1–16,7 % a obsahuje aminokyseliny jako jsou lysin, methionin a threonin [62][63].

2.5.7 Slzovka obecná

Slzovka obecná neboli Jobovy slzy (*Coix lacryma-jobi*) je tropická obilnina z čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Je pěstována zejména ve východní, jihovýchodní Asii a Indii. Zrna se konzumují syrová, pečená, vařená nebo se suší a melou na mouku. V Číně a Koreji se využívají pro přípravu fermentovaných alkoholických nápojů [64]. Slzovka obecná obsahuje více než 60 % škrobu, a proto se v potravinářském průmyslu využívá jako významný zdroj škrobu. Na rozdíl od jiných surovin, však obsahuje velmi nízký obsah amylozy (0–8 %) [65].

2.5.8 Teff

Teff neboli Milička habešská (*Eragrostis tef*) je tropickou obilninou z čeledi lipnicovité (*Poaceae*), pocházející z Etiopie. Jedná se o obilninu s nejmenšími zrny na světě, která je velmi dobře adaptovatelná na různé přírodní podmínky. Popularitu si získal díky svým vlastnostem. Jedná se o bezlepkovou cereálii, která je nutričně bohatou potravinou. Obsahuje velké množství minerálů jako je vápník, železo nebo hořčík v porovnání s pšenicí, ječmenem, čirokem nebo prosem. V současnosti je pěstován zejména ve Spojených státech Amerických, Jižní Africe,

Austrálii a Kanadě [66]. Obsah proteinů v teffu je přibližně 8,5 % a hlavní bílkovinnou složkou teffu jsou globuliny a prolaminy. Sacharidy představují až 80 % obilného zrna teffu [67].

2.6 Používané analytické metody

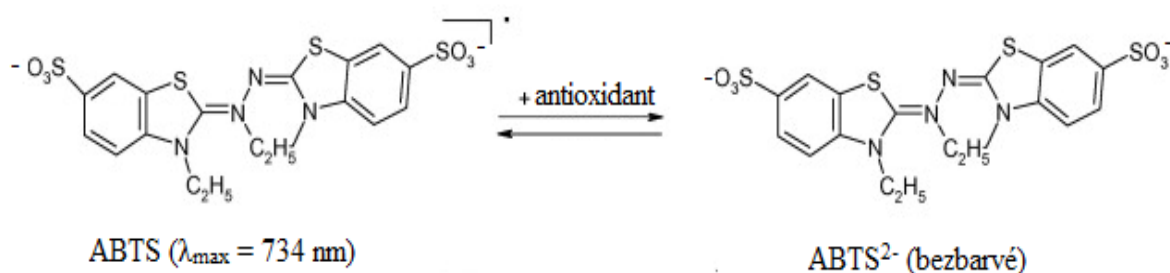
2.6.1 UV-VIS spektrofotometrie

Molekulová absorpční spektroskopie patří mezi optické metody a zabývá se interpretací změn v UV-VIS oblasti. Tyto změny nastávají v molekulách látek při absorpci záření v rozmezí vlnových délek 200–800 nm. Při absorpci energie dochází k přechodu valenčních elektronů. Tyto přechody jsou charakterizovány hodnotou vlnové délky pro maximum pásu λ_{\max} a intenzitou pásu. V analytické chemii se tato intenzita nejjednodušeji vyjádří jako hodnota molárního absorpčního koeficientu ϵ_{\max} , která se vypočítá z hodnoty absorbance A_{\max} změřené pro roztok látky o koncentraci c v kvetě tloušťky 1 cm při vlnové délce λ_{\max} dle Bouguer-Lambert-Beerova zákona [68].

2.6.2 Stanovení antioxidační aktivity

Měření antioxidační aktivity potravin a různých surovin používaných v potravinářství a kosmetice vzbuzuje v posledních letech značný zájem. Měření antioxidační aktivity přináší informace, jako je rezistence vůči oxidaci, kvantitativní množství antioxidantů nebo antioxidační aktivitu, kterou mohou tyto látky působit [69].

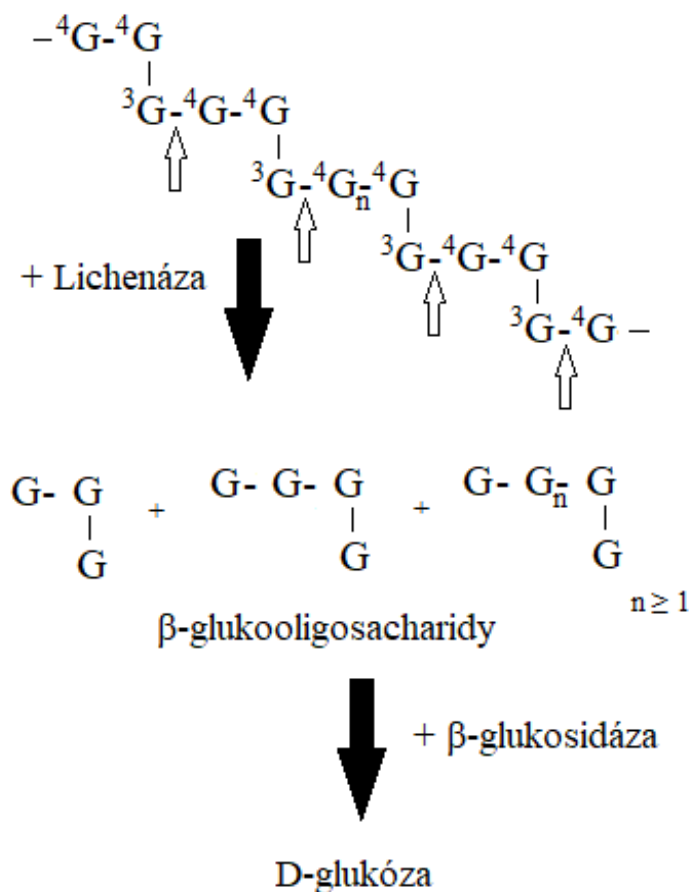
Antioxidační aktivita se měří metodou TEAC neboli Trolox Equivalent Antioxidant Capacity. Tato metoda využívá produkce radikál kationu ABTS^{•+}, který vzniká oxidací 2,2'-azinobis(3-etylbenzothiazolin-6-sulfonátu). Takto vzniklý radikál je zhasen pomocí antioxidantů a měření je pokles absorbance. Koncentrace antioxidantů poskytuje stejné změny absorbance jako odpovídající množství troloxu, na které se tato metoda kalibruje. Aktivita antioxidantů je měřena spektrofotometricky při 734 nm. Toto stanovení je závislé na mnoha faktorech jako je koncentrace ABTS^{•+}, množství vzorku nebo čas [70][71].



Obrázek 2: Reakce ABTS radikálu v přítomnosti antioxidantu, převzato a upraveno z [69]

2.6.3 Enzymové stanovení β -glukanů (Mixed-linkage β -glucan assay kit)

Jedná se o jednoduchou kvantitativní metodu umožňující přímou analýzu (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glukanů v ječmenné mouce nebo sladu. Smíšená vazba β -glukanů je specificky depolymerizovaná enzymem lichenázou (systematicky zvaným (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glukan hydroláza) a následně specificky a kvantitativně hydrolyzována na glukózu enzymem β -D-glukosidázou. Glukóza je potom stanovena za účasti glukosidázy. Tato metoda je vhodná pro stanovení β -glukanů v ječmeni a jemu podobných vzorcích [72].



Obrázek 3: Stanovení β -glukanů pomocí Mixed-linkage β -glucan assay kit

2.6.4 Imunochemické stanovení lepku (RIDASCREEN® Gliadin competitive)

V současné době jsou pro stanovení lepku v potravinách často využívány ELISA testy. Jejich detekční limity se pohybují totiž v nízkém rozsahu ppm [73].

Kit RIDASCREEN® Gliadin competitive využívá monoklonální protilátku R5, která specificky reaguje s celiakálním toxickým epitopem QQFPF gliadinu, čímž dochází ke zvýšení specifity testu. Protilátka R5 je schopná rozpoznávat imunostimulační epitopy bohaté na prolin a glutamin nacházejících se v pšenici a příbuzných obilovinách [73][74].

2.6.5 Testování cytotoxicity

Pojem cytotoxicita je běžně používán pro označení potenciálu látek vyvolat změny v buněčném chování a významných buněčných procesech, které následně spouštějí buněčnou smrt nebo způsobují vyšší úmrtnost buněk. Buňky jsou schopné projevit specifickou odezvu jako výsledek vystavení různým chemikáliím nebo fyzickému stresu. V současné době existuje několik metod pro testování cytotoxicity. Mezi běžně sledované parametry využívané při měření cytotoxicity patří propustnost buněčných membrán, obsah buněčných metabolitů, mitochondriální funkce, lysozomální funkce nebo buněčná smrt [75].

2.6.5.1 Buněčné kultury

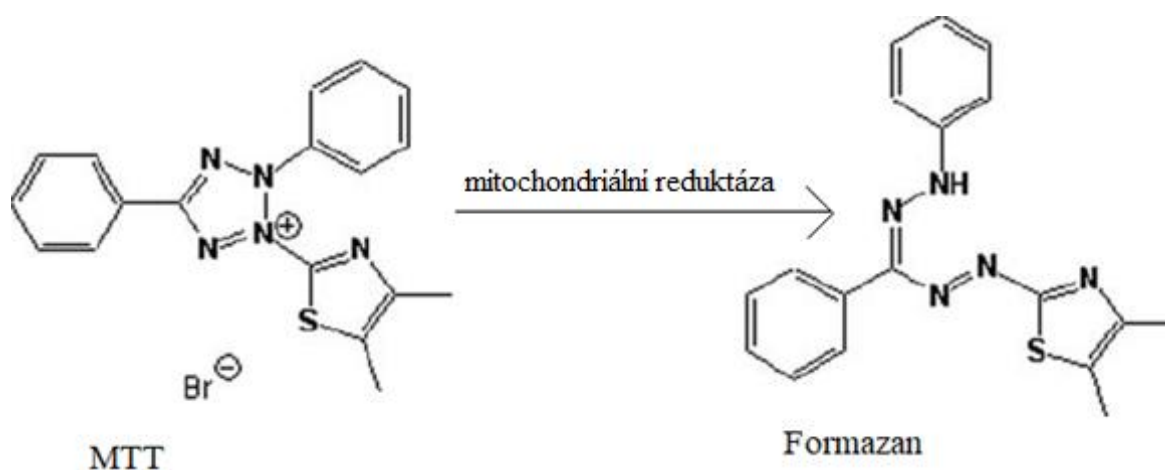
V současnosti jsou buněčné kultury využívány v různých vědních disciplínách, jako jsou například biotechnologie nebo farmaceutický průmysl. Zároveň se buněčné kultury používají pro studium biologických procesů [76].

Pro studium cytotoxicity lze využít nespočet buněčných kultur. V současnosti se často využívají kožní buňky jako jsou například HaCaT keratinocyty, dále pak jaterní buňky aj. Použití buněčných kultur závisí na testované látce, jejím místě působení atd. [76][77].

2.6.5.2 MTT test cytotoxicity

Mnoho studií se zabývá měřením přežití nebo rozmnožování savčích buněk. Toho může být dosaženo několika metodami. Při této metodě je dosaženo kratší doby trvání analýzy na rozdíl od metod jiných. MTT test cytotoxicity využívá spektrofotometrického stanovení pomocí metody ELISA, kdy může být měřeno velké množství vzorků s vysokým stupněm přesnosti [78].

MTT test je kolorimetrickou metodou založenou na měření viability buněk, který je založen na tetrazoliové soli MTT (3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid). Při testování dochází k redukci žluté tetrazoliové soli MTT na fialové krystaly formazanu v přítomnosti živých buněk [74][78]. K redukci dochází působením buněčných NAD(P)H oxidoreduktáz, které jsou přítomny v cytoplazmě, plazmatické membráně a v mitochondriích [79].



Obrázek 4: Stanovení cytotoxicity MTT testem, převzato a upraveno z [80]

2.6.6 Senzorická analýza

Senzorická analýza je definována jako metoda využívající se k vyvolání, měření, analýze a interpretaci reakcí na podněty, které jsou vnímány smysly. Jedná se o vědu, zabývající se hodnocením organoleptických vlastností potravin pomocí lidských smyslů. Při sensorické analýze se nejčastěji sleduje vzhled, tedy viditelné vlastnosti produktu. Dále pak chuť, pach, barva nebo textura. Dle složitosti zkoušky se udává počet vzorků pro analýzu, např. při hodnocení chuti by se nemělo podávat více než 5 až 6 vzorků, při hodnocení textury 8 až 10 vzorků. Při hodnocení barvy a vzhledu pak může být pro sensorickou analýzu použito 20 až 30 vzorků [81].

3 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je analýza vybraných složek a ověření biologických účinků některých tzv. netradičních cereálií.

Práce byla řešena v následujících krocích:

- Rešerše zaměřená na netradiční cereálie a jejich aktivní složky
- Optimalizace metod analýzy struktury a účinků aktivních látek
- Analýza obsahu aktivních složek, stability a biologické aktivity vybraných cereálií
- Sensorická analýza

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Seznam použitých chemikálií

Kyselina chlorovodíková konc., Lach-Ner (ČR)
Kyselina sírová konc., Lach-Ner (ČR)
Síran sodný, Lach-Ner (ČR)
Síran měďnatý pentahydrát, Sigma-Aldrich (SRN)
Fenol, p.a., Lach-Ner (ČR)
Glukóza monohydrát, p.a., Lach-Ner (ČR)
Hydroxid sodný, Lach-Ner (ČR)
ABTS – 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina), Sigma-Aldrich (SRN)
Peroxidisíran draselný, Sigma-Aldrich (SRN)
Ethanol pro UV/VIS 99%, Lach-Ner (ČR)
Trolox, Sigma-Aldrich (SRN)
Folin-Ciocalteuovo činidlo, Penta (ČR)
Uhlíčan sodný, Lach-Ner (ČR)
Kyselina gallová, Sigma-Aldrich (SRN)
Dusitan sodný, p.a., Lachema (ČR)
Chlorid hlinitý, p.a., Lach-Ner (ČR)
Katechin, Sigma-Aldrich (SRN)
DMEM médium, Sigma-Aldrich (SRN)
EMEM médium, Sigma-Aldrich (SRN)
Dodecylsíran sodný, Serva (SRN)
MTT, Duchefa Biochemie (NL)
Trypsin, Versene EDTA, P-Lab (ČR)
FBS fetální bovinní sérum, HyClone (USA)
Dihydrogenfosforečnan draselný p.a., Vitrum-LachNer (ČR)
Chlorid sodný p.a., Vitrum-LachNer (ČR)
Antibiotic-Antimycotic 100X (Biosera), Biotech (SRN)
Kit pro stanovení β -glukanů, Mixed-linkage β -glucan assay kit, Megazyme (IRL)
Kit pro stanovení lepku, RIDASCREEN® Gliadin competitive, R-Biopharm (SRN)

4.2 Seznam použitých pomůcek a přístrojů

Kávomlýnek ETA Fraganza, ETA (ČR)
Předvážky Kern 440-43, Kern & Sohn GmbH (SRN)
Analytické váhy Boeco (SRN)
Vortex, V-1, Biosan (LV)

Centrifuga, Boeco U-32R, Hettich Zentrifugen (SRN)
Inverzní biologický mikroskop I-101 L-scientific, Laboserv (ČR)
Spektrofotometr, Helios δ , Unicam (GB)
Spektrofotometr, NanoPhotometer[®] Classic, Implen GmbH (SRN)
ELISA reader BioTek Elx808, BioTek (SRN)
Vodní lázeň EL-20, Merci a.s. (ČR)
Ultrazvuková lázeň PS02000 (ČR)
Třepačka IKA Yellow Line (SRN)
Temperovaná třepačka, Heidolph Inkubator 1000, Labicom (ČR)
Automatické pipety s různým rozsahem objemu – Discovery (SRN) a Biohit (SRN)
CellCulture CO₂ Inkubátor, ESCO (SRN)
Biohazard box, Airstream II, ESCCO (SRN)
Mineralizační blok Kjeldatherm KT 8s, Gerhardt (SRN)
Destilační systém VAPODEST[®] 200, Gerhardt (SRN)

4.3 Použité humánní buňky

Pro stanovení cytotoxicity byly použity buňky HaCaT Human keratinocytes cell line, permanent cell line, které pocházely ze zdravého mužského dárce, ze sbírky buněčných kultur Cell Lines Service, Eppelheim (Německo).

Dále byly použity buňky CaCO-2 Human Colon Adenocarcinoma cell line, permanent cell line, které byly izolovány z primárního nádoru tlustého střeva 72letého mužského dárce, ze sbírky buněčných kultur Cell Lines Service, Eppelheim (Německo).

4.4 Materiál použitý pro senzorickou analýzu

Cukr krystal, Cukrovar Vrbátky, a.s. (ČR)
Čerstvé vejce z klecového chovu, třída A, OVUS - podnik živočišné výroby spol.s r.o. (ČR)
Slunečnicový olej, Bunge Zrt. (H)
Mléko polotučné, Mlékárna Hlinsko, a.s. (ČR)
Kypřicí prášek do pečiva, Dr. Oetker s.r.o. (SK)

4.5 Seznam použitých vzorků

V rámci bakalářské práce byly analyzovány vzorky netradičních cereálií. Vybranými vzorky byly amarant, amarantové vločky, čirok bílý, čirok červený, jáhly, jáhlové vločky, kamut, pohanka, pohankové vločky, quinoa bílá, quinoa černá, quinoa červená, slzovka a teffové vločky.

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

Vzorek	Země původu	Energie [kJ/kcal]	Sacharidy [g]	Cukry [g]	Bílkoviny [g]	Tuky [g]
Amaranth	Indie	1554/371	65,0	1,7	14,0	7,0
Amarantové vločky	Indie	1565/374	51,0	0,0	14,0	6,5
Čirok bílý	Indie	1459/347	72,0	0,0	10,0	1,9
Čirok červený	Ukrajina	1459/347	72,0	0,0	10,0	1,9
Jáhly	Ukrajina	1560/369	72,0	0,5	11,0	3,5
Jáhlové vločky	Polsko	1504/356	65,0	0,0	11,0	4,0
Kamut	Kanada	1625/384	68,2	2,4	19,6	2,6
Pohanka	Polsko	1436/343	71,5	1,4	13,3	3,4
Pohankové vločky	Polsko	1530/361	71,0	2,0	12,0	3,0
Quinoa bílá	Indie	1491/356	60,0	0,0	16,0	7,0
Quinoa černá	Peru	1484/351	58,5	2,0	14,8	5,0
Quinoa červená	Peru	1594/381	71,0	0,0	14,0	5,9
Slzovka	Thajsko	1612/388	67,0	3,8	13,0	7,4
Teffové vločky	Bulharsko	1393/329	64,0	3,0	11,0	2,0

4.6 Příprava vzorků pro analýzu

Pro analýzu musely být vzorky upraveny. Jednotlivé vzorky byly rozemlety pomocí kávomlýnku ETA Fraganza na práškovou formu, se kterou bylo dále pracováno.

4.6.1 Příprava vzorku pro stanovení sacharidů dle Duboise

Pro stanovení sacharidů dle Duboise byla použita kyselá hydrolýza. Vzorky byly hydrolyzovány 6M kyselinou chlorovodíkovou. Do centrifugační zkumavky byl navážen 1 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 10 ml 6M kyseliny chlorovodíkové. Takto připravené vzorky byly promíchány na vortexu. Hydrolýza probíhala při teplotě 37 °C na třepače. Po skončení

hydrolyzy byl vzorek v centrifugační zkumavce zcentrifugován při 9 000 ot/min po dobu 10 minut při 25 °C. Zcentrifugované vzorky byly následně 1 000x zředěny a použity pro analýzu.

4.6.2 Příprava vzorků pro stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla

Pro stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla byl do mineralizační trubice odvážen 1 g vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml koncentrované kyseliny sírové a 2 g Weiningerova katalyzátoru (90 g síranu sodného, 7 g síranu rtuťnatého, 1,5 g síranu měďnatého a 1,5 g selenu). Trubice byla vložena do mineralizačního bloku a vzorek byl mineralizován (3 hodiny, 400 °C).

4.6.3 Příprava vzorků pro spektrofotometrické stanovení

Nejprve byly připraveny vodné extrakty. Ty byly připraveny navážením 1 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 10 ml destilované vody. Takto připravené vzorky byly promíchány na vortexu a po dobu 24 hodin byly extrahovány na třepačce při teplotě 37 °C. Po skončení extrakce byl vzorek v centrifugační zkumavce zcentrifugován při 9 000 ot/min po dobu 10 minut při 25 °C. Zcentrifugované vzorky byly následně použity pro analýzu.

4.6.4 Příprava vzorků pro testování cytotoxicity

Nejprve byly připraveny vodné extrakty stejně jako tomu bylo při přípravě vzorků pro spektrofotometrické stanovení (viz. Kapitola 4.6.3). Připravené extrakty vzorků byly ve zkumavkách eppendorf vloženy do sterilního boxu. Vzorky byly přes jehlu nasáty do stříkačky, na stříkačku byl nasazen bakteriologický filtr (25 mm, 0,2 µm, PES VWR (514-0073)) a vzorek byl přefiltrován do jiné sterilní zkumavky. Sterilní vzorky byly ředěny médiem na požadovanou koncentraci a před použitím byly promíchány na vortexu.

4.6.5 Příprava vzorků pro stanovení lepku

Pro analýzu byly připraveny ethanolové extrakty vzorků. Ty byly připraveny navážením 1 g vzorku, ke kterému bylo pipetováno do zkumavky 10 ml 60% roztoku ethanolu. Vzorky byly promíchány na vortexu a následně byly po dobu 10 minut promíchávány otáčením. Po 10 minutách byly vzorky centrifugovány po dobu 10 minut, při 2 500 g a při laboratorní teplotě. Supernatant byl 50x zředěn puforem a takto naředěný vzorek byl dále používán pro analýzu.

4.6.6 Příprava vzorků pro senzoricou analýzu

Pro senzoricou analýzu byly připraveny produkty z 6 vzorků, kterými byly amarant, čirok bílý, jáhly, kamut, pohanka a quinoa bílá. Vzorky byly nejprve po dobu 1 hodiny namáčeny ve vodě. Po hodině byla voda slita a vzorky byly znovu další hodinu namáčeny ve vodě. Po uplynutí hodiny byla voda slita, vzorky byly umístěny na plech a vloženy do horkovzdušné trouby MORA, kde byly vysušeny při 50 °C. Usušené vzorky byly rozemlety pomocí kávomlýnku ETA Fraganza na práškovou formu, která byla využita místo mouky pro přípravu analyzovaného produktu. Pro přípravu samotného produktu bylo smícháno 200 g práškové formy vzorku s 40 g cukru. Ke směsi byly přidány 2 žloutky, 50 ml slunečnicového oleje, 125 ml mléka a balíček prášku do pečiva. Směs byla dokonale promíchána. Ze dvou bílků byl vyšlehan pevný sníh, který byl vmíchán do připravené směsi. Takto připravená směs byla plněna do forem a pečena při 180 °C po dobu 30 minut.

4.7 Charakterizace vzorků

4.7.1 Stanovení celkových sacharidů dle Duboise

Celkové sacharidy se stanovují metodou dle Duboise. Pro kalibraci byl připraven zásobní vodný roztok glukózy o koncentraci 1 µg/ml. Z tohoto zásobního roztoku byla připravena kalibrační řada v rozmezí 0,1–1 µg/ml. Do zkumavky bylo pipetováno 1 ml standardu, 1 ml 5% roztoku fenolu a 5 ml koncentrované kyseliny sírové. Směs byla promíchána a ponechána volně při laboratorní teplotě po dobu 30 minut. Absorbance byla měřena na spektrofotometru při 490 nm proti slepému vzorku.

Stejným postupem byly analyzovány jednotlivé vzorky, místo 1 ml standardu byl pipetován 1 ml roztoku vzorku. Každý vzorek byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

4.7.2 Stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla

K mineralizovanému vzorku (kapitola 4.6.2) v mineralizační trubici bylo přidáno několik kapek fenolftaleinu a mineralizační baňka byla připojena k destilačnímu přístroji. Ke vzorku v trubici bylo přidáno 40 ml 33% roztoku hydroxidu sodného. Uvolněný amoniak byl pomocí destilačního systému VAPODEST (3,5 min) predestilován s vodní parou do titrační baňky obsahující 25 ml 0,05M roztoku kyseliny sírové. Po ukončení destilace byly do titrační baňky přidány 3 kapky Tashirova indikátoru a vzorek byl titrován odměrným roztokem 0,1M hydroxidu sodného do zeleného zbarvení.

Touto metodou byl stanoven obsah dusíku ve vzorku, který byl vynásobením příslušným faktorem přepočítán na obsah hrubé bílkoviny. Pro vzorky analyzované v bakalářské práci bylo počítáno s faktorem 5,83 [82]. Každý vzorek byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

4.7.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Před měřením byl nejprve zředěn zásobní roztok ABTS•+ ethanolem pro UV/VIS na absorbanci $0,70 \pm 0,02$ při 734 nm proti blanku (UV/VIS ethanol). Dále byl používán pouze tento naředěný roztok ABTS•+. Do zkumavky eppendorf byl pipetován 1 ml připraveného roztoku ABTS•+ a 10 µl destilované vody. Poté byla ihned změřena absorbance v čase 0 minut (hodnota A_0). Do dalších zkumavek bylo pipetováno 1 ml roztoku ABTS•+ a 10 µl extraktu vzorku. Roztok byl promíchán a po dobu 10 minut byl uchováván ve tmě. V čase 10 minut byla měřena absorbance, a byl sledován její pokles oproti hodnotě A_0 .

Pro výpočet celkové antioxidační aktivity byla použita kalibrační křivka Troloxu v rozmezí koncentrací 40–400 µg/ml. Trolox byl při přípravě kalibrační křivky rozpuštěn v 60% roztoku ethanolu a absorbance byla měřena spektrofotometricky při 734 nm proti blanku. Každý vzorek, připravený dle postupu v kapitole 4.6.3, byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

4.7.4 Stanovení celkových fenolických látek

Stanovení celkových fenolických látek bylo provedeno spektrofotometricky metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Nejprve byl připraven roztok nasyceného uhličitanu sodného a zředěný vodný roztok Folin-Ciocalteuova činidla v poměru 1:9.

Do zkumavky bylo pipetováno 1 ml žředěného Folin-Ciocalteuova činidla, 1 ml destilované vody a 100 μ l vodného extraktu vzorku. Roztok ve zkumavkách byl promíchán na vortexu a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Po pěti minutách byl do zkumavky přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného, roztok byl opět promíchán na vortexu a ponechán 15 minut při laboratorní teplotě. Po 15 minutách byla změřena absorbance při 750 nm proti blanku.

Obsah celkových fenolických látek ve vzorku byl vypočítán z rovnice kalibrační křivky, které byla připravena pro roztok kyseliny gallové v rozmezí 0,1–0,5 mg/ml. Každý vzorek, připravený dle postupu v kapitole 4.6.3, byl analyzován třikrát, byla vypočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka.

4.7.5 Stanovení flavonoidů

Do zkumavky bylo vždy pipetováno 0,5 ml extraktu vzorku, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku dusitanu sodného. Roztok ve zkumavce byl promíchán na vortexu a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Po 5 minutách bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého. Roztok byl opět promíchán na vortexu a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Nakonec bylo přidáno 1,5 ml 5% roztoku hydroxidů sodného a 1 ml destilované vody. Po 15 minutách byla měřena absorbance při 510 nm proti blanku.

Obsah flavonoidů ve vzorku byl vypočítán z rovnice kalibrační křivky, které 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.

4.7.6 Stanovení β -glukanů

Do zkumavky bylo naváženo 40–60 mg vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 0,1 ml 50% roztoku ethanolu a 2 ml fosfátového pufru (20mM, pH 6,5), roztok byl promíchán na vortexu a inkubován po dobu 60 s při 100 °C. Následně byly vzorky opět promíchány na vortexu a inkubovány při 100 °C po dobu dalších 120 s. Následně byly vzorky inkubovány po dobu 5 minut při 50 °C. Ke vzorku byl přidán 0,1 ml enzymu lichenázy a obsah byl promíchán na vortexu. Vzorek byl inkubován po dobu 1 hodiny při teplotě 50 °C. Po inkubaci bylo ke vzorku přidáno 2,5 ml acetátového pufru (200mM, pH 4). Roztok ve zkumavce byl promíchán na vortexu a zcentrifugován při 1 000 g po dobu 10 minut. 0,5 ml supernatantu bylo pipetováno do 3 zkumavek. Do dvou ze tří zkumavek bylo přidáno 50 μ l enzymu β -glukosidázy, do 3. zkumavky bylo přidáno 50 μ l acetátového pufru (50mM, pH 4). Roztok ve zkumavkách byl inkubován po dobu 10 minut při 50 °C. Následně bylo k roztoku ve zkumavce přidáno 1,5 ml GOPOD reagentu. Roztok ve zkumavce byl inkubován 20 minut při 50 °C a následně již byla měřena absorbance při 510 nm proti blanku.

4.7.7 Stanovení lepku

50 μ l vzorku připraveného dle postupu v kapitole 4.6.5 bylo pipetováno vždy do 2 jamek na destičce, která byla součástí kitu. Následně bylo do každé jamky pipetováno 50 μ l žředěného konjugátu. Vzorek s konjugátem v jamkách byly promíchány lehkým zatřepáním a byly inkubovány po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Po 30 minutách byla destička otočena dnem vzhůru a byla oklepána o filtrační papír tak, aby došlo k odstranění tekutiny ze všech jamek na destičce. Do každé jamky bylo následně pipetováno 250 μ l promývacího pufru, který byl z jamek odstraněn stejně jako tekutina v předchozím případě. Tento krok byl zopakován

ještě dvakrát. Dále bylo do každé jamky pipetováno 100 µl substrátu (chromogenu). Zatřepáním byl jemně promíchán obsah všech jamek a destička byla inkubována po dobu 10 minut ve tmě při laboratorní teplotě. Nakonec bylo přidáno 100 µl zastavovacího roztoku do každé jamky. Obsah jamek byl jemným zatřepáním promíchán a během 10 minut byla změřena absorbance při 450 nm. Pro stanovení obsahu gliadinu ve vzorcích byla proměřena kalibrační řada, která byla součástí kitu a její rozmezí bylo 0-270 ng/ml. Z hodnot kalibrační křivky byl obsah gliadinu ve vzorcích stanoven pomocí funkce cubic spline v MS Excel. Tyto hodnoty byly následně přepočítány na obsah lepku ve vzorcích vynásobením faktorem 2, který byl dán návodem, který byl součástí kitu.

4.7.8 Testování cytotoxicity

Pro testování cytotoxicity byly použity humánní buňky, keratinocyty HaCaT a střevní buňky CaCO-2.

4.7.8.1 Kultivace keratinocytů

Kultivace keratinocytů probíhala ve sterilním inkubačním boxu, který byl nastaven na teplotu 37 °C. Obsah CO₂ byl 5 % a relativní vlhkost 90 %. Jako kultivační médium bylo použito komerční DMEM médium, do kterého bylo přidáno 10% FBS a 1% antibiotikum. DMEM médium bylo uchováno v lednici při teplotě 4 °C. Před samotnou prací bylo nejprve médium ohřáto ve vodní lázni na 37 °C. Během manipulace s buňkami byl kladen velký důraz na sterilitu práce. Při kultivaci byly buňky denně kontrolovány pod mikroskopem a dle výsledku byl zvolen další postup.

4.7.8.2 Kultivace CaCO-2

Kultivace CaCO-2 probíhala ve sterilním inkubačním boxu, který byl nastaven na teplotu 37°C. Obsah CO₂ byl 5 % a relativní vlhkost 90 %. Jako kultivační médium bylo použito komerční EMEM médium, do kterého bylo přidáno 10% FBS a 1% antibiotikum. EMEM médium bylo uchováno v lednici při teplotě 4 °C. Před samotnou prací bylo nejprve médium ohřáto na 37 °C. Během manipulace s buňkami byl kladen velký důraz na sterilitu práce. Při kultivaci byly buňky denně kontrolovány pod mikroskopem a dle výsledku byl zvolen další postup.

4.7.8.3 Výměna živného média

Výměna média byla prováděna při změně barvy média z červené na oranžovou, případně alespoň jednou za dva dny. Při výměně média bylo nejprve slito z kultivačních lahvíček staré médium a do lahvíček bylo pipetováno médium nové. Do velké kultivační lahvičky bylo přidáno 15 ml, do malé 5 ml média.

4.7.8.4 Pasážování keratinocytů

Pokud bylo při kontrole kultivační lahvičky pod mikroskopem zjištěno, že konfluence buněk je vyšší jak 80 %, bylo nutné provést pasážování. Dle počtu pasážovaných lahvíček byly nachystány centrifugační zkumavky s 5 ml PBS. Z kultivačních lahvíček bylo vylito médium a lahvičky byly několikrát promyty roztokem PBS. Následně byl do lahvíček pipetován trypsin (1 ml do velké, 0,5 ml do malé lahvičky), který byl rozlit po celé lahvičce a buňky byly inkubovány po dobu 10 minut v inkubačním boxu. Následně bylo pod mikroskopem ověřeno, zda došlo k uvolnění buněk ode dna lahvičky. Pokud nedošlo k uvolnění buněk ode dna, lahvička byla několikrát protřepána, buňky byly případně seškrabány ze dna lahvičky pomocí

škrabky. Roztok PBS byl napipetován z centrifugační zkumavky do lahvičky. Důkladně jím byla lahvička propláchnuta a celý obsah kultivační lahvičky byl přenesen zpět do centrifugační zkumavky. Obsah zkumavky byl zcentrifugován po dobu 5 minut při 320–360 RCF. Jakmile byl obsah zkumavky zcentrifugován, roztok PBS byl slit a peletka buněk byla rozsuspendována v 5 ml DMEM média. Buňky v médiu byly přeneseny do kultivační lahvičky a doplněny na potřebný objem médiem (velká lahvička 15 ml a malá 5 ml). Obsah lahvičky byl zkontrolován pod mikroskopem a lahvičky byly umístěny do inkubačního boxu.

4.7.8.5 Pasážování CaCO-2

Pokud bylo při kontrole kultivační lahvičky pod mikroskopem zjištěno, že konfluence buněk je vyšší jak 80 %, bylo nutné provést pasážování. Dle počtu pasážovaných lahviček byly nachystány centrifugační zkumavky s 5 ml EMEM média. Z kultivačních lahviček bylo vylito médium a lahvičky byly několikrát promyty roztokem PBS. Následně byl do lahviček pipetován trypsin (1 ml do velké, 0,5 ml do malé lahvičky), který byl rozlit po celé lahvičce a buňky byly inkubovány po dobu 5 minut v inkubačním boxu. Následně bylo pod mikroskopem ověřeno, zda došlo k uvolnění buněk ode dna lahvičky. Pokud nedošlo k uvolnění buněk ode dna, lahvička byla několikrát protřepána, buňky byly případně seškrabány ze dna lahvičky pomocí škrabky. Médium bylo napipetováno z centrifugační zkumavky do lahvičky. Důkladně jím byla lahvička propláchnuta a celý obsah kultivační lahvičky byl přenesen zpět do centrifugační zkumavky. Obsah zkumavky byl zcentrifugován po dobu 5 minut při 300 RCF. Jakmile byl obsah zkumavky zcentrifugován, médium bylo slito a peletka buněk byla rozsuspendována v 5 ml EMEM média. Buňky v médiu byly přeneseny do kultivační lahvičky a doplněny na potřebný objem médiem (velká lahvička 15 ml a malá 5 ml). Obsah lahvičky byl zkontrolován pod mikroskopem a lahvičky byly umístěny do inkubačního boxu.

4.7.8.6 MTT test cytotoxicity

Nejprve byly pomocí Bürkerovi komůrky spočítány buňky pod mikroskopem a následně bylo vypočítáno celkové množství buněk v lahvičce. Dle množství buněk v lahvičce bylo provedeno vhodné ředění. Naředěné buňky byly důkladně promíchány a nality do sterilního korýtka. Do 96 jamkové destičky bylo pipetováno do středových jamek 0,1 ml vhodně naředěných buněk, do krajních jamek bylo pipetováno PBS, aby nedocházelo k vysychání. 96 jamková destička s napipetovanými buňkami byla inkubována po dobu 24 hodin v inkubačním boxu při teplotě 37 °C. Po 24 hodinách byla provedena kontrola růstu buněk pod mikroskopem. Médium bylo z jamek důkladně odpipetováno a do jamek bylo dle schématu (Tabulka 2) pipetováno 0,1 ml extraktu vzorku, připraveného dle postupu v kapitole 4.6.4 a dále pak jednotlivé kontroly (C_c, V_c, EtOH). Po 24h inkubaci byly vzorky odpipetovány. Roztok MTT o koncentraci 2,5 mg/ml byl přefiltrován přes bakteriologický filtr, do každé jamky bylo pipetováno 20 µl roztoku MTT a destička byla inkubována po dobu 3 hodin v inkubačním boxu. Po 3 hodinách byl roztok MTT odpipetován a do jamek bylo pipetováno 100 µl 10% roztoku SDS v PBS. Destičky byly zabaleny do alobalu a uschovány ve tmě po dobu minimálně 24 hodin. Po 24 hodinách byla měřena absorbance při 540, 562 a 630 nm.

Tabulka 2: Schéma 96 jamkové destičky – pipetování zředěných vodných extraktů vzorků

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	Vc	PBS
C	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	Vc	PBS
D	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	Vc	PBS
E	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	EtOH	PBS
F	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	EtOH	PBS
G	PBS	CC	4%	8%	12%	16%	20%	24%	28%	Vc	EtOH	PBS
H	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS

4.7.9 Senzorická analýza

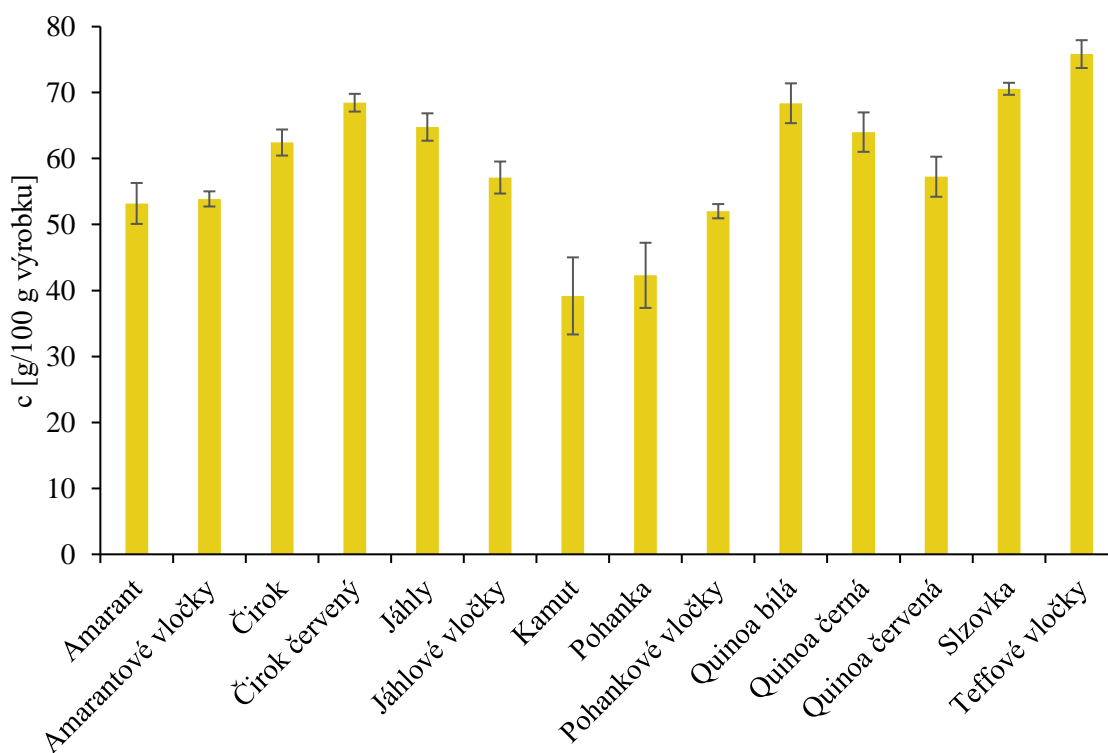
Senzorická analýza se uskutečnila dne 17.6.2020 v čase od 10 do 14 hodin v zasedací místnosti Ústavu chemie potravin a biotechnologií FCH VUT v Brně. Analýza byla zaměřena zejména na chuťový, zrakový a čichový vjem. Celkem bylo při senzorické analýze hodnoceno 6 vybraných vzorků (Amaranth, Čirok bílý, Jáhly, Kamut, Pohanka a Quinoa bílá). Hodnotitelé byly studenti a akademičtí pracovníci FCH VUT v Brně. Senzorické analýzy se zúčastnilo celkem 25 respondentů.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato bakalářská práce byla zaměřená na analýzu vybraných složek a ověření biologických účinků některých tzv. netradičních cereálií. V rámci práce byly optimalizovány metody analýzy vybraných cereálií. Rovněž byly analyzovány aktivní složky a biologické účinky těchto cereálií. V rámci bakalářské práce byla také provedena senzorická analýza u vybraných vzorků.

5.1 Stanovení celkových sacharidů dle Duboise

Pro stanovení celkových sacharidů dle Duboise byl použit postup uvedený v kapitole 4.7.1 a pro samotnou analýzu byly používány hydrolyzované vzorky (viz kapitola 4.6.1). Obsah sacharidů v jednotlivých vzorcích byl určen z vytvořené kalibrační závislosti, jejíž kalibrační rovnice byla $y = 8,2282 \cdot x$, kde y je absorbance a x koncentrace sacharidů ve vzorku. V grafu (Obrázek 5) jsou uvedené výsledky stanovení dle Duboise včetně odchylky jednotlivých měření.



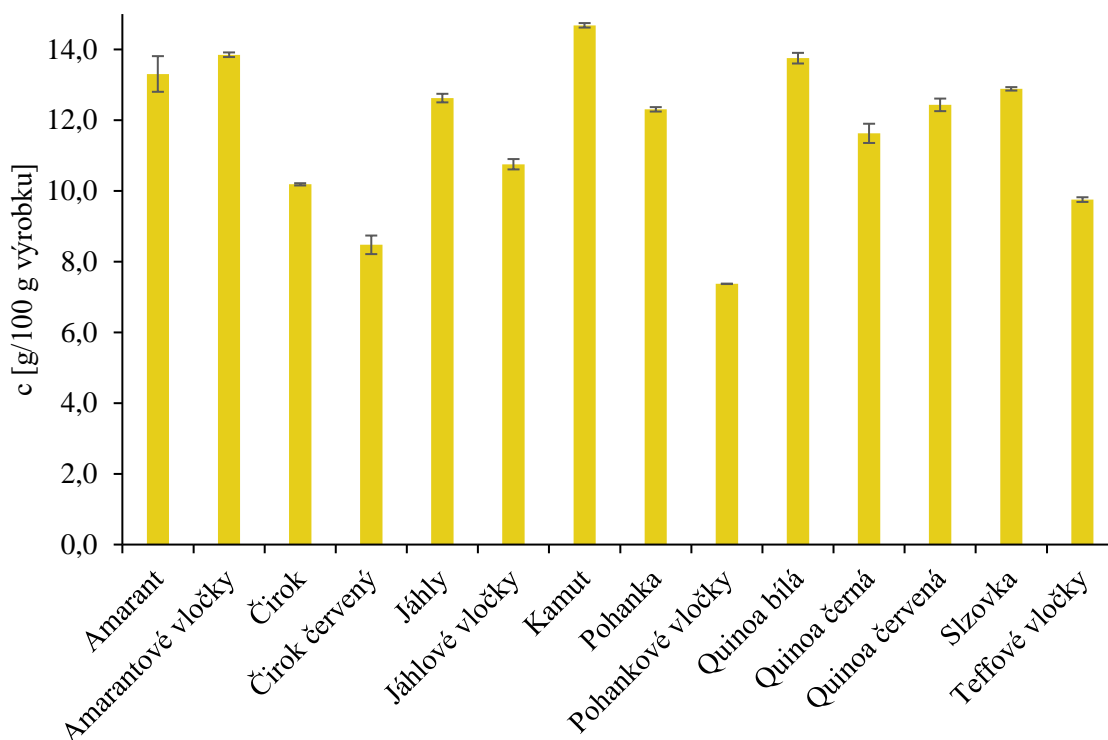
Obrázek 5: Obsah sacharidů stanovený ve vzorcích metodou dle Duboise

Sacharidy jsou hlavní složkou obilovin, u kterých představují průměrně 65–70 % zrna [10]. Z grafu (Obrázek 5) vyplývá, že metodou dle Duboise byl stanoven obsah sacharidů ve vzorku v rozmezí od 40 do 76 %. Nejnižší obsah sacharidů byl naměřen v kamutu (39 ± 6 %) a pohance (42 ± 5 %). Takto nízký obsah sacharidů byl pravděpodobně způsoben nedokonalou homogenizací vzorku. Zároveň při stanovení došlo u těchto dvou vzorků k největším odchylkám. Naopak nejvyšší obsah sacharidů byl stanoven u teffových vloček (76 ± 2 %). Při stanovení sacharidů ve vzorcích nelze porovnávat rozdíl způsobený barevnou variací nebo zpracováním. Což také vyplývá z grafu, kde jsou téměř všechny výsledky podobné a rozdíly mezi různými formami jednoho druhu obilovin není až tak markantní. V případě

amaranthových vloček a quinoi bílé byl změřen obsah sacharidů ve vzorku shodný s obsahem udávaným výrobcem. U ostatních vzorků se výsledek mírně lišil.

5.2 Stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla

Pro stanovení hrubé bílkoviny dle Kjeldahla byl využit postup uvedený v kapitole 4.7.2, vzorky pro samotnou analýzu byly připraveny dle kapitoly 4.6.2. Při stanovení dle Kjeldahla byl titračně stanoven obsah dusíku ve vzorku, který byl pomocí faktoru 5,83 přepočítán na obsah bílkovin v jednotlivých vzorcích. Výsledky stanovení jsou uvedeny v grafu (Obrázek 6) včetně odchylek jednotlivých měření.



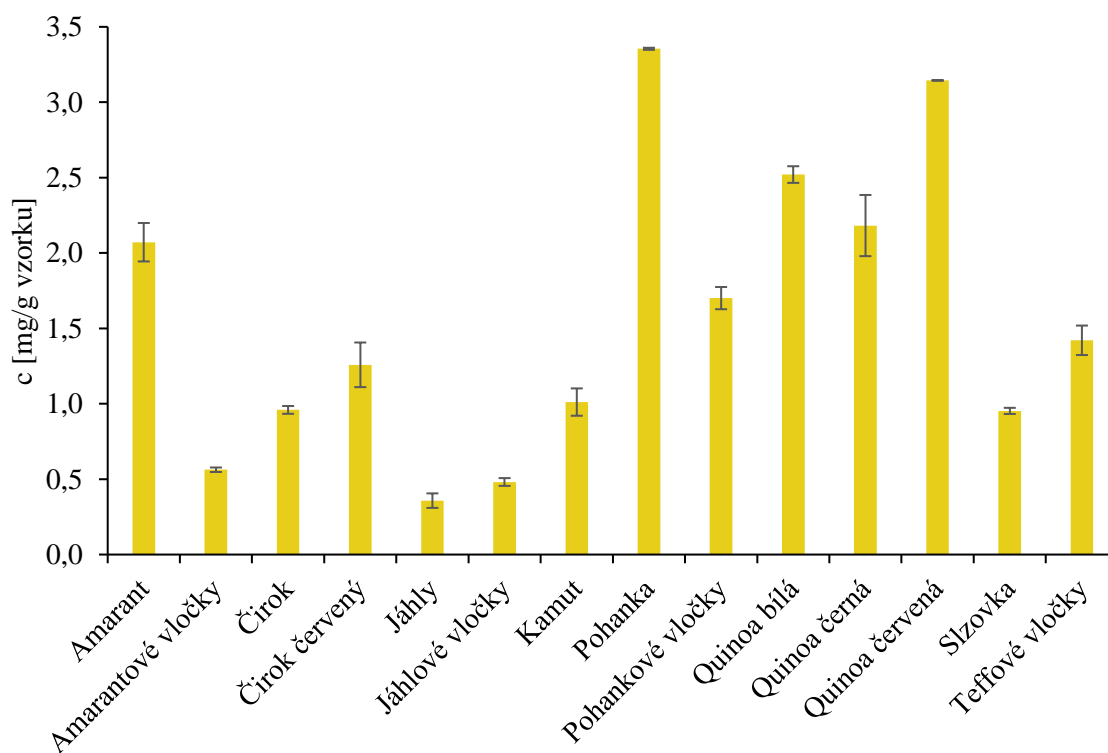
Obrázek 6: Obsah proteinů stanovený ve vzorcích metodou dle Kjeldahla

Z grafu (Obrázek 6) vyplývá, že obsah bílkovin ve většině vzorků byl podobný s výjimkou pohankových vloček a čiroku. To se dá přisuzovat tomu, že každý druh obsahuje různé množství bílkovin, ale částečně také nedokonalou homogenizaci vzorků. Nejnižší obsah proteinů byl stanoven v pohankových vločkách ($7,373 \pm 0,006$ %), naopak nejvyšší v kamutu ($14,68 \pm 0,06$ %). Z literatury vyplývá, že u amaranthu a quinoi dosahuje obsah bílkovin až 17 % [25]. Hodnoty naměřené při stanovení však dosahovaly maximálně $13,85 \pm 0,07$ % u amaranthových vloček, $13,75 \pm 0,15$ % u quinoi bílé a $13,3 \pm 0,5$ % u amaranthu. Metoda dle Kjeldahla je přesnou metodou, pomocí které byly naměřeny hodnoty bílkovin, které ve většině případů odpovídají množství bílkovin ve vzorku udávanému výrobcem. Největší rozdíl mezi naměřenou hodnotou a hodnotou udávanou výrobcem byl stanoven v případě jáhlů a pohankových vloček, což mohlo být způsobeno použitím odlišné analytické metody. V případě stanovení bílkovin z grafu nevyplývají rozdíly mezi barevnými variacemi. Při stanovení bílkovin byl předpoklad, že vločky budou obsahovat méně proteinů v porovnání s celým zrnem. Tento předpoklad vycházel z faktu, že bílkoviny jsou v obilném zrně obsaženy zejména v obalových vrstvách, které se při výrobě vloček odstraňují. Při výrobě vloček rovněž dochází k vystavení zrna vyšším

teplotám, to by však v případě bílkovin nemělo mít vliv na jejich ztrátu. U jáhlových vloček byl rozdíl ve srovnání s celým zrnem malý. To bylo pravděpodobně způsobeno tím, že samotné jáhly jsou již vyloupané proso a nemají tedy obalové vrstvy, čímž při výrobě vloček nedojde k takovým ztrátám bílkovin jako tomu může být v případě jiných cereálií. U pohanky a pohankových vloček lze pozorovat rozdíl větší. Na rozdíl od pohanky a jáhlů byl ale u amaranthu obsah proteinů ve vločkách téměř srovnatelný s obsahem proteinů v celém zrně, čímž nemůžeme jednoznačně určit, zda při zpracování dochází ke ztrátám určitých látek či nikoliv.

5.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Pro stanovení antioxidační aktivity byl použit postup uvedený v kapitole 4.7.3. Antioxidační aktivita byla stanovena u vodných extraktů vzorků připravených dle postupu v kapitole 4.6.3. Hodnoty antioxidační aktivity byly vztaženy na ekvivalent Troloxu v mg na gram vzorku a množství antioxidantů bylo vypočítáno z vytvořené kalibrační závislosti, jejíž kalibrační rovnice byla $y = 1,025 \cdot x$, kde y je absorbance a x koncentrace antioxidantů ve vzorku. V grafu (Obrázek 7) jsou uvedené výsledky stanovení včetně odchylky jednotlivých měření.



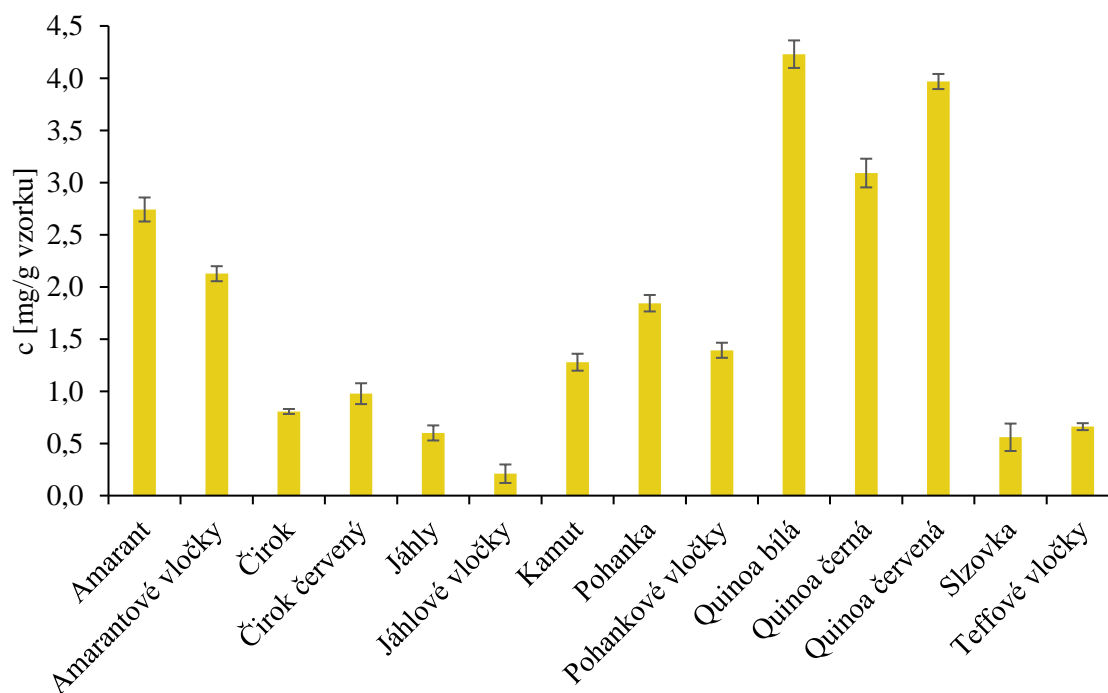
Obrázek 7: Obsah antioxidantů ve vzorcích stanovený metodou TEAC

Z grafu (Obrázek 7) vyplývá, že nejvyšší antioxidační aktivity bylo dosaženo u pohanky ($3,354 \pm 0,007$ mg/g vzorku), dále pak u quinoi červené ($3,2 \pm 0,0$ mg/g vzorku) nebo quinoi bílé ($2,52 \pm 0,06$ mg/g vzorku). Obsah antioxidantů je znám u některých vzorků z literatury, u amaranthu dosahuje 0,40–0,67 mg/g vzorku, 1,55 mg/g u quinoi a až 3,8 mg/g u pohanky [39]. Při srovnání s výsledky analýzy lze sledovat obdobný trend, kdy největší množství antioxidantů bylo naměřeno v případě pohanky. Stanovené množství antioxidantů v pohance však bylo nižší, než udává literatura, což mohlo být způsobeno jak použitím jiné analytické metody při

stanovení, tak podmínkami při pěstování. Naopak v případě quinoi a amaranthu byl výsledek stanovení výrazně vyšší, než udávala literatura. Toto stanovení bylo pravděpodobně významně ovlivněno tím, že se jednalo pouze o vodné extrakty, nikoli o stanovení antioxidantů přímo ve vzorku, při čemž nemuselo dojít k úplné extrakci antioxidantů ze vzorku. Z grafu můžeme také sledovat, že v případě barevných variant byl obsah antioxidantů vyšší než v případě variant bezbarvých. To bylo pravděpodobně způsobeno přítomností anthokyanů, jejichž přítomností dochází k pigmentaci zrna a zároveň mají antioxidační účinky. Zároveň můžeme sledovat, že v případě pohankových a amaranthových vloček byl stanovený obsah antioxidantů nižší než obsah antioxidantu v celém zrna, z čehož lze usuzovat ztráty způsobené výrobou vloček. V případě jáhlových vloček byla však antioxidační aktivita srovnatelná s antioxidační aktivitou samotných jáhlů. To mohlo být způsobeno stejně jako při stanovení bílkovin výrobou jáhel. Z tohoto faktu by se dalo usuzovat, že velká část antioxidantů je u obilovin obsažena v obalových vrstvách zrna a při výrobě jáhel a zbavení obalových vrstev dochází ke ztrátě antioxidantů. Zároveň pak při výrobě vloček nedochází k dalším ztrátám antioxidantů, protože se vyrábí po odstranění obalových vrstev. Pokud by bylo tedy analyzováno samotné proso včetně svých obalových vrstev, pravděpodobně by byl stanovený obsah antioxidantů ve vzorku vyšší, než tomu bylo u jáhlů.

5.4 Stanovení celkových fenolických látek

Stanovení celkových fenolických látek bylo provedeno dle postupu v kapitole 4.7.4. Fenolické látky byly stanovovány ve vodných extraktech vzorků připravených dle kapitoly 4.6.3. Celkový obsah fenolických látek ve vzorku byl určen z připravené kalibrační závislosti, jejíž kalibrační rovnice byla $y = 1,6038 \cdot x$, kde y je absorbance a x koncentrace fenolických látek ve vzorku. V grafu (Obrázek 8) jsou uvedené výsledky stanovení fenolických látek včetně odchylky jednotlivých měření.

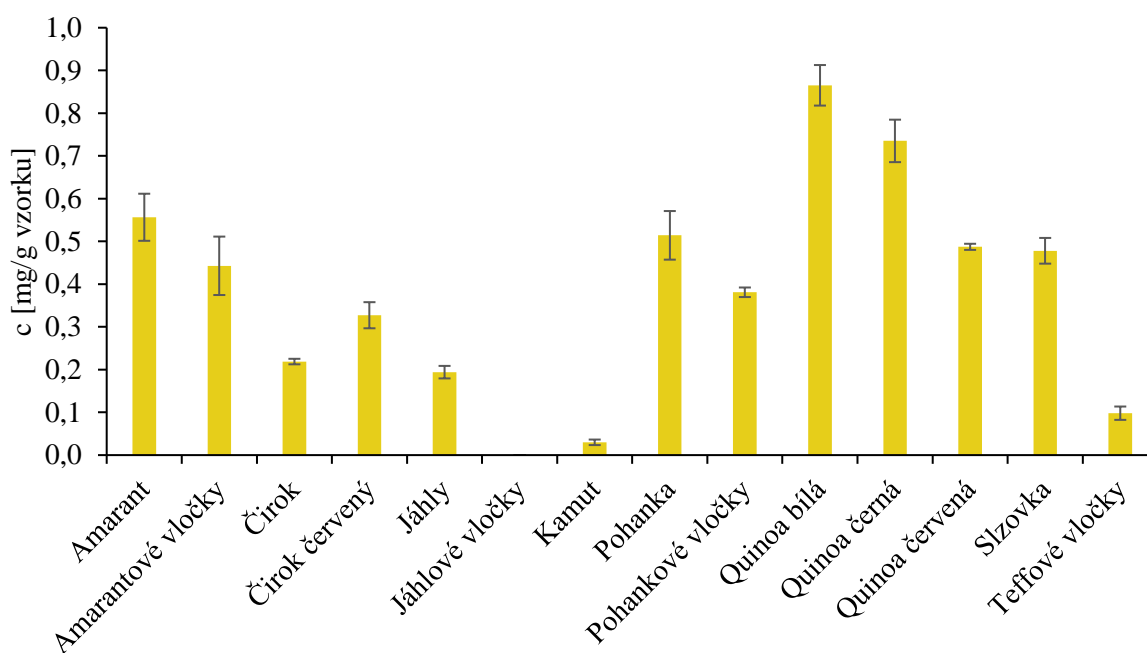


Obrázek 8: Obsah celkových fenolických látek ve vzorcích

Největší obsah celkových fenolických látek byl naměřen u quinoi bílé ($4,23 \pm 0,13$ mg/g vzorku), quinoi červené ($3,97 \pm 0,07$ mg/g vzorku) a quinoi černé ($3,09 \pm 0,14$ mg/g vzorku) a dále pak u amaranthu ($2,74 \pm 0,12$ mg/g vzorku). Naměřené hodnoty jsou srovnatelné s hodnotami udávanými v literatuře. Vzorek, který se významně liší ve srovnání s literaturou je čirok bílý, u kterého se udává 2,2 mg fenolických látek na gram vzorku, avšak stanovená hodnota byla pouze $0,81 \pm 0,02$ mg/g vzorku. Kromě čiroku byl rozdíl také v případě pohanky, kdy literatura udává až 8,2 mg/g vzorku, avšak naměřená hodnota byla pouze $1,84 \pm 0,08$ mg fenolických látek na gram vzorku [39][43]. Tyto rozdíly byly pravděpodobně způsobeny použitím rozdílné analytické metody nebo použitím vzorků, které byly pěstovány při jiných klimatických podmínkách. Stanovení celkových fenolických látek bylo pravděpodobně ovlivněno tím, že fenolické látky byly stanoveny ve vodných extraktech, nikoli přímo ve vzorku a nemuselo tedy dojít k úplné extrakci fenolických látek. Rozdíly mohly být způsobeny také nedokonalou homogenizací. Z grafu (Obrázek 8) vyplývá, že rozdíly mezi barevnými variantami u čiroku a quinoi není až tak výrazný. Při stanovení celkových fenolických látek však můžeme sledovat, že u vloček je obsah fenolických látek nižší, než je tomu v případě celého zrna. Což bylo pravděpodobně způsobeno odstraněním obalových vrstev při výrobě vloček. Zajímavé je, že v případě stanovení fenolických látek narozdíl od stanovení antioxidační aktivity byl naměřen nižší obsah v jáhlových vločkách ve srovnání s jáhly, které stejně jako vločky neobsahují obalové části zrna. Při tomto stanovení by se tedy dala uvažovat ztráta aktivních látek, ke které dochází při zpracování zrna do formy vloček. U většiny vzorků odpovídaly hodnoty obsahu fenolických látek hodnotám celkové antioxidační aktivity.

5.5 Stanovení flavonoidů

Stanovení flavonoidů bylo provedeno dle postupu v kapitole 4.7.5. Flavonoidy byly stanovovány ve vodných extraktech vzorků připravených dle kapitoly 4.6.3. Obsah flavonoidů byl stanoven z připravené kalibrační závislosti, jejíž kalibrační rovnice byla $y = 3,2284 \cdot x$, kde y je absorbance a x koncentrace fenolických látek ve vzorku. V grafu (Obrázek 9) jsou uvedené výsledky stanovení flavonoidů v mg na gram vzorku včetně odchylky jednotlivých měření.



Obrázek 9: Obsah flavonoidů ve vzorcích

Největší obsah flavonoidů byl stanoven v případě quinoi bílé ($0,87 \pm 0,05$ mg/g vzorku), quinoi černé ($0,74 \pm 0,05$ mg/g vzorku), amaranthu ($0,56 \pm 0,06$ mg/g vzorku), pohanky ($0,51 \pm 0,06$ mg/g vzorku) a quinoi červené ($0,487 \pm 0,007$ mg/g vzorku). Velice nízký obsah flavonoidů byl stanoven v kamutu ($0,03 \pm 0,01$ mg/g vzorku). Nejnížší, konkrétně nulový obsah flavonoidů byl touto metodou stanoven v případě jáhlových vloček. Tento výsledek neznamena, že flavonoidy v jáhlových vločkách nejsou obsaženy, pouze zde mohou být obsaženy v malém množství, které nebylo touto metodou detekováno. Ze srovnání hodnot celkových fenolických látek a flavonoidů vyplývá, že na biologické aktivitě se mohou účastnit i jiné látky fenolické povahy, než právě flavonoidy, například fenolické kyseliny. Při tomto stanovení bylo vycházeno z předpokladu, že v případě barevných variant bude obsah flavonoidů vyšší než v případě bezbarvých variant. To se potvrdilo v případě čiroku červeného, naopak u quinoi červené a černé se tento předpoklad nepotvrdil. Z grafu (Obrázek 9) rovněž vyplývá, že při stanovení flavonoidů ve vločkách byl obsah nižší než v celém zrně, což bylo pravděpodobně stejně jako v předchozích případech způsobeno odstraněním obalových vrstev při výrobě vloček. Toto stanovení bylo rovněž jako předchozí stanovení ovlivněno tím, že se jednalo pouze o vodné extrakty vzorků, nikoliv o stanovení flavonoidů přímo ve vzorku. Nemuselo tedy dojít k úplné extrakci, čímž bylo ovlivněno celé stanovení. Zároveň nemusely být vzorky dokonale homogenizovány.

5.6 Stanovení β -glukanů

Stanovení β -glukanů bylo provedeno dle postupu v kapitole 4.7.6. Obsah β -glukanů byl stanoven pomocí předem připraveného excelu Megazyme Mega-Calc™, který byl součástí kitu pro stanovení β -glukanů. Obsah β -glukanů v jednotlivých vzorcích je uveden v tabulce (Tabulka 3) ve formě rozmezí, které bylo naměřeno při dvou paralelních stanoveních.

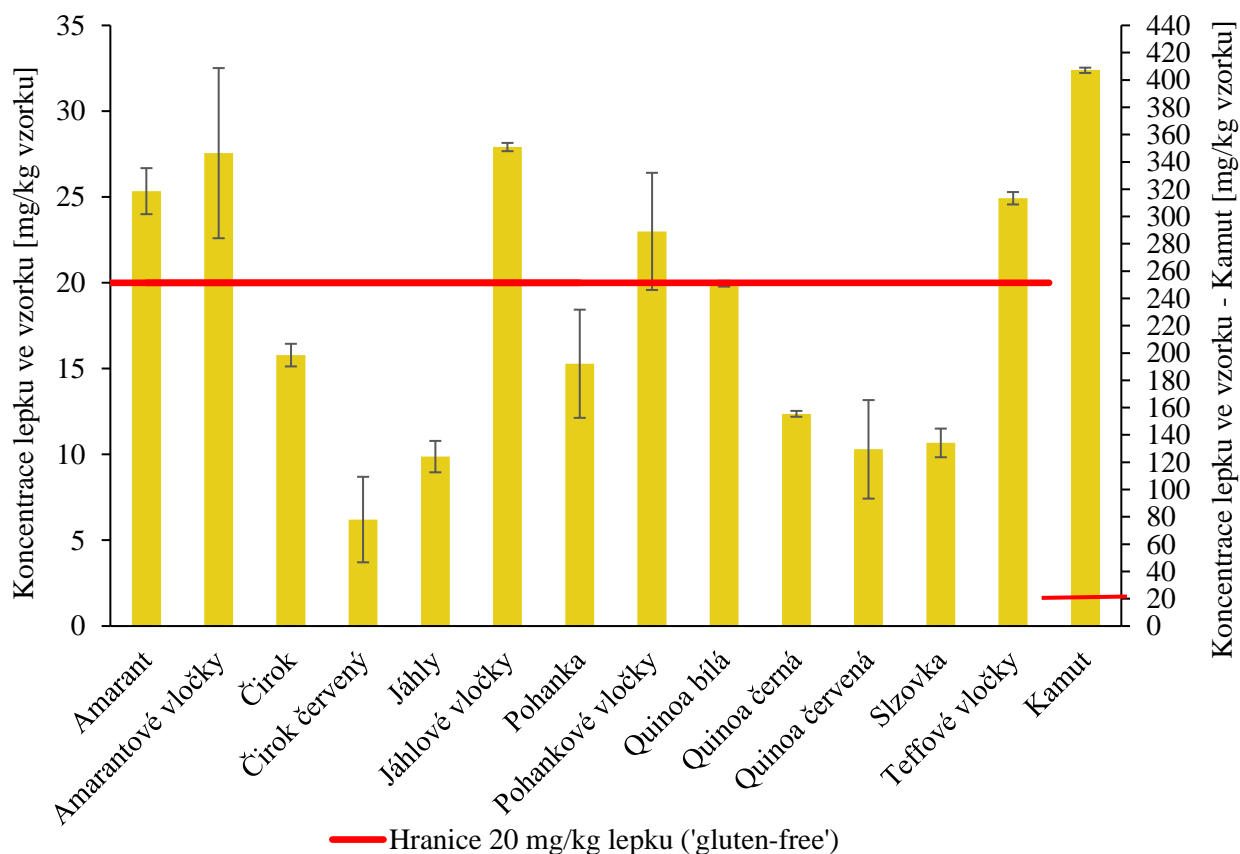
Tabulka 3: Stanovený obsah β -glukanů ve vzorcích

Vzorek	Obsah β -glukanů ve vzorku [g/100 g výrobku]
Amaranth	0,0463–0,0648
Amaranthové vločky	0,0592–0,0710
Čirok bílý	0,2070–0,2179
Čirok červený	0,0531–0,0849
Jáhly	0,0180–0,0269
Jáhlové vločky	0,0611–0,2078
Kamut	0,3164–0,3414
Pohanka	0,0705–0,0805
Pohankové vločky	0,0927–0,1030
Quinoa bílá	0,0351–0,2106
Quinoa černá	0,1092–0,1698
Quinoa červená	0,0330–0,1734
Slzovka	0,0328–0,1094
Teffové vločky	0,1339–0,1854

Nejvyšší obsah β -glukanů z řady obilovin byl popsán u ječmene a ovsa, u pšenice je obsah β -glukanů nižší jak 1 % a u pseudocereálií ještě nižší [14][23]. V tabulce (Tabulka 3) jsou uvedeny rozmezí hodnot β -glukanů naměřené při dvou paralelních stanoveních. Z výsledků stanovení vyplývá, že nejvyšší obsah β -glukanů byl stanoven v kamutu (0,3164–0,3414 g/100 g výrobku). Nejvyšší obsah β -glukanů v kamutu není překvapivý, protože se jedná o pšenici, kde byl dokonce očekáván výsledek vyšší. Mezi další vzorky, u kterých byl stanoven vyšší obsah β -glukanů patří čirok bílý, jáhlové vločky, quinoa bílá, červená i černá nebo teffové vločky. Při tomto stanovení lze sledovat opačný trend, než tomu bylo u předchozích stanovení. Stanovený obsah β -glukanů je ve všech případech vyšší u vloček než u celého zrna. To bylo způsobeno tím, že při výrobě vloček byly odstraněny obalové vrstvy, ve kterých se β -glukany nevyskytují čímž nedošlo k jejich odstranění. Došlo tedy ke snížení celkové hmotnosti zrna, při zachování původního obsahu β -glukanů, čímž se zvýšil procentuální obsah β -glukanů ve vzorku. Nejnižší obsah β -glukanů byl naměřen v jáhlech (0,0180–0,0269 g/100 g výrobku).

5.7 Stanovení lepku

Stanovení lepku bylo provedeno dle postupu v kapitole 4.7.7. Obsah lepku byl stanoven pomocí funkce cubic spline v MS Excel, která interpolovala data kalibrační řady a ze změřené absorbance určila koncentraci lepku ve vzorku. Obsah lepku v jednotlivých vzorcích udává graf (Obrázek 10) v mg/kg vzorku včetně odchylek. V grafu je rovněž znázorněna hranice 20 mg lepku na kg výrobku, která udává, zda lze výrobek označovat jako bezlepkový či nikoli. Na vedlejší osu byl z důvodu lepší přehlednosti grafu vynesena vzorek kamut, který na rozdíl od ostatních vzorků obsahoval několikanásobně vyšší obsah lepku.



Obrázek 10: Obsah lepku ve vzorcích

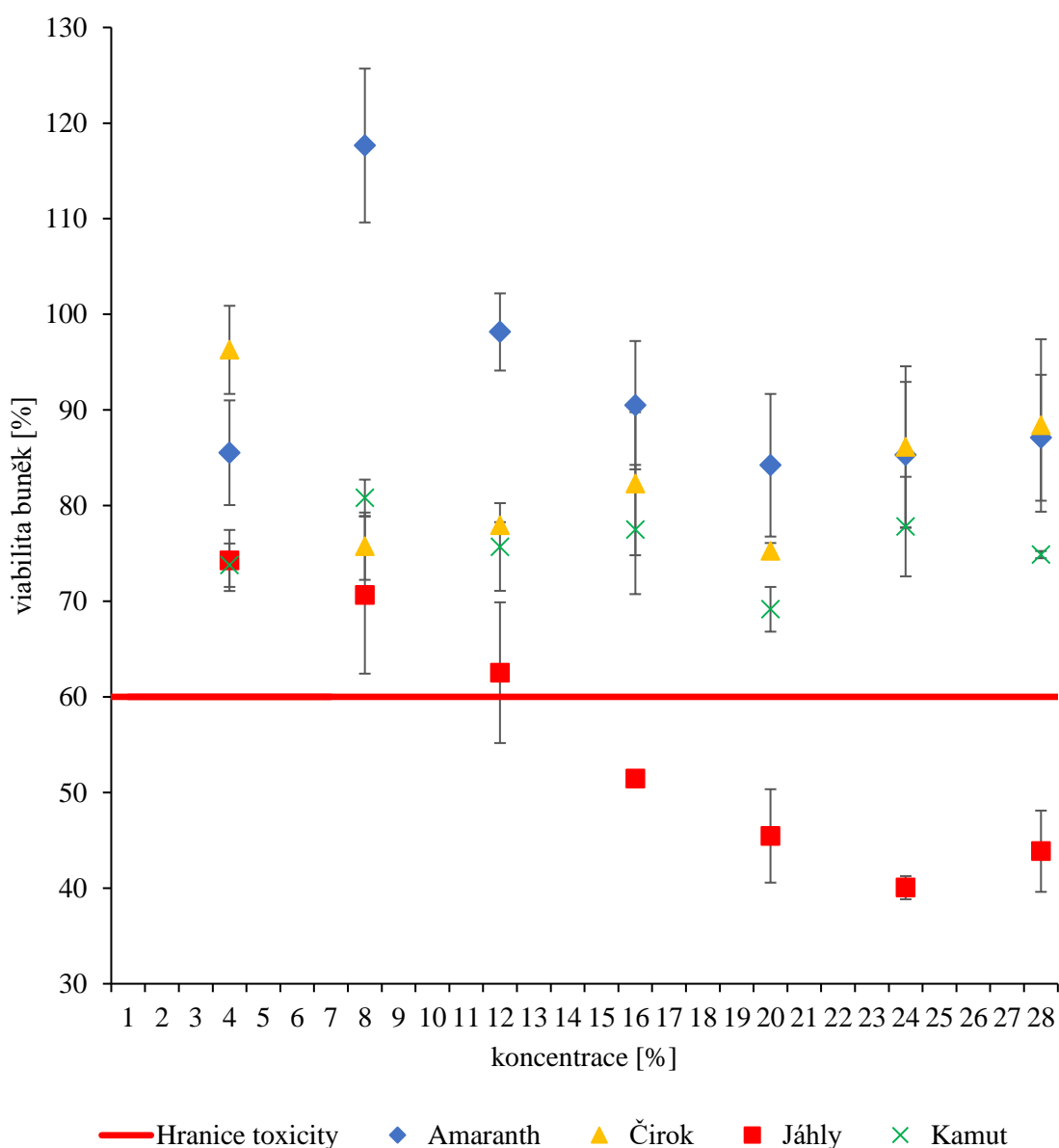
Nejvyšší obsah lepku byl stanoven ve vzorku kamutu ($407,1 \pm 1,9$ mg/kg). Tento výsledek byl očekávaný, jelikož se jedná o druh pšenice, která přirozeně lepek obsahuje ve vysokém množství. Obsah lepku nad 20 mg/kg vzorku byl stanoven v případě všech druhů vloček, což pravděpodobně bylo způsobeno kontaminací výrobku při zpracování. V grafu lze pozorovat i fakt, že všechny vzorky ve formě zrna měly nižší obsah lepku než vločky, což potvrzuje kontaminaci při výrobě. Ze vzorků ve formě zrna obsahoval vyšší množství lepku amarant ($25,3 \pm 1,3$ mg/kg), který by měl být přirozeně bezlepkový a jednalo se tak pravděpodobně o kontaminaci při zpracování. Přesně na hranici byl změřen obsah lepku u vzorku quinoi bílé ($19,95 \pm 0,17$ mg/kg). Nejnižší obsah lepku ze všech vzorků byl změřen v případě čiroku červeného. Kdy byl obsah lepku stanoven na $6,2 \pm 2,5$ mg/kg. Z výsledků tedy vyplývá že většinu těchto vzorků lze označit za bezlepkové.

5.8 Testování cytotoxicity

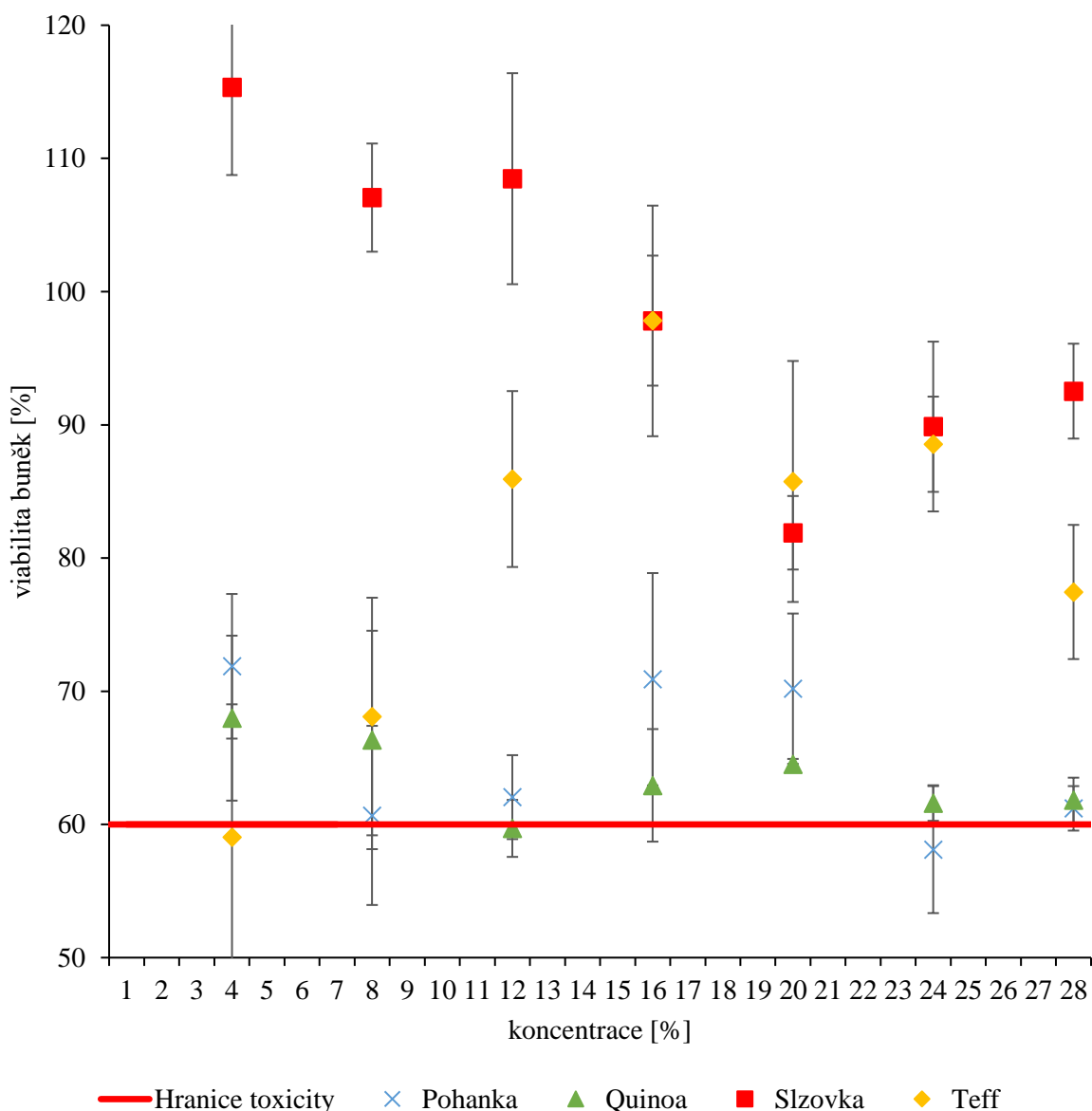
Testování cytotoxicity bylo provedeno dle postupu v kapitole 4.7.8 a pro toto stanovení byly použity vodné extrakty připravené dle postupu uvedeného v kapitole 4.6.4.

5.8.1 Testování cytotoxicity s využitím střevních buněk CaCO-2

Pro testování cytotoxicity byly použity střevní buňky CaCO-2, pasáž 58. Při samotném testování byly použity vodné extrakty celkem osmi vzorků. Výsledky testování cytotoxicity udávají grafy (Obrázek 11, Obrázek 12), představující závislost viability buněk na koncentraci daného extraktu.



Obrázek 11: Závislost viability buněk CaCO-2 na koncentraci vodných extraktů

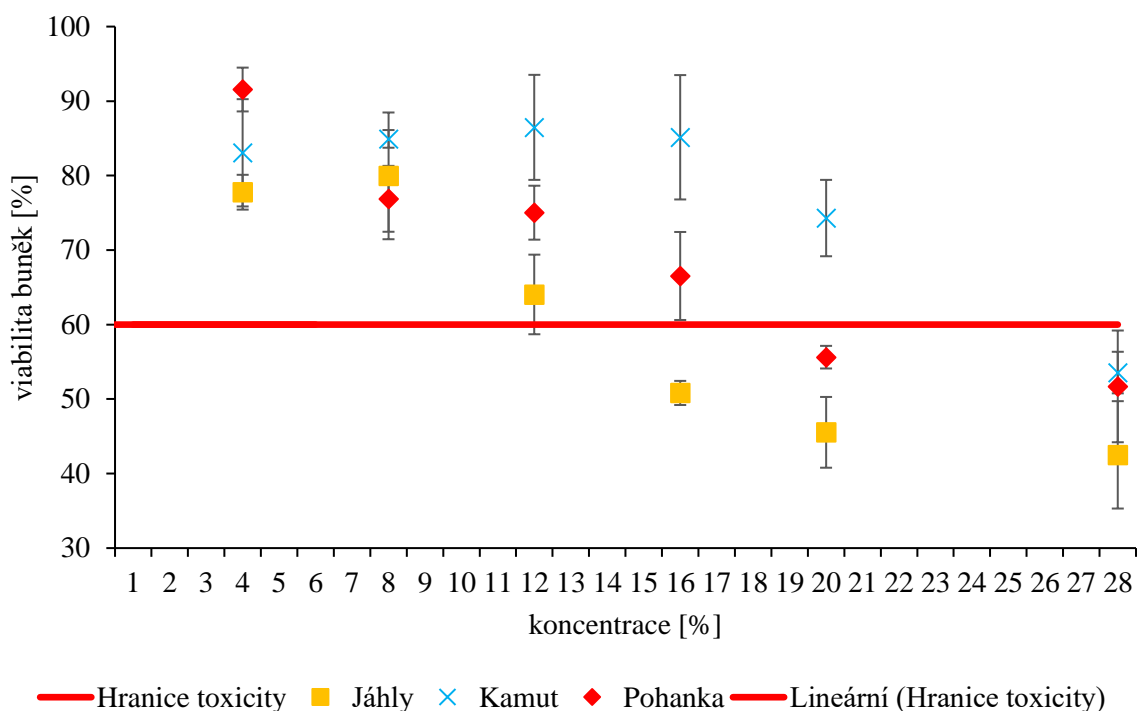


Obrázek 12: Závislost viability buněk *CaCO-2* na koncentraci vodných extraktů

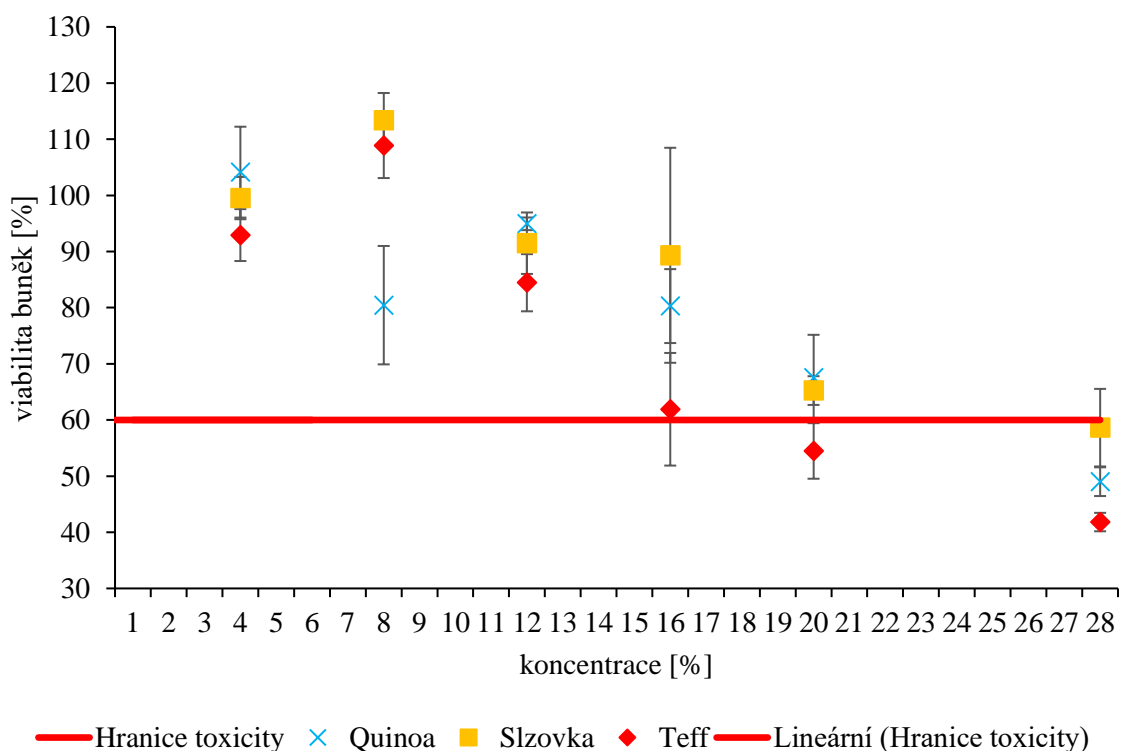
Při testování cytotoxicity obecně platí, že testované vzorky nejsou brány jako cytotoxické, pokud viabilita buněk neklesla pod hranici 60 %. Tato hranice byla v grafech znázorněna červeně. Z grafů znázorňujících závislost viability buněk na koncentraci vodných extraktů vyplývá, že většina vzorků v daném rozmezí koncentrací nepůsobila cytotoxicky. Na hranici cytotoxicity se pohybovali vodné extrakty pohanky a quinoi v celém rozmezí koncentrací. Jako cytotoxické byly stanoveny vodné extrakty jáhel o vyšší koncentraci než 12 %.

5.8.2 Testování cytotoxicity s využitím keratinocytů HaCaT

Pro testování cytotoxicity byly použity keratinocyty HaCaT, pasáž 50. Při samotném testování byly použity vodné extrakty celkem šesti vzorků. Výsledky testování cytotoxicity udávají grafy (Obrázek 13, Obrázek 14), představující závislost viability buněk na koncentraci daného extraktu.



Obrázek 13: Závislost viability buněk HaCaT na koncentraci vodných extraktů

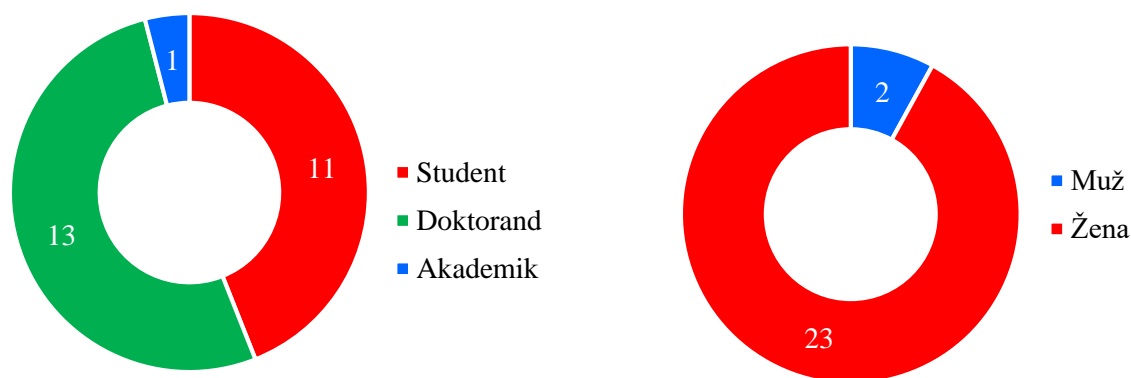


Obrázek 14: Závislost viability buněk HaCaT na koncentraci vodných extraktů

Z uvedených grafů je patrné, že testované vzorky působily na keratinocyty HaCaT více cytotoxicky než na buněčné linie CaCO-2. V případě keratinocytů HaCaT se při vyšších koncentracích vodných extraktů dostávaly všechny vzorky pod hranici cytotoxicity (60 %). Nejméně cytotoxickými byly vyhodnoceny vodné extrakty kamutu a slzovky. Jako nejvíce cytotoxický byl stanoven extrakt jáhel, který nebyl cytotoxický pouze do koncentrace 12 %.

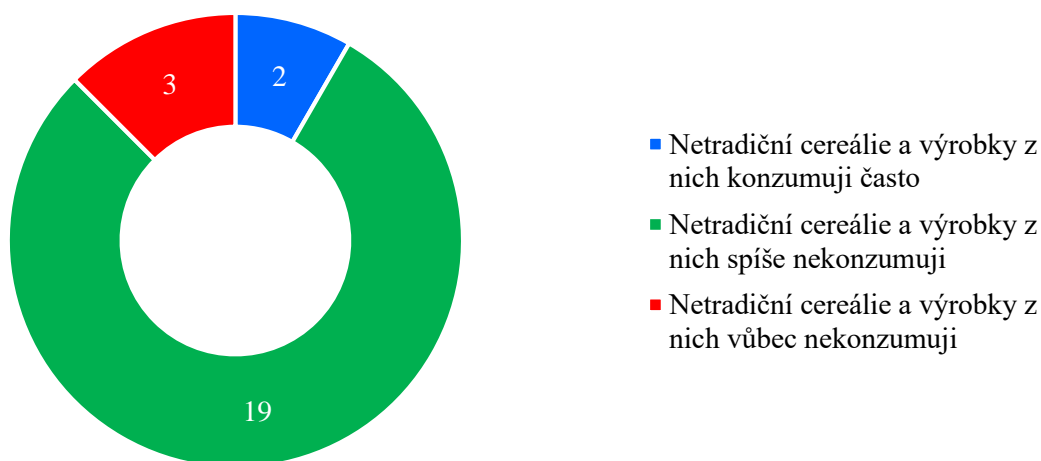
5.9 Senzorická analýza

Senzorické analýzy se zúčastnilo celkem 25 respondentů, z nichž byli 2 muži a 23 žen. Všichni respondenti byli nekuřáci a jejich zdravotní stav byl v den sensorické analýzy dobrý. Sensorické analýzy se zúčastnilo 11 studentů, 13 doktorandů a 1 akademik. Data byla získána pomocí dotazníku (viz Příloha 1: Dotazník pro sensorické hodnocení), zpracována a graficky (Obrázek 15) vyhodnocena pomocí MS Excel.



Obrázek 15: Grafy znázorňující složení hodnotitelů sensorické analýzy.

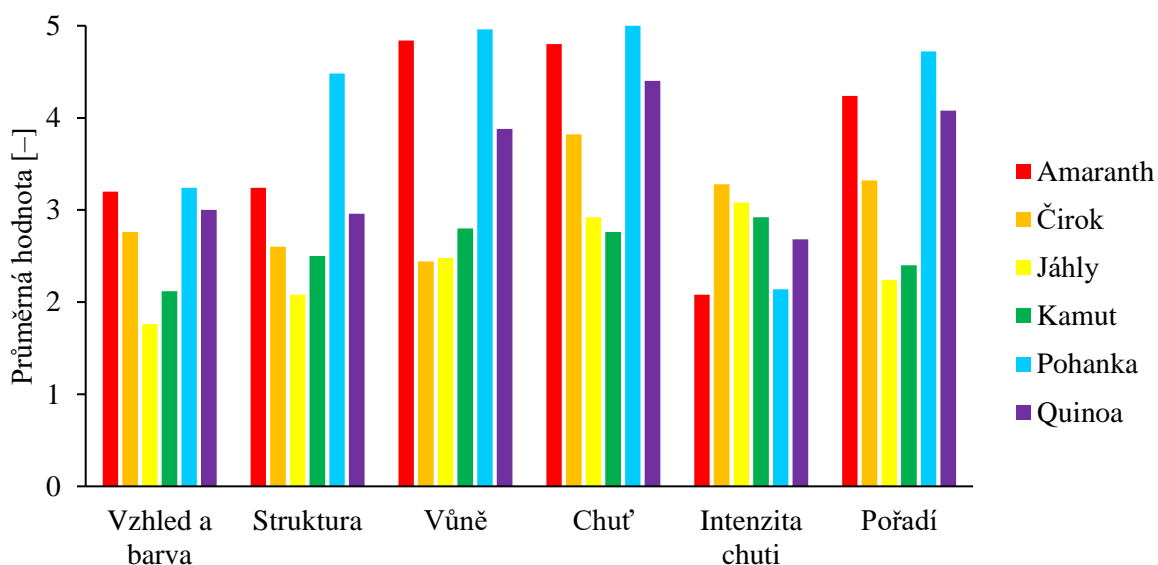
První část dotazníků byla zaměřena na to, zda respondenti konzumují netradiční cereálie a výrobky z nich vyrobené. Většina respondentů odpověděla, že netradiční cereálie spíše nekonzumují. Pouze dva respondenti uvedli, že netradiční cereálie a výrobky z nich konzumují často. Naopak 3 hodnotitelé odpověděli, že netradiční cereálie ani výrobky z nich vůbec nekonzumují. Výsledky první části dotazníku byly zpracovány rovněž graficky (Obrázek 16).



Obrázek 16: Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáním?

5.9.1 Senzorické hodnocení vzorků

Při senzorické analýze bylo hodnoceno celkem 6 vzorků, připravených z amaranthu, čiroku bílého, jáhel, kamutu, pohanky a quinoi bílé. Hodnotitelé hodnotili barvu a vzhled, strukturu, vůni, chuť a intenzitu chuti. Senzorické vlastnosti vzorků byly hodnoceny číselně v rozmezí od 1 do 7, kdy 1 znamenala vynikající vlastnost vzorku a 7 představovala velmi špatnou až odpornou vlastnost. Intenzita chuti jako jediná senzorická vlastnost byla hodnocena číselně v rozmezí od 1 do 5, kdy 1 znamenala velmi silnou chuť a 5 naopak chuť velmi slabou. Součástí senzorické analýzy byl také pořadový test, kdy hodnotitelé seřadili vzorky od nejlepšího po nejhorší a tuto volbu slovně odůvodnili. Výsledky senzorické analýzy pro všechny vzorky byly zpracovány do společného grafu (Obrázek 17).

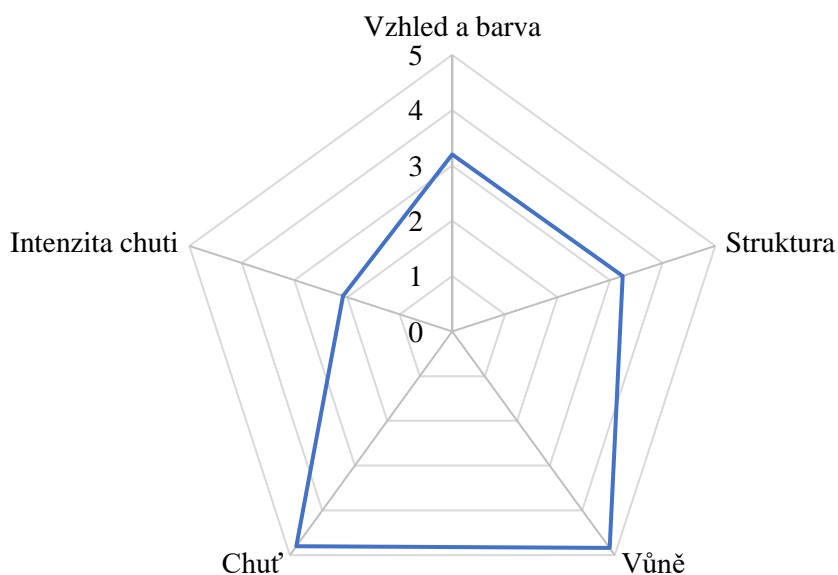


Obrázek 17: Graf znázorňující výsledky senzorické analýzy.

Z grafu (Obrázek 17) lze pozorovat, že jednoznačně nejlépe hodnoceným vzorkem byl vzorek připravený z jáhel, který byl téměř ve všech sledovaných senzorických vlastnostech hodnocen nejlépe. Vyrovnaný výsledek byl u všech vzorků při sledování intenzity chuti. Zde však nebylo porovnáváno, zda je chuť příjemná, či nepříjemná ale pouze jak silnou intenzitu chuti respondent vnímal během analýzy. Jelikož se jedná o vzorky cereálií, které by mohly být použity pro výrobu běžného pečiva, není nutné, aby byla chuť příliš výrazná a spíše je dobrou vlastností vzorku, pokud nevykazuje intenzivní chuť, která by ovlivňovala celkovou chuť výrobku. Nejhůře hodnoceným vzorkem byla pohanka, což vyplývá i z grafu, kdy dosahuje vzorek pohanky nejvyšších hodnot, a tedy spíše záporného hodnocení. Kromě pohanky byly také hůře hodnoceny některé senzorické vlastnosti amaranthu a quinoi. Graficky zpracované výsledky byly však pouhým průměrem, z celého počtu respondentů. U každého vzorku se vyskytovaly různorodé názory respondentů. Někteří například kladně hodnotili vzorek, který většina respondentů hodnotila záporně, jako tomu bylo například u pohanky.

5.9.1.1 Amaranth

Amaranth se v rámci sensorického hodnocení v pořadovém testu umístil na 5. místě. Průměrný výsledek v pořadovém testu byl však srovnatelný se vzorkem pohanky a quinoi. Hodnocené sensorické vlastnosti amaranthu lze pozorovat v grafu (Obrázek 18). U vzorku byl poměrně kladně hodnocen vzhled, barva a struktura. Naopak negativně byla hodnocena vůně vzorku, kdy většina respondentů označila vůni připraveného vzorku jako špatnou a již nepřijatelnou. Stejně tak byla hodnocena celková chuť, kdy většina respondentů hodnotila vzorek jako špatný až odporný. Nevýhodou testovaného vzorku bylo také to, že vykazoval poměrně vysokou intenzitu chuti, což není v případě výrobku připravovaných z cereálií až tak žádanou vlastností. Zejména v případě, pokud je chuť nepřijemná. Zajímavostí však je, že celkem 3 respondenti označili právě tento vzorek jako nejlepší. Při slovním hodnocení se vyjadřovali respondenti zejména k chuti analyzovaného vzorku. Většině respondentů připomínal vzorek svou chutí bahno, hlínu a několik respondentů tuto pachut' označili, jako by cítili plíseň. Vyskytly se zde také názory, že respondenti cítili travnatou pachut' nebo pachut' rybiny. Přesto však někteří respondenti označili chuť jako nasládlou nebo oříškovou.

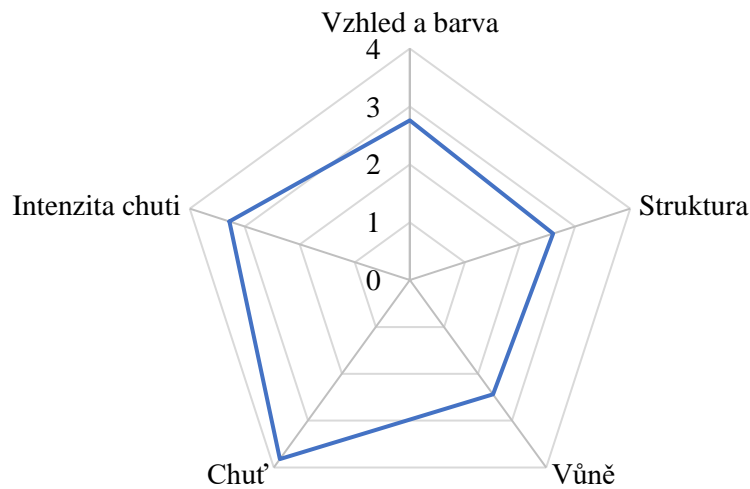


Obrázek 18: Sensorické vlastnosti amaranthu

5.9.1.2 Čirok bílý

Čirok bílý byl po jáhlech a kamutu třetím nejlépe hodnoceným vzorkem. Hodnocené sensorické vlastnosti čiroku lze pozorovat v grafu (Obrázek 19). Téměř všemi respondenty byly kladně hodnoceny všechny ze základních sensorických vlastností jako byl vzhled, barva, struktura a vůně. Chuť vzorku již nebyla hodnocena jako nejlepší, přesto byla většinou respondentů hodnocena jako přijatelná. Intenzita chuti pak byla většinou respondentů hodnocena jako střední až slabá, což je v rámci analyzovaných vzorků poměrně dobrý výsledek, protože by vzorek nepřebíjel chuť výsledného výrobku. Celkem 2 respondenti označili vzorek připravený z čiroku za nejhorší, většina respondentů však zařadila v pořadovém testu tento vzorek na 2. až

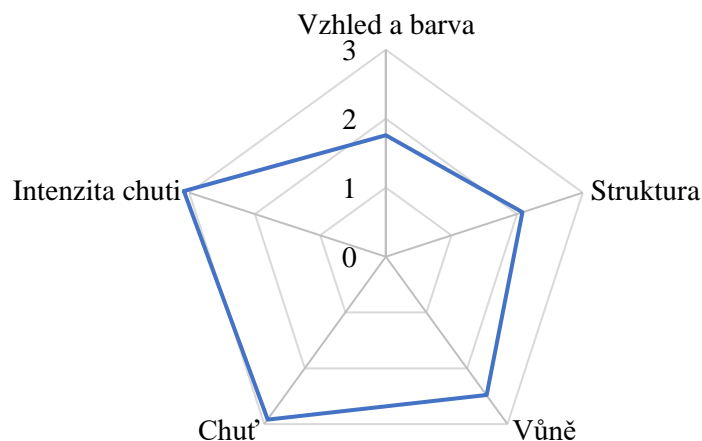
4. pozici. Při slovním hodnocení většina respondentů zmínila drobivou strukturu vzorku a také nevýraznou chuť. Přesto však většinou hodnotili vzorek připravený z čiroku kladně.



Obrázek 19: Senzorické vlastnosti čiroku

5.9.1.3 Jáhly

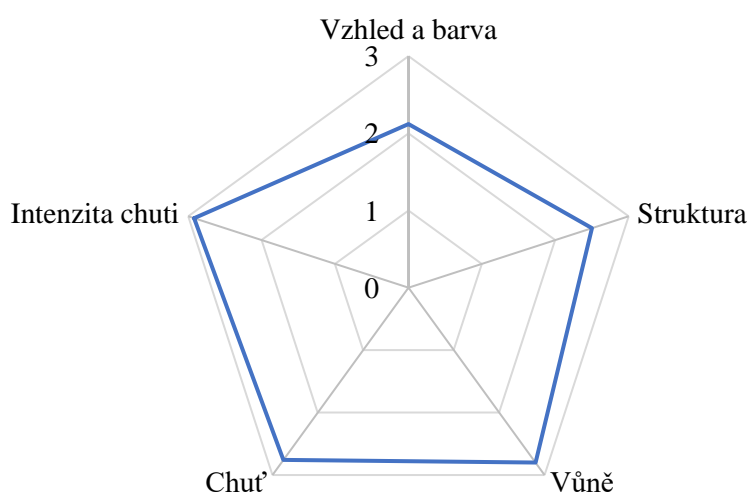
Vzorek připravený z jáhel byl respondenty označen za nejlepší. Výsledek byl srovnatelný se vzorkem připraveným z kamutu. Hodnocené senzorické vlastnosti jáhel lze pozorovat v grafu (Obrázek 20). U tohoto vzorku označili všichni respondenti vzhled, barvu, strukturu, vůni a chuť vzorku nejhůře jako uspokojující. Intenzitu vzorku označila většina respondentů jako střední. Celkem 11 respondentů tento vzorek označilo jako nejlepší. Pouze jeden respondent tento vzorek označil jako nejhorší. Při slovním hodnocení si jeden respondent stěžoval na mýdlovou pachut'. Ostatní spíše vzorek chválili, protože jim chutí, vzhledem i strukturou připomínal běžný muffin, na který jsou respondenti zvyklí. To bylo pravděpodobně způsobeno tím, že jáhly jsou vyloupané proso a nejednalo se tak o vzorek připravený z mouky z celého zrna. Na rozdíl od ostatních vzorků byl tedy tento vzorek nejbliže vlastnostmi běžné mouce.



Obrázek 20: Senzorické vlastnosti jáhel

5.9.1.4 Kamut

Srovnatelně se vzorkem připraveným z jáhel dopadl v pořadovém testu i kamut. U vzorku kamutu bylo již hodnocení respondentů rozmanitější. Hodnocené sensorické vlastnosti kamutu lze pozorovat v grafu (Obrázek 21). Většina respondentů hodnotila vzhled a barvu jako dobrou až vynikající. Strukturu hodnotili nejčastěji jako velmi dobrou. Vůni pak respondenti hodnotili od vynikající až po ještě přijatelnou. Všichni respondenti hodnotili chuť vzorku lépe než uspokojivou a intenzitu chuti hodnotili nejčastěji jako střední. Celkem 9 respondentů tento vzorek označilo za nejlepší, pouze jeden jej označil jako nejhorší. Při slovním hodnocení tento vzorek respondenti spíše chválili a srovnávali jej se vzorkem připraveným z jáhel. Společně se vzorkem připraveným z jáhel byl tento vzorek označován za vzorek, který se nejvíce podobá běžnému muffinu. V tomto případě se jednalo o mouku připravenou z celého zrna, kamut je však odrůdou pšenice a nejspíš proto byl z celozrnných vzorků pro běžného konzumenta nepřijatelnější.

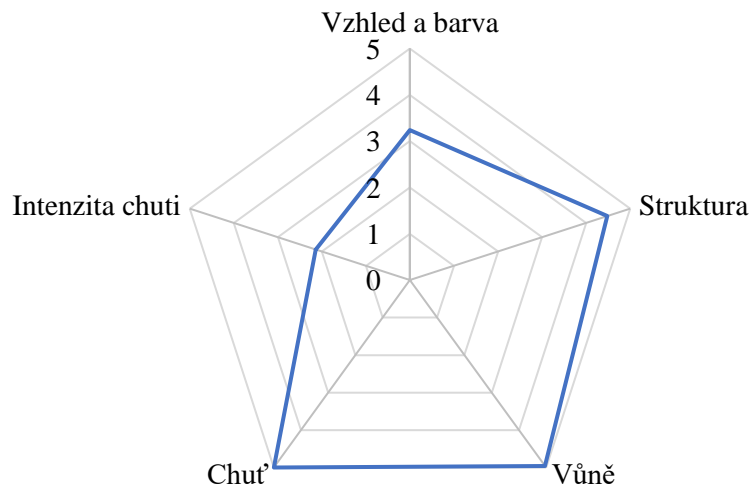


Obrázek 21: Sensorické vlastnosti kamutu

5.9.1.5 Pohanka

Vzorek připravený z pohanky byl jednoznačně respondenty označen za nejhorší. Hodnocené sensorické vlastnosti pohanky lze pozorovat v grafu (Obrázek 22). Vzhled a barvu hodnotila většina respondentů nejhůře jako ještě přijatelnou. Strukturu vzorku však již větší část hodnotila spíše jako nepřijatelnou, stejně jako vůni. Chuť vzorku hodnotila většina respondentů rovněž jako nepřijatelnou, někteří ji hodnotili dokonce jako odpornou. Intenzitu chuti označili respondenti jako silnou až velmi silnou. Mezi všemi respondenty se našel jeden respondent, podle kterého byl tento vzorek tím nejlepším. Tento respondent ve svém slovním hodnocení uvedl, že má vzorek vynikající chuť i texturu, zvláště pak pro člověka, který má rád pohanku. Z toho vyplývá že pro člověka, který je zvyklý na pohanku a má ji rád, by mohl i tento vzorek představovat ideální náhradu běžného pšeničného pečiva. Přesto však pro lidi, kteří nemají pohanku rádi a její intenzivní chuť jim vadí, by tento vzorek vhodný nebyl. Celkem označilo vzorek připravený z pohanky jako nejhorší 8 respondentů. Tito respondenti ve svém slovním

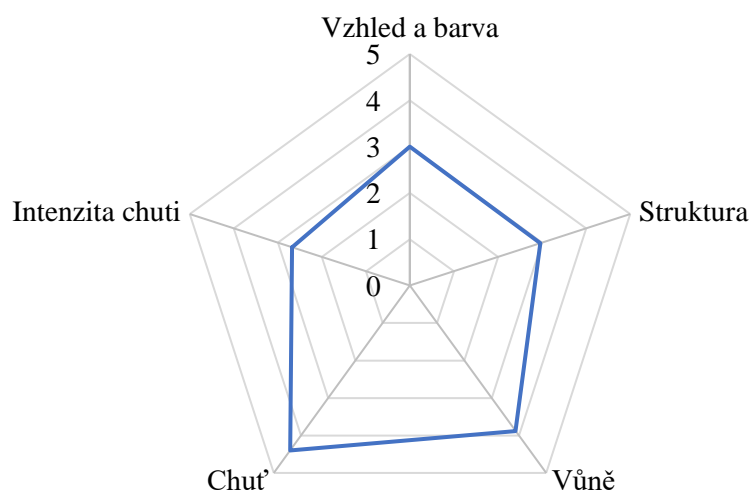
hodnocení zmiňovali zejména špatnou chuť, její intenzitu a dále pak strukturu vzorku, který byl suchý a rozpadal se.



Obrázek 22: Senzorické vlastnosti pohanky

5.9.1.6 Quinoa bílá

Vzorek připravený z quinoi byl v pořadovém testu zařazen na 4. místo. Hodnocení bylo však poměrně srovnatelné se vzorky amaranthu a pohanky. Hodnocené senzorické vlastnosti quinoi lze pozorovat v grafu (Obrázek 23). Většina respondentů hodnotila vzhled, barvu a strukturu vzorku nejhůře jako přijatelnou. Vůni a chuť však již část respondentů hodnotila jako nepříjemnou až odpornou. Intenzitu chuti pak hodnotili respondenti jako střední až silnou. Celkem 3 respondenti označili tento vzorek jako nejhorší. Ve slovním hodnocení většina respondentů popisovala pachut', která jim vadila u tohoto vzorku. Pachut' jim připomínala maso, slaninu či bujón. Někteří respondenti označili příchut' jako makovou, většina respondentů se však shodovala v příliš nahořklé chuti vzorku.



Obrázek 23: Senzorické vlastnosti quinoi bílé

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce byla zaměřena na charakterizaci aktivních látek a biologických účinků vybraných netradičních cereálií. Vybranými netradičními cereáliemi byly amaranth, amaranthové vločky, čirok bílý, čirok červený, jáhly, jáhlové vločky, kamut, pohanka, pohankové vločky, quinoa bílá, quinoa černá, quinoa červená, slzovka a teff.

Nejprve byla vypracována teoretická rešerše, v rámci které byl vypracován obecný přehled zabývající se cereáliemi, který byl rozšířen o přehled vybraných netradičních cereálií a jejich chemické složení.

V experimentální části práce byly vzorky nejprve vhodně zpracovány pro další analýzu. Všechny vzorky byly rozemlety na práškovou formu, aby byla zajištěna co nejdokonalejší homogenita vzorků. Následně byly vzorky podrobeny dle typu analýzy extrakci, hydrolýze nebo mineralizaci. Analyzovány byly základní složky cereálií jako jsou sacharidy nebo bílkoviny, dále pak aktivní složky jako jsou antioxidanty, fenolické látky, flavonoidy a β -glukany. Kromě základního stanovení byly provedeny testy cytotoxicity vybraných vzorků. Ty byly testovány na lidských keratinocytech HaCaT a na lidských buňkách adenokarcinomu tlustého střeva CaCO-2. Práce byla zakončena senzorickou analýzou.

Sacharidy byl stanoveny metodou dle Duboise. Nejprve byly sacharidy stanoveny ve vodných extraktech, což se však ukázalo jako nevhodná metoda. Důvodem bylo to, že hlavními sacharidy vyskytujícími se v cereáliích jsou polysacharidy, se kterými toto stanovené neinteraguje. Proto byla tato metoda optimalizována a jako nejvhodnější metoda pro uvolnění neutrálních sacharidů ze vzorku byla zvolena kyselá hydrolýza pomocí 6M HCl při teplotě 37 °C po dobu 2 hodin. Touto metodou již bylo stanoveno množství sacharidů, které odpovídalo hodnotám udávaným v literatuře a současně odpovídalo hodnotám udávaným výrobcem na obalu výrobku [10]. Obsah sacharidů ve vzorcích byl stanoven v rozmezí 40–76 %. Nejnižší obsah sacharidů byl stanoven v kamutu (39 ± 6 %), nejvyšší pak u teffových vloček (76 ± 2 %). Pro stanovení bílkovin byla jako nejvhodnější zvolena metoda dle Kjeldahla. Jedná se o přesnou metodu, při které bylo dosaženo výsledků s minimální odchylkou. Nejnižší obsah bílkovin byl stanoven v pohankových vločkách ($7,373 \pm 0,006$ %), nejvyšší pak u amaranthových vloček ($13,85 \pm 0,07$ %).

Při analýze aktivních složek byla nejprve stanovena celková antioxidační aktivita analyzovaných vzorků. Při této metodě bylo dosaženo poměrně přesných výsledků s minimálními odchylkami. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovala pohanka ($3,354 \pm 0,007$ mg/g vzorku) nebo quinoa červená ($3,2 \pm 0,0$ mg/g vzorku). Nejnižší obsah vykazovaly jáhly ($0,36 \pm 0,05$ mg/g vzorku) a jáhlové vločky ($0,48 \pm 0,03$ mg/g vzorku). Dále byl stanoven celkový obsah fenolických látek. Nejvyšší obsah byl stanoven v případě quinoi bílé ($4,23 \pm 0,13$ mg/g vzorku), quinoi červené ($3,97 \pm 0,07$ mg/g vzorku) a quinoi černé ($3,09 \pm 0,14$ mg/g vzorku). Naopak nejnižší obsah fenolických látek byl opět stanoven v případě jáhel ($0,60 \pm 0,07$ mg/g vzorku) a jáhlových vloček ($0,21 \pm 0,09$ mg/g vzorku). Při stanovení flavonoidů byl nejvyšší obsah flavonoidů stanoven u quinoi bílé ($0,87 \pm 0,05$ mg/g vzorku), quinoi černé ($0,74 \pm 0,05$ mg/g vzorku) a amaranthu ($0,56 \pm 0,06$ mg/g vzorku).

Dále byl stanoven obsah β -glukanů. Při tomto stanovení bylo dosaženo velice nízkých výsledků. β -glukany jsou ve větším množství obsaženy pouze v ječmene a ovsa. Další, avšak

výrazně nižším zdrojem β -glukanů je pšenice. To vyplývá i z výsledků, jelikož kamut je druh pšenice a v jeho případě byl stanoven nejvyšší obsah β -glukanů (0,3164–0,3414 g/100 g výrobku). U ostatních vzorků byl obsah β -glukanů velice nízký a nedosahoval ve většině případů ani 0,1 %. Mezi základními stanoveními byl také stanoven obsah lepku ve vzorcích netradičních cereálií. Kromě kamutu, amaranthu a všech vzorků vloček byly stanoveny vybrané netradiční cereálie jako bezlepkové. V kamutu, jelikož se jedná o druh pšenice byl obsah lepku stanoven několika násobně vyšší, než tomu bylo v ostatních vzorcích. Vzorky, které nesplňovali podmínky bezlepkovosti (amaranth a vločky), přesáhli hranici 20 mg/kg vzorku lepku pouze minimálně a množství lepku ve vzorcích tak bylo pouze stopové.

Dalším cílem práce byla charakterizace biologických účinků vybraných netradičních cereálií. Biologické účinky byly testovány na lidských keratinocitech HaCaT a na lidských buňkách adenokarcinomu tlustého střeva CaCO-2. V obou případech se jako nejvíce cytotoxické jevíly jáhly, které se při koncentraci vodného extraktu 16 % dostávali pod hranici toxicity (60 %) v případě obou typů buněk. Při testování cytotoxicity na buňkách CaCO-2 se na hranici cytotoxicity pohybovala pohanka a quinoa. Ostatní vzorky nejevily známky toxicity vůči tomuto typu buněk. V případě keratinocytů vykazovaly při nejvyšší koncentraci vodného extraktu 28 % toxicitu všechny analyzované vzorky.

V poslední části práce byla provedena senzorická analýza. V rámci senzorické analýzy byl jako nejlepší stanoven vzorek připravený z jáhel a kamutu. To bylo pravděpodobně ze dvou důvodů. V případě jáhel to bylo z toho důvodu, že se jedná o vyloupané proso, a nejednalo se tak o použití celozrnné mouky jako u ostatních vzorků, což mělo značný vliv na strukturu, vzhled i chuť výsledného produktu. Kamut je odrudou pšenice, a přestože byla použita mouka celozrnná, jednalo se o pšenici, na kterou jsou běžní konzumenti zvyklí. Nejhuře byl hodnocen vzorek pohanky, zejména pro svou chuť, která je velice výrazná.

Z experimentálně stanovených výsledků lze vyvodit několik faktů. Byla potvrzena hypotéza, že při zpracování obilného zrna do formy vloček dochází ke ztrátě, jak některých základních složek jako jsou například bílkovin, tak také významných, tělu prospěšných aktivních látek jako jsou antioxidanty nebo fenolické látky. Tento fakt je pravděpodobně způsoben odstraněním obalových vrstev a působením teploty na zrno při zpracování. Zároveň při zpracování dochází ke kontaminaci vloček lepem z prostředí, ve kterém jsou zpracovávány, to je však tím, že se výrobci nespecializují na bezlepkovou výrobu a pokud má zákazník zájem o bezlepkový výrobek potom musí vybírat produkty, kde je kladen vyšších požadavků při zpracování. Přesto však byl obsah lepku ve vločkách stále velice nízký a pouze ve stopovém množství. Nebylo však potvrzeno, zda mají barevné varianty cereálií lepší přínos pro lidské zdraví než varianty bezbarvé. Ve většině případů byly výsledky stanovené pro bílou variantu vyšší nebo srovnatelné s barevnými variantami.

Tyto netradiční cereálie by mohly skrz své zdravotní benefity získat do budoucna větší pozornost ve srovnání s běžnými cereáliemi. Jejich cena je sice vyšší, lidé však v současnosti dbají o své zdraví a životní styl a často si jsou za kvalitnější produkty schopni připlatit. Do budoucna by bylo zajímavé kombinovat některé z těchto netradičních cereálií s dalšími aktivními látkami, které by mohly sloužit například pro podporu imunity, čímž bychom získali obohacené, zdravé prospěšné cereální produkty.

7 SEZNAM POUŽITÉ 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] FLETCHER, R.J. Pseudocereals, Overview. Reference Module in Food Science [online]. Elsevier, 2016, 2016 [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.00039-1. ISBN 9780081005965. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081005965000391>
- [3] PETR, Jiří a František LOUDA. Produkce potravinářských surovin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-708-0332-0.
- [4] Crop Prospects and Food Situation [online]. Rome, ITALY: GIEWS, Global Information and Early Warning System, 2019 [cit. 2019-03-10]. ISBN 978-92-5-131336-7. Dostupné z: <http://www.fao.org/3/ca3696en/ca3696en.pdf>
- [5] KOPÁČOVÁ, Olga. Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům (II. část) [online]. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007 [cit. 2019-03-10]. ISBN 978-80-7271-184-0. Dostupné z: http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Agronavigator/Kopacova/CER%20II_web.pdf
- [6] THITISAKSAKUL, Maysaya, Randi C. JIMÉNEZ, Maria C. ARIAS a Diane M. BECKLES. Effects of environmental factors on cereal starch biosynthesis and composition. Journal of Cereal Science [online]. 2012, **56**(1), 67-80 [cit. 2019-03-10]. DOI: 10.1016/j.jcs.2012.04.002. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521012000768>
- [7] SALDIVAR, S.O. Serna. Cereals: Dietary Importance. Encyclopedia of Food and Health [online]. Elsevier, 2016, 2016, , 703-711 [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00130-6. ISBN 9780123849533. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123849472001306>
- [8] MASISI, Kabo, Trust BETA a Mohammed H. MOGHADASIAN. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on in vitro and in vivo studies. Food Chemistry [online]. 2016, **196**, 90-97 [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.021. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615013643>
- [9] DAPČEVIĆ-HADNAĐEV, Tamara, Miroslav HADNAĐEV a Milica POJIĆ. The healthy components of cereal by-products and their functional properties: Dietary Importance. Sustainable Recovery and Reutilization of Cereal Processing By-Products [online]. Elsevier, 2018, 2018, , 27-61 [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1016/B978-0-08-102162-0.00002-2. ISBN 9780081021620. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081021620000022>
- [10] LAFIANDRA, Domenico, Gabriele RICCARDI a Peter R. SHEWRY. Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. Journal of Cereal Science [online]. 2014, **59**(3), 312-326 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.jcs.2014.01.001. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521014000137>
- [11] ZHANG, Nan, Wei-xing HUANG, Gui-yang XIA, Mahmood Brobbey OPPONG, Li-qing DING, Pan LI a Feng QIU. Methods for determination of absolute configuration of monosaccharides. Chinese Herbal Medicines [online]. 2018, **10**(1), 14-22 [cit. 2019-03-

- 17]. DOI: 10.1016/j.chmed.2017.12.009. ISSN 16746384. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1674638417300151>
- [12] BUNZEL, Mirko, John RALPH a Hans STEINHART. *Association of non-starch polysaccharides and ferulic acid in grain amaranth (Amaranthus caudatus L.) dietary fiber* [online]. 2005, **49**(6), 551-559 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1002/mnfr.200500030. ISSN 1613-4125. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.200500030>
- [13] KADLEC, Pavel. *Technologie sacharidů*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000. ISBN 80-708-0400-9.
- [14] 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. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00187-3. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160502001873>
- [15] CARCIOFI, Massimiliano, Shahnoor S. SHAIK, Susanne L. JENSEN, Andreas BLENNOW, Jan T. SVENSSON, Éva VINCZE a Kim H. HEBELSTRUP. Hyperphosphorylation of cereal starch. *Journal of Cereal Science* [online]. 2011, **54**(3), 339-346 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.jcs.2011.06.013. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521011001238>
- [16] TOSI, Paola, Jibin HE, Alison LOVEGROVE, Irene GONZÁLES-THUILLIER, Simon PENSON a Peter R. SHEWRY. Gradients in compositions in the starchy endosperm of wheat have implications for milling and processing [online]. 2018, **82**, 1-7 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.09.027. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224418301055>
- [17] PALMER, Richard, Valérie CORNUAULT, Susan E. MARCUS, J. Paul KNOX, Peter R. SHEWRY a Paola TOSI. Comparative in situ analyses of cell wall matrix polysaccharide dynamics in developing rice and wheat grain. *Planta* [online]. 2015, **241**(3), 669-685 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1007/s00425-014-2201-4. ISSN 0032-0935. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00425-014-2201-4>
- [18] VIRKKI, L., L. JOHANSSON, M. YLINEN, S. MAUNU a P. EKHOLM. Structural characterization of water-insoluble nonstarchy polysaccharides of oats and barley. *Carbohydrate Polymers*[online]. 2005, **59**(3), 357-366 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.10.006. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861704003728>
- [19] SINGH, Anshu, Vinay SHARMA, Rintu BANERJEE, Shivani SHARMA a Arindam KUILA. Perspectives of cell-wall degrading enzymes in cereal polishing. *Food Bioscience* [online]. 2016, **15**, 81-86 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.fbio.2016.05.003. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221242921630030X>
- [20] BHAT, A.H., Imran KHAN, Mohd Amil USMANI, Reddicherla UMAPATHI a Salma M.Z. AL-KINDY. Cellulose an ageless renewable green nanomaterial for medical applications: An overview of ionic liquids in extraction, separation and dissolution of cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **129**, 750-777

- [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.190. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813018349596>
- [21] REVANAPPA, S.B., C.D. NANDINI a P.V. SALIMATH. Structural characterisation of pentosans from hemicellulose B of wheat varieties with varying chapati-making quality. *Food Chemistry*[online]. 2010, **119**(1), 27-33 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.064. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609005305>
- [22] MANSBERGER, Alexander, Stefano D'AMICO, Senad NOVALIN, Julia SCHMIDT, Sandor TÖMÖSKÖZI, Emmerich BERGHOFER a Regine SCHOENLECHNER. Pentosan extraction from rye bran on pilot scale for application in gluten-free products. *Food Hydrocolloids* [online]. 2014, **35**, 606-612 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.08.010. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X13002531>
- [23] HAVRELETOVÁ M., PETRULÁKOVÁ Z., BURGÁROVÁ A., GAGO F., HLINKOVÁ A., ŠTURDÍK E., Cereal β -glucans and their Significance for the Preparation of Functional Foods – A Review. *Czech J. Food Sci.* [online]. Praha, 2011, **29**(1), 1-14 [cit. 2020-01-23]. ISSN 1212-1800. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/8f2b/2d9cc2bd5d103bb96d98d318295fd7543bb4.pdf>
- [24] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [25] JNAWALI, Prakriti, Vikas KUMAR a Beenu TANWAR. Celiac disease: Overview and considerations for development of gluten-free foods. *Food Science and Human Wellness* [online]. Praha, 2016, **5**(4), 169-176 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1016/j.fshw.2016.09.003. ISSN 22134530. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213453016300325>
- [26] SCHERF, Katharina Anne. Immunoreactive cereal proteins in wheat allergy, non-celiac gluten/wheat sensitivity (NCGS) and celiac disease. *Current Opinion in Food Science* [online]. 2019, **25**, 35-41 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.02.003. ISSN 22147993. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221479931830153X>
- [27] PROVÁDEČÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 828/2014 ze dne 30. července 2014 o o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2014, L 228/5. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0828&from=EN> [cit.2020-01-23]
- [28] PÁNEK, Jan, Jan POKORNÝ a Jana DOSTÁLOVÁ. *Základy výživy a výživová politika*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0468-8.
- [29] BRINCH-PEDERSEN, Henrik, Søren BORG, Birgitte TAURIS a Preben B. HOLM. Molecular genetic approaches to increasing mineral availability and vitamin content of cereals. *Journal of Cereal Science* [online]. 2007, **46**(3), 308-326 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.jcs.2007.02.004. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521007000343>

- [30] LEBIEDZIŃSKA, A. a P. SZEFER. Vitamins B in grain and cereal–grain food, soy-products and seeds. *Food Chemistry* [online]. 2006, **95**(1), 116-122 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.12.024. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605000397>
- [31] OBERSON, Jean-Marie, Esther CAMPOS-GIMÉNEZ, Johann RIVIÈRE a Frédéric MARTIN. Application of supercritical fluid chromatography coupled to mass spectrometry to the determination of fat-soluble vitamins in selected food products. *Journal of Chromatography B* [online]. 2018, **1086**, 118-129 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1016/j.jchromb.2018.04.017. ISSN 15700232. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023218301053>
- [32] MIYAZAWA, Teruo, Kiyotaka NAKAGAWA a Phumon SOOKWONG. Health benefits of vitamin E in grains, cereals and green vegetables [online]. 2011, **22**(12), 651-654 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.07.004. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224411001506>
- [33] FERREIRA, Dan W., David B. HAYTOWITZ, Michele A. TASSINARI, James W. PETERSON a Sarah L. BOOTH. Vitamin K Contents of Grains, Cereals, Fast-Food Breakfasts, and Baked Goods. *Journal of Food Science* [online]. 2006, **71**(1), S66-S70 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb12408.x. ISSN 00221147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2006.tb12408.x>
- [34] UDOMKUN, Patchimaporn, Chanin TIRAWATTANAWANICH, John ILUKOR, Piyanut SRIDONPAI, Emmanuel NJUKWE, Pélégie NIMBONA a Bernard VANLAUWE. Promoting the use of locally produced crops in making cereal-legume-based composite flours: An assessment of nutrient, antinutrient, mineral molar ratios, and aflatoxin content. *Food Chemistry* [online]. 2019, **286**, 651-658 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.02.055. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619303693>
- [35] THOMPSON, TRICIA. Folate, Iron, and Dietary Fiber Contents of the Gluten-free Diet. *Journal of the American Dietetic Association* [online]. 2000, **100**(11), 1389-1396 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/S0002-8223(00)00386-2. ISSN 00028223. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002822300003862>
- [36] MIR, Nisar Ahmad, Charanjit Singh RIAR a Sukhcharn SINGH. Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review [online]. 2018, **75**, 170-180 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.03.016. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224416304034>
- [37] NIMSE, Satish Balasaheb a Dilipkumar PAL. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances* [online]. 2015, **5**(35), 27986-28006 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1039/C4RA13315C. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA13315C>
- [38] YOUNG, I S. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* [online]. **54**(3), 176-186 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1136/jcp.54.3.176. ISSN 00219746. Dostupné z: <http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.54.3.176>
- [39] PAŠKO, Paweł, Małgorzata TYSZKA-CZOCHARA, Jacek NAMIEŚNIK, et al. Cytotoxic, antioxidant and binding properties of polyphenols from the selected gluten-free

- pseudocereals and their by-products: In vitro model. *Journal of Cereal Science* [online]. 2019, **87**(35), 325-333 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1016/j.jcs.2019.04.009. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521019301705>
- [40] STRATIL, P., B. KLEJDUS a V. KUBÁŇ. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta* [online]. 2007, **71**(4), 1741-1751 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.08.012. ISSN 00399140. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914006005741>
- [41] WANG, Tao, Fuli HE a Guibing CHEN. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods* [online]. 2014, **7**, 101-111 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.jff.2014.01.033. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464614000504>
- [42] LIU, Rui Hai. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science* [online]. 2007, **46**(3), 207-219 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.jcs.2007.06.010. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521007001166>
- [43] CHITINDINGU, Kudakwashe, Mudadi A.N. BENHURA, Maud MUCHUWETI, et al. In vitro bioaccessibility assessment of phenolic compounds from selected cereal grains: A prediction tool of nutritional efficiency. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2015, **63**(1), 575-581 [cit. 2020-01-23]. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.02.026. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643815001292>
- [44] ZHU, Fan. Anthocyanins in cereals: Composition and health effects. *Food Research International* [online]. 2018, **109**, 232-249 [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.04.015. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918302850>
- [45] PAZNOCHT, Luboš, Zora KOTÍKOVÁ, Miloslav ŠULC, Jaromír LACHMAN, Matyáš ORSÁK, Marie ELIÁŠOVÁ a Petr MARTINEK. Free and esterified carotenoids in pigmented wheat, tritordeum and barley grains. *Food Chemistry* [online]. 2018, **240**, 670-678 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.151. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617312761>
- [46] MELLADO-ORTEGA, Elena a Dámaso HORNERO-MÉNDEZ. Effect of lutein esterification on the differential distribution of carotenoids in germ and endosperm fractions from tritordeum grains. *Journal of Cereal Science* [online]. 2018, **79**, 462-468 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1016/j.jcs.2017.12.006. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521017308421>
- [47] CZAPLICKI, Sylwester, Dorota OGRODOWSKA, Ryszard ZADERNOWSKI a Dorota DEREWIKA. Characteristics of Biologically-Active Substances of Amaranth Oil Obtained by Various Techniques. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [online]. 2012, **62**(4), 235-239 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.2478/v10222-012-0054-8. ISSN 1230-0322. Dostupné z: <http://www.journalssystem.com/pjfns/Characteristics-of-Biologically-Active-Substances-of-Amaranth-Oil-Obtained-by-Various,98344,0,2.html>
- [48] AGUILAR, Elba G., Edmundo G. PEIRETTI, María A. UÑATES, Eduardo J. MARCHEVSKY, Nora L. ESCUDERO a José Manuel CAMIÑA. Amaranth seed varieties.

- A chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization* [online]. 2013, **7**(4), 199-206 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1007/s11694-013-9156-1. ISSN 2193-4126. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11694-013-9156-1>
- [49] HLINKOVÁ, Andrea, Adriána BEDNÁROVÁ, Michaela HAVRELETOVÁ, Jana ŠUPOVÁ a Iveta ČIČOVÁ. Evaluation of fatty acid composition among selected amaranth grains grown in two consecutive years. *Biologia* [online]. 2013, **68**(4) [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.2478/s11756-013-0190-6. ISSN 1336-9563. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/biolog.2013.68.issue-4/s11756-013-0190-6/s11756-013-0190-6.xml>
- [50] DE MORAIS CARDOSO, Leandro, Soraia Silva PINHEIRO, Hércia Stampini Duarte MARTINO a Helena Maria PINHEIRO-SANT'ANA. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2015, **57**(2), 372-390 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1080/10408398.2014.887057. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2014.887057>
- [51] LUZARDO-OCAMPO, Ivan, Aurea K. RAMÍREZ-JIMÉNEZ, Ángel H. CABRERA-RAMÍREZ, N. RODRÍGUEZ-CASTILLO, Rocio CAMPOS-VEGA, Guadalupe LOARCA-PIÑA a Marcela GAYTÁN-MARTÍNEZ. Impact of cooking and nixtamalization on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds from two sorghum varieties. *Food Chemistry* [online]. 2020, **309** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125684. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619318114>
- [52] LIU, Guoquan, Edward K. GILDING, Edward D. KERR, Benjamin L. SCHULZ, Basam TABET, Bruce R. HAMAKER a Ian D. GODWIN. Increasing protein content and digestibility in sorghum grain with a synthetic biology approach. *Journal of Cereal Science* [online]. 2019, **85**, 27-34 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.jcs.2018.11.001. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521018306635>
- [53] CHAKRABORTY, Subir Kumar, Nachiket KOTWALIWALE a Surekha Ashok NAVALE. Selection and incorporation of hydrocolloid for gluten-free leavened millet breads and optimization of the baking process thereof. *LWT* [online]. 2020, **119** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108878. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643819312204>
- [54] GONG, Xiangwei, Uzizerimana FERDINAND, Ke DANG, Jing LI, Guanghua CHEN, Yan LUO, Pu YANG a Baili FENG. Boosting proso millet yield by altering canopy light distribution in proso millet/mung bean intercropping systems. *The Crop Journal* [online]. 2019 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.cj.2019.09.009. ISSN 22145141. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214514119301503>
- [55] KUMAR, Sushil, Charles T. HASH, Govind SINGH, Ramana Kumari BASAVA a Rakesh K. SRIVASTAVA. Identification of polymorphic SSR markers in elite genotypes of pearl millet and diversity analysis. *Ecological Genetics and Genomics* [online]. 2019 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.egg.2019.100051. ISSN 24059854. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405985419300163>

- [56] GRAUSGRUBER, Heinrich, Michael OBERFORSTER, Giorgi GHAMBASHIDZE a Peter RUCKENBAUER. Yield and agronomic traits of Khorasan wheat (*Triticum turanicum* Jakubz.). *Field Crops Research* [online]. 2005, **91**(2-3), 319-327 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.fcr.2004.08.001. ISSN 03784290. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378429004002035>
- [57] BHINDER, Seerat, Amritpal KAUR, Balwinder SINGH, Madhav P. YADAV a Narpinder SINGH. Proximate composition, amino acid profile, pasting and process characteristics of flour from different Tartary buckwheat varieties. *Food Research International* [online]. 2020, **130** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108946. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996919308324>
- [58] SIM, Ung, Jeehye SUNG, Hana LEE, Huijin HEO, Heon Sang JEONG a Junsoo LEE. Effect of calcium chloride and sucrose on the composition of bioactive compounds and antioxidant activities in buckwheat sprouts. *Food Chemistry* [online]. 2020, **312** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.126075. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619322241>
- [59] YANG, Jie, Zhengbiao GU, Ling ZHU, Li CHENG, Zhaofeng LI, Caiming LI a Yan HONG. Buckwheat digestibility affected by the chemical and structural features of its main components. *Food Hydrocolloids* [online]. 2019, **96**, 596-603 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.06.001. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X1832068X>
- [60] VALDEZ-ARANA, Jenny-del-Carmen, Maria Eugenia STEFFOLANI, Ritva REPO-CARRASCO-VALENCIA, Gabriela Teresa PÉREZ a Luis CONDEZO-HOYOS. Physicochemical and functional properties of isolated starch and their correlation with flour from the Andean Peruvian quinoa varieties. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.067. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813019366474>
- [61] AGUILAR, Julio, Alberto Claudio MIANO, Jesús OBREGÓN, José SORIANO-COLCHADO a Gabriela BARRAZA-JÁUREGUI. Malting process as an alternative to obtain high nutritional quality quinoa flour. *Journal of Cereal Science* [online]. 2019, **90** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.jcs.2019.102858. ISSN 07335210. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521019304928>
- [62] VÄKEVÄINEN, Kati, Fanny LUDENA-URQUIZO, Essi KORKALA, Anja LAPVETELÄINEN, Sirpa PERÄNIEMI, Atte VON WRIGHT a Carme PLUMED-FERRER. Potential of quinoa in the development of fermented spoonable vegan products. *LWT* [online]. 2020, **120** [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108912. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002364381931254X>
- [63] REN, Yiping a Shuxing LIU. Effects of separation and purification on structural characteristics of polysaccharide from quinoa (*Chenopodium quinoa* willd). *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2020, **522**(2), 286-291 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.10.030. ISSN 0006291X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X19319199>

- [64] DUNCAN, Neil A., John STARBUCK a Li LIU. A method to identify Job's tears, *Coix lacryma-jobi* L., phytoliths in northern China. *Journal of Archaeological Science: Reports* [online]. 2019, **24**, 16-23 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.jasrep.2018.12.010. ISSN 2352409X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352409X18303924>
- [65] KANG, Ji-Hoon a Kyung Bin SONG. Characterization of Job's tears (*Coix lacryma-jobi* L.) starch films incorporated with clove bud essential oil and their antioxidant effects on pork belly during storage. *LWT* [online]. 2019, **111**, 711-718 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.05.102. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002364381930533X>
- [66] RAVISANKAR, Shreeya, Kebede ABEGAZ a Joseph M. AWIKA. Structural profile of soluble and bound phenolic compounds in teff (*Eragrostis tef*) reveals abundance of distinctly different flavones in white and brown varieties. *Food Chemistry* [online]. 2018, **263**, 265-274 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.002. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461830791X>
- [67] MARTI, Alessandra, Mauro MARENCO, Francesco BONOMI, Maria Cristina CASIRAGHI, Laura FRANZETTI, Maria Ambrogina PAGANI a Stefania IAMETTI. Molecular features of fermented teff flour relate to its suitability for the production of enriched gluten-free bread. *LWT* [online]. 2017, **78**, 296-302 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.12.042. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002364381630826X>
- [68] ŠIMEK, Zdeněk, Renata KOMENDOVÁ, Ivan MAŠEK a Petr VOZNICA. *Kvantitativní analýza: Vybrané postupy gravimetrie, volumetrie, optických, elektrochemických a separačních metod. Praktikum z analytické chemie I, II*. Vydání druhé, přepracované. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2003.
- [69] ZULUETA, Ana, Maria J. ESTEVE a Ana FRÍGOLA. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry* [online]. 2009, **114**(1), 310-316 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.033. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608011047>
- [70] HUANG, Dejian, Boxin OU a Ronald L. PRIOR. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2005, **53**(6), 1841-1856 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1021/jf030723c. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf030723c>
- [71] FRANKEL, E. N. a A. S. MEYER. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2000, **80**(13), 1925-1941 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1002/1097-0010(200010)80:13<1925:AID-JSFA714>3.0.CO;2-4. Dostupné z: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0010\(200010\)80:13%3C1925::AID-JSFA714%3E3.0.CO;2-4](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1097-0010(200010)80:13%3C1925::AID-JSFA714%3E3.0.CO;2-4)
- [72] MCCLEAR, Barry V. a Malcolm GLENNIE-HOLMES. ENZYMIC QUANTIFICATION OF (1→3) (1→4)-β-D -GLUCAN IN BARLEY AND MALT. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 1985, **91**(5), 285-295 [cit. 2020-01-27]. DOI: 10.1002/j.2050-0416.1985.tb04345.x. ISSN 00469750. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/j.2050-0416.1985.tb04345.x>

- [73] YIN, Hsin-Yi, Pei-Tzu CHU, Wen-Che TSAI a Hsiao-Wei WEN. Development of a barcode-style lateral flow immunoassay for the rapid semi-quantification of gliadin in foods. *Food Chemistry* [online]. 2016, **192**, 934-942 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.06.112. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615010043>
- [74] GUERDRUM, Lindsay J. a Charles W. BAMFORTH. Levels of gliadin in commercial beers. *Food Chemistry* [online]. 2011, **129**(4), 1783-1784 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.06.021. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611008867>
- [75] DAMIANI, Elisabetta, Jessica A. SOLORIO, Aiden P. DOYLE a Heather M. WALLACE. How reliable are in vitro IC50 values? Values vary with cytotoxicity assays in human glioblastoma cells. *Toxicology Letters* [online]. 2019, **302**, 28-34 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.12.004. ISSN 03784274. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427418319192>
- [76] WITKOWSKA NERY, Emilia, Elżbieta JASTRZEBSKA, Kamil ŻUKOWSKI, Wojciech WRÓBLEWSKI, Michał CHUDY a Patrycja CIOSEK. Flow-through sensor array applied to cytotoxicity assessment in cell cultures for drug-testing purposes. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2014, **51**, 55-61 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1016/j.bios.2013.07.023. ISSN 09565663. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566313004958>
- [77] KEMPF, Margit, Roy M. KIMBLE a Leila CUTTLE. Cytotoxicity testing of burn wound dressings, ointments and creams: A method using polycarbonate cell culture inserts on a cell culture system. *Burns* [online]. 2011, **37**(6), 994-1000 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1016/j.burns.2011.03.017. ISSN 03054179. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417911000994>
- [78] RADU, Nicoleta, Aurora SALAGEANU, Mariana FERDES a Ileana RAU. Cytotoxicity Study Regarding Some Products Derived from *Monascus* sp. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* [online]. 2012, **555**(1), 189-194 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1080/15421406.2012.635533. ISSN 1542-1406. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15421406.2012.635533>
- [79] MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* [online]. 1983, **65**(1-2), 55-63 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. ISSN 00221759. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022175983903034>
- [80] RIEBELING, Christian, Jean-Pascal PIRET, Bénédicte TROUILLER, Inge NELISSEN, Christelle SAOUT, Olivier TOUSSAINT a Andrea HAASE. A guide to nanosafety testing: Considerations on cytotoxicity testing in different cell models. *NanoImpact* [online]. 2018, **10**, 1-10 [cit. 2020-01-31]. DOI: 10.1016/j.impact.2017.11.004. ISSN 24520748. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452074817301180>
- [81] JEŽEK, František a Alena SALÁKOVÁ. Senzorická analýza potravin. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012.

[82] *McCance and Widdowson's The Composition of Foods: Seventh Summary Edition.*
Velká Británie: Royal Society of Chemistry, 2014. ISBN 9781849736367.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

FAO OSN	Organizace OSN pro výživu a zemědělství
EU	Evropská unie
UV	oblast ultrafialového záření
VIS	oblast viditelného záření
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
ABTS	2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
λ	vlnová délka
ε	molární absorpční koeficient
QQFPF	celiakální toxický epiteton gliadinu
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
NAD(P)H	nikotinamidadeninukletid(fosfát)
HaCaT	Human keratinocytes cell line
CaCO-2	Human Colon Adenocarcinoma cell line
EMEM	Eagle's Minimal essential medium
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
FBS	Fetální bovinní sérum
PBS	Phosphate Buffered Saline (fosfátový pufr)

9 PŘÍLOHY

9.1 Příloha 1: Dotazník pro sensorické hodnocení



Dotazník pro sensorické hodnocení netradičních cereálií

Vážení hodnotitelé,

zhodnoťte, prosím, předložené vzorky připravené z netradičních cereálií. Předloženy Vám budou vzorky netradičních cereálií, mezi které byly zařazeny pseudocereálie a některé méně známé cereálie. Zkoumanými netradičními cereáliemi jsou amaranth, čirok, jáhly, kamut, pohanka a quinoa.

Hodnotitel: Student / Doktorand / Akademik

Datum:

Čas:

Zdravotní stav:

kuřák / nekuřák

muž / žena

1. Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáním?

Netradiční cereálie a výrobky z nich konzumuji často.

Netradiční cereálie a výrobky z nich spíše nekonzumuji.

Netradiční cereálie a výrobky z nich vůbec nekonzumuji.

Senzorické hodnocení vzorků pomocí stupnice

Vzhled a barva, struktura a vůně

1 – vynikající; 2 – velmi dobrý; 3 – dosti dobrý; 4 – uspokojivý; 5 – ještě přijatelný; 6 – špatný, již nepříjemný; 7 – velmi špatný, odporný

Kód vzorku	Vzhled a barva	Struktura	Vůně
A			
B			
C			
D			
E			
F			

Chuť

Intenzita chuti: 1 – velmi silná; 2 – silná; 3 – střední; 4 – slabá; 5 – velmi slabá

Celková chuť: 1 – vynikající; 2 – velmi dobrý; 3 – dosti dobrý; 4 – uspokojivý; 5 – ještě přijatelný; 6 – špatný, již nepřijatelný; 7 – velmi špatný, odporný

Kód vzorku	Celková chuť (číslo)	Příchuť / či případná pachuť (slovy)	Intenzita chuti (číslo)	Označte nejlepší vzorek (+) a nejhorší vzorek (-)	Obilovina (z jaké cereálie byl výrobek připraven)
A					
B					
C					
D					
E					
F					

Pořadový test – seřaďte jednotlivé vzorky dle vlastních preferencí a zdůvodněte.

Pořadí	Kód vzorku	Důvod (či případně jiná poznámka)
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		