



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

KORÁLOVEC JEŽATÝ (HERICIUM ERINACEUS) JAKO PRODUCENT BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

HERICIUM ERINACEUS AS A NATURAL SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Klára Štefková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Helena Hudečková, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1823/2022 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Klára Štefková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a analýza přírodních látek
Vedoucí práce: **Ing. Helena Hudečková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*) jako producent biologicky aktivních látek

Zadání bakalářské práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- 1) Literární rešerše na dané téma: charakterizace Korálovce ježatého (podmínky kultivace, substráty, významné biologicky aktivní látky apod.).
- 2) Kultivace mycelia Korálovce ježatého na vybraných substrátech.
- 3) Stanovení základních nutričních parametrů, biologicky aktivních látek a antioxidační kapacity pomocí vybraných analytických metod.
- 4) Vyhodnocení výsledků a z nich plynoucí doporučující závěry v oblasti výživy.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

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

Klára Štefková
studentka

Ing. Helena Hudečková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zaměřuje na optimalizaci kultivace houby korálovce ježatého na obilných a pseudoobilných substrátech s cílem stanovení nutričních parametrů, antioxidační kapacity a celkové biologické aktivity. Jako vhodné substráty byly zvoleny amarant, ječné kroupy, kukuřičná krupice, pohanka, bílá a červená quinoa a pšeničné otruby.

Teoretická část této práce byla zaměřena na popis vzácné houby, a především jejích bioaktivních sekundárních metabolitů. Byly také charakterizovány podmínky kultivace a představeny substráty použité v experimentální části.

Experimentálně byla určena metoda kultivace, která měla největší výtěžnost mycelia korálovce ježatého. Jako nejefektivnější byla vyhodnocena metoda, která k zaočkování využívala pevné mycelium, a byla proto použita ke kultivaci mycelia na všech vybraných obilninách a pseudoobilninách. Analyzované nutriční parametry byly nejprve pomocí vhodných analytických metod stanoveny v samotných substrátech a následně v substrátech obohacených o mycelium korálovce ježatého. Stejně tak byly stanoveny biologicky aktivní látky a antioxidační kapacita. Vyhodnocením výsledků byla umožněna charakterizace obohacených substrátů a z ní plynoucí doporučení pro uplatnění korálovce ježatého v oblasti výživy.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hericium erinaceus, korálovec ježatý, amarant, pšeničné otruby, ječné kroupy, quinoa, kukuřičná krupice, pohanka, bioaktivní sloučeniny

ABSTRACT

The bachelor thesis focuses on the optimization of the cultivation of the lion's mane mushroom on cereal and pseudocereal substrates with the aim of determining nutritional parameters, antioxidant capacity and overall biological activity. Amaranth, barley groats, maize flour, buckwheat, white and red quinoa and wheat bran were chosen as suitable substrates.

The theoretical part of this work focused on the description of the rare fungus and especially its bioactive secondary metabolites. The cultivation conditions were also characterized and the substrates used in the experimental part were introduced.

Experimentally, the cultivation method with the highest mycelial yield of the lion's mane mushroom was determined. The method that utilized solid mycelium for inoculation was evaluated as the most effective. It was therefore used to culture mycelia on all selected cereals and pseudocereals. The analyzed nutritional parameters were first determined in the substrates themselves and then in substrates enriched with lion's mane mushroom using suitable analytical methods. Similarly, biologically active substances and antioxidant capacity were also determined. The evaluation of the results allowed the characterisation of the enriched substrates and the resulting recommendations for the application of the lion's mane mushroom in the field of nutrition.

KEY WORDS

Hericium erinaceus, lion's mane mushroom, amaranth, wheat bran, barley groats, quinoa, maize flour, buckwheat, bioactive compounds

ŠTEFKOVÁ, Klára. *Korálovec ježatý (Hericium erinaceus) jako producent biologicky aktivních látek* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-04-17]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/151932>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Helena Hudečková.

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

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Heleně Hudečkové Ph.D za odborné vedení. Velké díky patří také Ing. Agátě Bendové za trpělivou pomoc a neustálou ochotu i Ing. Julii Hoové Ph.D. za podporu v začátcích práce. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům.

OBSAH

1 ÚVOD	8
2 TEORIE	9
2.1 Korálovec ježatý	9
2.1.1 Historie a název houby	9
2.1.2 Výskyt	10
2.1.3 Chemické složení	10
2.2 Kultivace a zpracování	11
2.2.1 Podmínky kultivace	11
2.2.2 Vhodné substráty pro kultivaci	12
2.2.3 Substráty vybrané k experimentální části	13
2.2.4 Koji fermentace	14
2.3 Korálovec ježatý jako producent bioaktivních metabolitů	15
2.3.1 Sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností	15
2.3.2 Sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností	16
2.3.3 Korálovec ježatý jako zdroj antioxidantů	17
2.3.4 Izolace účinných látek	18
2.4 Terapeutický potenciál korálovce ježatého	18
2.5 Využití v potravinách	19
3 CÍL PRÁCE	21
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
4.1 Použité materiály, chemikálie, přístroje	22
4.1.1 Použité chemikálie pro kultivace	22
4.1.2 Použité chemikálie	22
4.1.3 Použité přístroje	22
4.1.4 Použité materiály	23
4.1.5 Použité mikroorganismy	23
4.2 Kultivace mycelia korálovce ježatého	25
4.2.1 Kultivace na šikmém agaru	25
4.2.2 Příprava substrátů	25
4.3 Očkování substrátů	27
4.3.1 Očkování pevným myceliem	27
4.3.2 Očkování tekutým i pevným myceliem	27
4.4 Extrakce aktivních látek	27
4.4.1 Homogenizace substrátů	27
4.4.2 Extrakce ve vodném prostředí	28

4.4.3	Kyselá hydrolýza.....	28
4.4.4	Extrakce podle Folcha.....	28
4.4.5	Transesterifikace.....	28
4.5	Stanovení nutričních hodnot.....	29
4.5.1	Stanovení celkových sacharidů dle Duboise.....	29
4.5.2	Stanovení bílkovin dle Hartree-Lowryho.....	29
4.5.3	Stanovení celkových fenolických látek.....	30
4.5.4	Stanovení flavonoidů.....	30
4.5.5	Stanovení mastných kyselin pomocí GC.....	31
4.5.6	Stanovení pigmentů a lipofilních metabolitů pomocí HPLC.....	31
4.5.7	Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou TEAC.....	32
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	33
5.1	Kultivace mycelia.....	33
5.2	Kultivace mycelia na zvolených substrátech.....	33
5.3	Spektrofotometrická stanovení aktivních látek.....	36
5.3.1	Stanovení celkových sacharidů podle Duboise.....	36
5.3.2	Stanovení bílkovin dle Hartree-Lowryho.....	37
5.3.3	Stanovení celkových fenolických látek.....	38
5.3.4	Stanovení celkových flavonoidů.....	40
5.3.5	Stanovení celkové antioxidační kapacity.....	40
5.4	Stanovení mastných kyselin pomocí GC.....	42
5.5	Stanovení pigmentů a lipofilních metabolitů pomocí HPLC.....	43
5.6	Aplikace korálovce ježatého v potravinářském průmyslu.....	45
6	ZÁVĚR.....	47
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	49
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	57

1 ÚVOD

Houby se po staletí využívají jako ceněné potraviny. Tradičně se používají také v medicíně, například tradiční čínská medicína má dlouhou tradici využívání léčivých hub. V současné době ale prožívají houby jakési znovuzrození, protože společnost teprve nyní zpozorovala ohromný potenciál pro farmaceutický a potravinářský průmysl, který houby díky svým bioaktivním složkám představují.

Příkladem takové houby je *Hericium erinaceus* neboli korálovec ježatý, který je silně biologicky aktivní. Obsahuje velké množství především β -glukanových polysacharidů, terpenoidů, zejména erinacinů, mezi kterými je nejznámější erinacin A, ale i dalších sekundárních metabolitů. Díky tomu disponuje korálovec blahodárnými účinky na lidské zdraví. Jmenovitě vykazuje antioxidační, protirakovinnou, neuroprotektivní nebo imunomodulační aktivitu. Není tedy divu, že se velké množství studií věnuje prozkoumání možností uplatnění korálovce ježatého jako zdroje potravin a léků. V potravinářském průmyslu se jedná zejména o fortifikaci potravin nebo doplňky stravy, které fungují jako nástroj pro zlepšení výživového stavu populace.

Cereálie a cereální výrobky patří k nejvíce konzumovaným potravinám. Obiloviny se řadí mezi základní potraviny, a především pro rozvojové země slouží jako zásadní zdroj živin. Mimo makroživiny se jedná i o množství důležitých mikroživin jako je hořčík, zinek nebo vitamín E. Aby se zlepšily nutriční vlastnosti obilovin, bývají produkty z nich obohacovány.

Trendem ve společnosti se v posledních několika letech staly pseudocereálie, které mají vysokou nutriční hodnotu a od cereálií se liší absencí lepku. Nejvýznamnějšími pseudocereáliemi jsou v současnosti amarant, pohanka a quinoa.

Tato práce se zabývá zvýšením nutričních a antioxidačních hodnot cereálií i pseudocereálií a jejich obohacením o důležité bioaktivní látky pomocí mycelia korálovce ježatého. Srovnává metody kultivace, a především různé obilné a pseudoobilné substráty. Využívá potom vhodných analytických metod pro vyhodnocení, zda bylo obohacení a zvýšení nutriční kapacity substrátů úspěšné. V závěru práce byla provedena charakterizace produktů a doporučena aplikace v oblasti výživy.

2 TEORIE

2.1 Korálovec ježatý

Houby odjakživa sloužily jako kvalitní zdroj živin v potravě. Ani v dnešní době tomu není jinak. Přesto my, lidé, teprve začínáme objevovat plný potenciál hub, který spočívá v jejich neobvykle vysokém obsahu bioaktivních látek. Zářným příkladem takové houby je korálovec ježatý. Jeho biologicky aktivní sekundární metabolity mají možnost pozitivně působit při onemocněních jako je rakovina, deprese, cukrovka, Alzheimerova choroba nebo jiných neurodegenerativních onemocnění. Korálovec ježatý se již v současnosti zřídka uplatňuje v potravinářském průmyslu, primárně ve formě tablet jako doplněk stravy, a můžeme jenom předpokládat, že jeho role v potravinářství bude čím dál dominantnější. Zajímavé přitom může být i využití zemědělských odpadů pro jeho kultivaci [1].

Korálovec ježatý bývá považován za slabého parazita, případně saprotrofní houbu. V současné době je taxonomicky řazen takto: *Hericiaceae*, *Russulales*, *Incertae sedis*, *Agaricomycetes*, *Agaricomycotina*, *Basidiomycota*, *Fungi* [1].

Zralou plodnicí *H. erinaceus* neboli korálovce ježatého jednoznačně poznáme podle velkého množství jednotlivých, podlouhlých, visacích trnů bělavé barvy, které stářím postupně přechází v barvu nažloutlou až nahnědlou. K této barevné změně dochází oxidací na vzduchu. Trny vyrůstají z pevného kořene a v nejmladším stádiu dosahují délky 1 cm (nebo i kratší), s věkem se však prodlužují a nabývají délky až 4 cm [1][2].



Obrázek 1 – Plodnice korálovce ježatého. Na obrázku a (vlevo) roste plodnice na mrtvém kmeni stromu, zatímco na obrázku b (vpravo) roste plodnice na živém dřevě. Obě fotografie byly pořízeny v Německu. [1]

2.1.1 Historie a název houby

Korálovec ježatý se historicky objevuje v tradiční čínské i japonské medicíně, kde byl hojně využíván pro své, již tehdy známé, léčivé účinky. Poprvé byl ale popsán v Severní Americe [2][3].

Doslovný překlad latinského *erinaceus* znamená „ježek“. Toho vizuálně houba svým rozčepýřeným tvarem připomíná. *Hericium erinaceus*, tedy korálovec ježatý ovšem v různých koutech světa dostal rozličná, často zábavná pojmenování, která povětšinou souvisí právě

s nápadným tvarem. Například v Japonsku je označován za „Yamabushitake“ tedy za „horského kněze“, v Číně se mu přezdívá „猴頭菇“ (Houtou), což můžeme volně přeložit jako „opičí hlava“. Dále jsou používány názvy jako „Lví hřívá“, „Vousy starého muže“ nebo „Bílý vous“ [1][2].

2.1.2 Výskyt

Korálovec ježatý se volně v přírodě vyskytuje nejhojněji v evropských zemích a na území jižních států Ameriky. Druh byl také zaznamenán v Austrálii. Překvapivě neexistuje záznam o jeho výskytu v Asii, kde je ovšem rozšířené jeho pěstování. V Africe se zřejmě *Hericium* nevyskytuje [1].

V přírodě se nachází na mrtvém dřevě, případně v prasklinách nebo suchých živých tvrdých listnatých stromů. V klimatických podmínkách Spojeného království je k nalezení od září do prosince. *H. erinaceus* byl v roce 2003 zařazen na červený seznam ve 13 evropských zemích, protože jeho přirozená stanoviště postupně začínají mizet [1][2][4].

2.1.3 Chemické složení

Látka, která představuje největší podíl v tělech hub, je voda. Zbytek je tvořen sušinou. Houby obecně obsahují velké množství bílkovin, minerálních látek i vlákniny. Naopak obsah tuků nebo sacharidů bývá nižší [5].

Mimo základní specifické látky obsahují houby i celou řadu látek se specifickými účinky, zpravidla se jedná o sekundární metabolity. Korálovec ježatý je právě na tyto bioaktivní metabolity velmi bohatý a podrobněji budou popsány v kapitole 2.3 [5].

Plodnice

Plodnice korálovce ježatého mají relativně vysoký obsah bílkovin v sušině (okolo 31,7 % hm.) i celkového cukru (61,3 % hm. až 77,5 % hm.). Významné jsou sacharidy, které stabilizují buněčnou membránu a zároveň slouží jako stavební jednotka pro buněčnou stěnu. Jsou v houbě zastoupeny především jako jednoduché cukry (trehalóza, glukóza). Již bylo zmíněno, že korálovec obsahuje celou řadu biologicky aktivních látek. V plodnicích se jedná zejména o nízkomolekulární fenolické látky, mastné kyseliny a herincenony, ale pro svůj bioaktivní potenciál jsou zkoumány i polysacharidy. Zajímavé jsou především polysacharidy rozpustné ve vodě, například různé druhy erinacinů nebo glukanů [1] [5] [6].

Je přítomno také velké množství minerálních látek. Jmenovitě se jedná o draslík, sodík, fosfor, germanium, selen, zinek nebo železo. [5]

Mycelium

Mycelium korálovce ježatého obsahuje diterpeny zvané erinaciny. Základní nutriční údaje týkající se pouze mycelia nejsou v současné době dostatečně prozkoumány [6].

2.2 Kultivace a zpracování

Již bylo zmíněno, že se korálovec ježatý přirozeně vyskytuje v podmínkách mírného pásu a chladnější klima jasně preferuje. Jeho kultivace ale v současné době probíhá i v podmínkách tropických, tedy za vysoké teploty a vlhkosti (např. Malajsie) [3].

Na růst mycelia korálovce ježatého má vliv zdroj dusíku v kultivačním médiu, poměr uhlíku k dusíku (C/N) i teplota. Zanedbatelná rozhodně není ani hodnota pH, která může ovlivnit například produkci sekundárních metabolitů (např. erinacinu A) v biomase. Zásadní je rozhodně volba substrátu pro kultivaci. Často se využívá lahví nebo propylenových sáčků se syntetickým substrátem (např. z lignocelulozových materiálů), ale také pěstování na dlouhých špalcích [5] [7].

Byl prováděn výzkum, který měl za cíl ukázat, jestli mají klimatické podmínky v různých podnebných pásech zásadní vliv na bioaktivitu korálovce ježatého. V tomto případě byla kultura korálovce ježatého pěstována nejdříve na bramborovo – dextrózovém agaru (PDA) po dobu 8 dní při teplotě 26 °C. Po inkubaci bylo mycelium homogenizováno a použito k submerzní kultivaci na médiu DPY po dobu 10 dnů při stejné teplotě. Výsledek této studie prokazuje, že tropické kultivační podmínky nemají negativní vliv na bioaktivní vlastnosti korálovce ježatého. Naopak zpracování houby je pro její bioaktivitu klíčové [3].

Možnosti kultivace korálovce ježatého se zdají být v neustálém vývoji. Existuje nespočet popsaných metod, které byly použity k jeho kultivaci. Některé z nich se zaměřují na samotný výnos biomasy, některé z nich mají za cíl zvýšit obsah žádaných sekundárních metabolitů v myceliu houby a některé se zaměřují na použití vedlejších průmyslových produktů nebo odpadů jako substrátů právě pro kultivaci korálovce ježatého [3] [5] [7].

2.2.1 Podmínky kultivace

Pro úspěšnou kultivaci korálovce ježatého je třeba zajistit poměrně konkrétní vnější podmínky. Teplota, vlhkost i doba kultivace zásadně ovlivňují její výtěžnost. Pro každou kultivační metodu se přitom tyto podmínky různí [8][9].

V praxi, při pěstování za cílem zisku plodnic, se využívá jak extenzivních, tak intenzivních metod kultivace. [8] První, extenzivní metoda, obnáší pěstování plodnic na kmenech nebo pařezech stromů, které jsou po zaočkování myceliální kulturou umístěny do zařízení, kde je udržována vysoká vlhkost. Další podmínky růstu nejsou ovlivňovány nebo kontrolovány. Plodnice jsou, za těchto přirozených podmínek, v časovém rozsahu mezi několika měsíci až jedním rokem. Metoda je tedy časově náročná, ale nevyžaduje investice do speciálního vybavení [11].

Metodou podstatně výnosnější je intenzivní metoda kultivace, která se obvykle provádí v lahvích nebo sáčcích, případně ve větších pytlech. Nádoby, ve kterých pěstování probíhá, musí být vyrobeny z materiálu, jenž je možné sterilizovat za zvýšené teploty. Využívá se proto polypropylen. Lahve a sáčky musí být také opatřeny filtrem, aby byla zajištěna výměna plynů pro dýchání mycelia a zároveň aby bylo zabráněno vniknutí nežádoucích mikroorganismů. Při použití lahví bývají narostlé plodnice větší než při použití sáčků, ale pěstování v sáčcích je jednodušší a méně finančně nákladné [8][11].

V následujících odstavcích budou pro ukázkou popsány dva možné způsoby laboratorní kultivace za rozličných podmínek.

Při první metodě kultivace ve studii týmu Phan a kolektiv bylo využito pytlování do polypropylenových pytlů. Kultura mycelia korálovce ježatého byla při teplotě 4–8 °C udržována na bramborovém dextrózovém agaru. Jako substrát byly při této studii použity kaučukové dřevěné piliny a rýžové otruby. Substrát byl také obohacen hnojivem ve formě uhličitanu vápenatého. K naočkování kultury do substrátu došlo při vlhkosti 6 %. Kultivace dále probíhala při teplotě 27–34 °C a vlhkosti 80–90 %. Mezi 50. a 60. dnem kultivace došlo k plné kolonizaci v pytlích. Plodnice se začaly objevovat zhruba 100 až 120 dní po zaočkování. Došlo tedy k otevření polypropylenových pytlů a zhruba 20 dní po otevření ke sklizni vzrostlých plodnic. Z každého pytle, který obsahoval 1 kg substrátu, bylo po proplachování získáno až 350 g plodnic korálovce ježatého [8].

Druhá metoda týmu Atila a kolektiv byla použita pro studii několika typů zemědělských a lesnických odpadů jako substrátu. Jednalo se o pšeničnou slámu, slámu z vikve obecné, fazolovou slámu a světlicový odpad. Tyto substráty byly nasekány na kousky o délce 2–3 cm a ponořeny do vody na 24 hodin. Po skončení byla ze substrátů odstraněna nadbytečná vlhkost [9].

Ke kultivaci byly i v tomto případě použity polypropylenové sáčky, které byly vždy naplněny 1 kg substrátu. Takto připravené sáčky sterilizovány v autoklávu vlhkým teplým vzduchem za zvýšeného tlaku při teplotě 121 °C po dobu 90 minut. V momentě, kdy teplota substrátu klesla na 25 °C, došlo k očkování kulturou korálovce ježatého. Podmínky kultivace odpovídaly teplotě asi 24 °C a vlhkost vzduchu se pohybovala okolo 85 %. V momentě, kdy došlo k dokončení růstu mycelia, byla teplota snížena asi o 6 °C a vlhkost nepatrně zvýšena asi o 5 %. Zároveň bylo zajištěno osvětlení mycelií, které trvalo vždy 8 hodin každý den [9].

Tyto dvě metody mají za účel naznačit možné nastavení teploty, vlhkosti a doby kultivace v laboratorních podmínkách. O konkrétních podmínkách každé jednotlivé kultivace potom ale rozhodují faktory jako typ zvoleného substrátu nebo cíl, s jakým je korálovec ježatý kultivován [8][9].

2.2.2 Vhodné substráty pro kultivaci

Substrát pro kultivaci hub může být obecně definován jako druh celulosového materiálu, který podporuje růst a vývoj plodnice houby [12].

Jako substrát pro kultivaci korálovce ježatého je možné použít četnou a různorodou skupinu materiálů, které byly pro něj vyhodnoceny jako vhodné kultivační prostředí. O typu substrátu často rozhoduje cenová a geografická dostupnost materiálu.

V případě využití klád dřevin je vhodné tvrdé dřevo listnatých stromů jako dub, olše, akát nebo topol. [12] Dají se také využít kmeny jehličnanů, i když tato praxe je méně častá [9][10].

Vedle kmenů se jako vhodný substrát nabízí i různé druhy slámy a případně i zemědělského odpadu. Ve studii Atila a kolektiv bylo porovnáno 6 možných substrátů: pšeničná sláma, sláma vikve obecné, fazolová sláma, světlicový odpad, dubové a topolové piliny. Pro určení výtěžnosti byly porovnávány doby mezi očkováním kultury a plnou kolonizací substrátu myceliem, doby nutné pro vytvoření zárodků mladých plodnic a doby první sklizně. Inkubační

doby většiny substrátů byly téměř identické. Pouze v případě pilin (dubových i topolových) docházelo k růstu mycelia pomaleji. Značné rozdíly mezi použitými substráty ukazuje celkový výnos hmotnosti čerstvých hub sklizených za 60 dní vztažených na jednotku vlhké hmotnosti substrátu. Pilinové substráty byly zdaleka nejvýkonnější. S tím souvisí, že na pilinových substrátech byla také nejvyšší průměrná hmotnost jednotlivých sklizených plodnic [9].

Byla ovšem prokázána schopnost růstu korálovce ježatého na všech zkoumaných substrátech, a to v rámci 60 dnů. Díky tomu by korálovec ježatý mohl být využit při utilizaci lesnických a zemědělských odpadů [9].

Jako substrát pro submerzní kultivaci je také možné využít pšeničné otruby a pivovarské mláto. Oba tyto materiály jsou vedlejšími průmyslovými produkty. Produkce biomasy je při použití jak pšeničných otrub, tak pivovarského mláta jako substrátu spíše pomalá ve srovnání s optimalizovaným kultivačním médiem [14].

Složkami optimálního kultivačního substrátu, který umožňuje zvýšenou produkci biomasy, mohou být například ovesné vločky, uhličitan vápenatý a Edamin[®] K [7].

Nesmí být opomenuto, že po produkci korálovce, a hub obecně, zůstává velké množství již použitého substrátu, který může být kontaminantem životního prostředí [15][16].

2.2.3 Substráty vybrané k experimentální části

Aby mohl být substrát úspěšně použit ke kultivaci musí splňovat několik základních kritérií. V zásadě jde o přítomnost správného poměru celulózy a ligninu, z nichž jsou pomocí enzymů hydrolýzou uvolňovány nízkomolekulární živiny [17]. V následujících odstavcích budou stručně popsány ty substráty, které byly použity v experimentální části této práce.

Obecně se jedná o cereálie a pseudocereálie. Tyto obiloviny jsou důležitým zdrojem makroživin a často sami obsahují látky biologicky aktivní. Pseudocereálie jsou semena rostlin, které se neřadí mezi trávy. Na rozdíl od většiny obilnin ale přirozeně neobsahují lepek. Hospodářské a gastronomické využití obilnin a pseudoobilnin, stejně jako jejich zpracování, je ale prakticky totožné [18][19].

Ječmen

Ječmen, rostlina rodu *Hordeum*, v experimentální části použit ve formě ječných krup, je jednou ze základních potravinářských obilovin. Zrno obsahuje velké množství bílkovin a celou řadu aminokyselin [20][21]. Ječmen obsahuje také vysoké množství sacharidů. Má nejvyšší obsah neškrobových polysacharidů ze všech obilnin. Mezi ně patří pentozany, β -glukany a pektiny, ale také celulóza a hemicelulóza. Celkový obsah vlákniny, která se skládá z neškrobových polysacharidů a ligninu, je tedy také značně vysoký [22].

Zastoupena je také celá řada minerálních látek (např. vápník, draslík) a vitamíny, především ze skupiny B nebo vitamín E [21].

Quinoa

Jedná se o jednoletou dvouděložnou a samosprašnou rostlinu, jež se řadí do čeledi *Chenopodiaceae*. Z nutričního hlediska je bohatá na vlákninu, bílkoviny, minerály (vápník, železo), mastné kyseliny a komplexy vitamínů B. Z bioaktivních sloučenin jsou v ní významné např. polyfenoly nebo flavonoidy [19][23]. V závislosti na odrůdě mění zrna quinoj barvu

z bílé až světle hnědé na červenou až černou, přičemž rozdíly v obsahu živin mezi jednotlivými odrůdami jsou značné [23][24].

Semena quinoj mají nejvyšší biologickou hodnotu ze všech obilných zrn [19].

Pohanka

Jedná se o rostlinu z čeledi *Polygonaceae*, jejíž zrna obsahují výživově hodnotné bílkoviny s vyváženým složením aminokyselin i sacharidy. Obsah vlákniny v zrně je také relativně vysoký stejně jako obsah vitaminů B₁, B₂ a B₆. Pohanka je také, ve srovnání s jinými obilovinami, dobrým zdrojem antioxidantů. Nevýhodou pohankových zrn je jejich složitá stravitelnost, která brání plnému využití jejich nutrientů [18][19].

Kukuřice

Kukuřice, *Zea mays*, v experimentální části použita ve formě kukuřičné krupice, je přední světovou obilninou. Zrna kukuřice se skládají ze škrobu, neškrobových polysacharidů, bílkovin a lipidů [25][26]. V porovnání s ostatními obilninami má vysoký obsah tuků. Co se vitaminů týče, obsahuje kukuřice zejména vitamíny B-komplexu. Konkrétně se jedná o vitamíny B₁, B₂, B₃, B₅ a B₆. Kukuřice může být také zdrojem vitaminů C a E nebo některých základních minerálů [27][28].

Pšeničné otruby

Pšeničné otruby jsou vedlejším mlýnským produktem při mletí mouky ze zrn rostliny rodu *Triticum*. Jsou tedy tvořeny semennými obaly, klíčky a slupkami zrna. Jsou výborným zdrojem vlákniny, vitaminů skupiny B, minerálů i různých bioaktivních sloučenin, a to zejména antioxidantů. Vláknina je v pšeničných otrubách tvořena hlavně celulózou [29][30].

Amarant

Rostlina z čeledě *Amaranthaceae* je také nutričně významnou plodinou, jelikož obsahuje vysoké množství nejen vysoce kvalitních bílkovin a sacharidů, ale i tuků, nenasycených olejů, vlákniny a jiných mikroživin. Mezi ty patří fenolické sloučeniny, tokoferoly, skvalen, vitamíny B₆ a C nebo různé minerální látky, jmenovitě vápník, fosfor, železo, hořčík nebo draslík. Amarant má také vysoký obsah antioxidantů [19][31][32][33].

2.2.4 Koji fermentace

Koji fermentace je biotechnologický proces, který vychází z tradičních japonských procesů fermentace. Využívá se při něm především mikrobiálního kmene *Aspergillus*, ale lze využít i rodu *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium* nebo jiných. Každý typ Koji přitom využívá vlastní mikrobiální floru [34]. Proces fermentace je zahájen naočkováním spor vláknitých hub na růstový substrát. Poté fermentace probíhá po dobu asi 48 hodin při teplotě 30 °C. Během této doby produkuje vláknitá houba řadu enzymů, které jsou schopny rozkládat složitější substráty na jednodušší látky [35][36].

Historicky se jednalo především o fermentaci sójových bobů, zrn nebo jejich směsi a jedná se zároveň o první stupeň fermentace při výrobě Miso [34][35].

Koji fermentace se uplatňuje i v moderních průmyslových aplikacích, kde se převážně využívá čistých kultur hub a plně automatizovaných přístrojů. Je tak zajištěna kvalita a bezpečnost procesu. Pro tuto práci je koji fermentace důležitá proto, že zvolené podmínky

kultivace korálovce ježatého jsou inspirované právě podmínkám koji fermentace. Přičemž využitý mikrobiální kmen bude právě korálovec ježatý [34].

2.3 Korálovec ježatý jako producent bioaktivních metabolitů

Houby obecně byly historicky užitečnou potravinou, která se tradičně používala i k medicínským účelům. Příkladem může být tradiční čínská i japonská medicína. Přesto lze tvrdit, že v současné době prožívají houby svůj „boom“. Vědci po celém světě se blíže zajímají o možnosti, které nabízejí bioaktivní složky hub. Jsou prokazovány účinné léčivé vlastnosti houbových metabolitů. Jedinečná je také jejich častá absence toxicity nebo vedlejších účinků. Zářným příkladem takové houby, která nabízí překvapivé množství bioaktivních látek a s nimi velké množství možností při využití nejen v lékařství, je právě korálovec ježatý [2]

Bioaktivní látky v korálovci ježatém se dají vesměs rozdělit do dvou skupin:

- sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností (např. polysacharidy)
- sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností (např. terpenoidy) [2]

2.3.1 Sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností

Zástupci této skupiny jsou polysacharidy. Jsou k nalezení v hojném množství v buněčných stěnách houby a obecně v plodnicích i myceliu. Z korálovce ježatého bylo izolováno množství různých polysacharidů s protinádorovými, ale i imunomodulačními, neuroprotektivními, antioxidačními nebo antihyperglykemickými účinky [1][2].

Polysacharidy

Udává se, že každých 100 g sušené houby obsahuje přibližně 61,3–77,5 g celkových sacharidů. Polysacharidy hrají extrémně důležitou roli v biologické aktivitě korálovce ježatého. K nalezení jsou především v plodnicích. V myceliu houby je jejich celkový obsah výrazně nižší. Předními zástupci polysacharidů jsou β -glukany, α -glukany a glukán-proteinové komplexy. V současné době bylo z extraktů korálovce ježatého izolováno více než třicet pět rozličných polysacharidů, které mají do budoucna široký potenciál při léčbě onemocnění jako je rakovina, poškození jater, cukrovka, žaludeční vředy nebo různá neurodegenerativní onemocnění. Bioaktivita přitom silně souvisí s fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Celkový přehled všech polysacharidů obsažených v korálovci ježatém dosud nebyl nikým vytvořen [1][37].

Struktura polysacharidů byla identifikována a analyzována například kombinací infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací, hmotnostní spektroskopie s desorpční pole, nukleární magnetickou rezonancí nebo kombinací plynové chromatografie a hmotnostní spektrografie. Tyto a další metody zajistily poměrně kompletní informace o daných polysacharidech jako je jejich molekulová hmotnost nebo monosacharidové složení [1].

Obecně lze polysacharidy rozdělit na heteropolysacharidy a homopolysacharidy. Co se heteropolysacharidů týká, z plodnic korálovce ježatého byly izolovány xylany, glukoxylany, heteroxyloglukany a galaktoxyloglukany. Navzájem se liší nejen monosacharidovým složením, ale i typem glykosidové vazby. Jmenovité příklady takových polysacharidů jsou namátkově dva polysacharidy (AF2S-2, BF2S-2) izolované z plodnic s β -(1 → 3) a β -(1 → 6) glukosidovými

vazbami, heretopolysacharidy (HEPA1, HEPA4) izolované naopak z mycelia houby, jejichž hlavní stavební složkou je glukóza nebo polysacharidy izolovatelná z vodných extraktů (HPA, HPB), složené především z monosacharidových jednotek glukózy a galaktózy [1].

Množství homopolysacharidů získaných z korálovce ježatého je oproti heteropolysacharidům výrazně nižší. Například neutrální glukán izolovaný z fermentačního mycelia (HPP), β -glukán (HEP-3) a α -glukán (HEP-5) izolované z plodnic nebo neutrální α -D-glukán (HEPF5) [1].

Vedle polysacharidů je možné z korálovce ježatého získat také několik glykoproteinů [1].

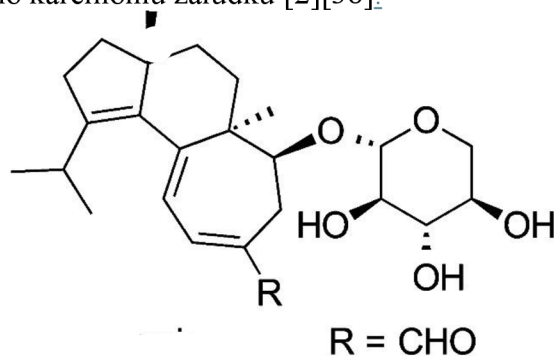
2.3.2 Sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností

Sloučeniny o nízké molekulové hmotnosti tvoří velmi početnou skupinu sekundárních metabolitů korálovce ježatého. Z mycelia a plodnic houby lze izolovat řadu erinacinů (z nichž je nejznámější erinacin A), hericeriny, dále steroidy, alkaloidy, laktony a různé další aromatické sloučeniny (např. pyranony). Nízkomolekulární metabolity bývají ve vodě špatně rozpustné a pro jejich extrakci je tak nutné využít vhodné organické rozpouštědlo (např. methanol) [2][37].

Terpenoidy

Dobře prostudované bioaktivní metabolity se značnou důležitostí jsou erinaciny. Jedná se o skupinu diterpenoidů, konkrétněji o deriváty benzylalkoholu s potenciálními neuroprotektivními vlastnostmi. Vykazují tedy jak neuroprotektivní tak neurotropní účinky. Hlavním zástupcem erinacinů je erinacin A, který byl také jako první identifikovaný. V současné době již rozlišujeme celou řadu erinacinů, především v myceliu korálovce ježatého jsou k nalezení mimo erinacinu A také například erinacin C nebo erinacin S. Díky relativně vysokému obsahu erinacinů představuje korálovec ježatý terapeutický potenciál při léčbě různých neurodegenerativních onemocnění [37][38][39][40].

Erinacin A označuje sloučeninu s typickým sedmičlenným kruhem a dvěma konjugovanými dvojnými vazbami. Výjimečnost erinacinu A je patrná již při plytkém prostudování této sloučeniny, má různorodé blahodárné účinky na lidské zdraví. Je schopen navyšovat nervový růst a inhibovat buněčnou smrt u neuronů díky regulaci proteinů. Dále má průkazný ochranný účinek proti Parkinsonově chorobě nebo Alzheimerově chorobě. Má také protinádorovou aktivitu v buňkách lidského karcinomu žaludku [2][38].



Obrázek 2 – Struktura erinacinu A [37]

Významným zástupcem z řad erinacinů je také erinacin C s neuroprotektivními a protineurozánětlivými účinky [39].

Vedle erinacinů obsahuje korálovec ježatý i další terpenoidy a to hericeriny. Na rozdíl od erinacinů, které se nachází v myceliu houby, byly hericeriny doposud nalezeny pouze v plodnicích houby. Z extraktu korálovce ježatého bylo zatím izolováno minimálně sedm druhů hericerinů, což jsou aromatické sloučeniny oplývající léčivými vlastnostmi. Bylo prokázáno, že hericeriny jsou schopny inhibovat růst leukemických buněk. Do budoucna proto představují potenciál pro léčbu rakoviny [1][37][38].

Steroly

V myceliu korálovce ježatého byly identifikovány také různé steroly. V biomase byl například detekován ergosterol, který se při vystavení UV světlu mění v houbě na vitamin D. Popsaná je také izolace šesti nových erinarolů (A-F), erinalolů (G-J) nebo pěti esterů mastných kyselin, které obsahují sterol ergostanového typu. Obecně je ale množství bioaktivních sterolů v korálovcu ježatém poměrně nízké. Jejich obsah je možné navýšit kultivací za přítomnosti kyseliny salicylové případně za přítomnosti methyljasmonátu, který vyvolá i zvýšený nárůst biomasy mycelia. Podobně jako u erinacinů se k identifikaci sterolů hodí spíše ethanolové, případně methanolové, než vodné extrakty [37].

Těkavé sloučeniny

V plodnicích korálovce ježatého se nachází i množství těkavých složek. Těkavé oleje jsou složeny především z kyseliny hexadekanové, kyseliny linolové, fenylacetaldehydu a benzaldehydu. I u těkavých sloučenin najdeme potenciál při využití v lékařství díky předpokladu, že budou schopny inaktivovat patogenní bakterie [37].

Laktony

Nedávno byly z kultur mycelia za pomoci spektroskopických metod izolovány tři nové erinaceolaktony (A, B a C). Ty vykazují regulační aktivitu při růstu rostlin. K získání těchto sloučenin bylo kultivační médium korálovce ježatého extrahováno *n*-hexanem a vodou. Nepochárání část extraktu byla následně separována pomocí HPLC metody. Korálovec ježatý obsahuje také biologicky neaktivní vitamin B₁₂, tedy c-lakton a chemickým otevřením laktonového kruhu je z něj tedy možno vytvořit aktivní formu vitamínu [37][41].

2.3.3 Korálovec ježatý jako zdroj antioxidantů

Pokud se v těle nachází příliš mnoho volných radikálů podporujících oxidační procesy, dochází ke škodlivým degenerativním procesům. Sloučeniny, které vykazují antioxidační vlastnosti, jsou schopny tyto radikály v buňkách neutralizovat a snižují oxidační stres. Proto hrají významnou roli při léčbě i při prevenci rozličných onemocnění. Antioxidační aktivitu vykazují různé vitamíny, enzymy, volné mastné kyseliny, fenolové nebo flavonové deriváty a další sloučeniny [42].

Na zhodnocení antioxidačních vlastností korálovce ježatého byla provedena celá řada studií [43][44]. Plodnice i mycelium obsahují fenolické sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi, a to jak v extraktech, tak v troubě sušených výtažcích [42].

Antioxidační aktivitu vykazují také sacharidy, které se v korálovcu nachází a to polysacharidy, oligosacharidy i lipopolysacharidy [42][43][44].

Produkty z korálovce ježatého nebo jeho extrakty tedy mohou sloužit jako vhodný zdroj antioxidantů pro lidi [42].

2.3.4 Izolace účinných látek

Při porovnání čerstvých, mrazem sušených a tepelně zpracovaných plodnic bylo zjištěno, že množství různých bioaktivních látek se v nich liší. Analyzovalo se přitom v methanolových extraktech. Výchozí extrakty jednotlivých metod vykazovaly ve všech případech vysokou bioaktivitu [3].

Zavedenou metodou je několikahodinové míchání plodnic korálovce ježatého v horké vodě. Zřetelnou nevýhodou je časová náročnost. Časově příznivější metodu představuje záření na plodnice mikrovlnnými vlnami ve vodě. Takové ozařování při 140 °C po dobu 5 minut je prakticky stejně účinné jako šestihodinové míchání plodnic při 100 °C. Roztok získaný extrakcí ve vodě je následně filtrován a zahuštěn. Zdánlivě vhodné použití organických rozpouštědel bývá v praxi omezováno kvůli jejich toxicitě [1].

Při izolaci a čištění polysacharidů jsou rozdrcené plodnice nebo mycelium korálovce ježatého nejprve extrahovány ethanolem pod zpětným chladičem, čímž dochází k eliminaci lipidů. Následuje extrakce ve vodném prostředí [3].

Vyvinuty byly také postupy extrakce šetrnější k životnímu prostředí. Například extrakce za pomoci enzymu je nejen účinná a snadno regulovatelná, ale i takzvaně zelená metoda. Enzymy jsou schopny degradovat buněčnou stěnu z plodnic a tím úspěšně odstartovat extrakci bioaktivních polysacharidů. Konkrétně se pro tento postup extrakce využívá enzymová směs celulosa:pektináza:trypsin v poměru 2:2:1 [1][45].

Izolace nízkomolekulárních sekundárních metabolitů probíhá majoritně v organických rozpouštědlech, protože jsou velmi často ve vodě málo rozpustné. Vhodným rozpouštědlem je tedy methanol nebo ethylacetát. Sušené plodnice či mycelia houby bývají opět extrahovány methanolem nebo ethanolem pod zpětným chladičem. Roztok se následně míchá s vodou a vhodným organickým rozpouštědlem. Vzniká tak suspenze, v jejíž organické fázi se nachází nízkomolekulární sekundární metabolity [2][38].

2.4 Terapeutický potenciál korálovce ježatého

Od starověku byl korálovec ježatý ve východní Asii používán v tradiční medicíně k léčbě neurastenie a obecné slabosti. V moderní době se ale uplatnění korálovce ježatého v medicíně a farmacii rozšířilo na značné množství oblastí [2][46].

Ve vodě rozpustné polysacharidy obsažené v plodnicích a myceliu korálovce ježatého dokáží aktivovat imunitní buňky a jsou tak účinné proti nádorovým buňkám. Díky svým protinádorovým a imunomodulačním účinkům může korálovec posloužit při léčbě některých typů rakovin. Konkrétně se potom jedná o rakovinu střev, jícnu, žaludku, jater nebo slinivky. Jedná se tedy především o gastrointestinální rakoviny. Vodné i ethanolové extrakty vyvolávají smrt rakovinných buněk a inhibují jejich metastázu až o 69 % [2][46][47].

Byly také popsány antihyperglykemické a antihypercholesterolemické vlastnosti extraktů plodnic a mycelií korálovce ježatého. Mohou tedy posloužit k terapeutické léčbě

např. cukrovky obou typů nebo při jiných metabolických poruchách. Methanolový extrakt dokáže například snížit hladinu celkového cholesterolu [2][48].

S tím do jisté míry souvisí i potenciál pro využití při léčbě kardiovaskulárních a zánětlivých onemocnění střev [49].

Významné jsou samozřejmě také, již zmíněné, neuroprotektivní vlastnosti. Bioaktivní látky izolované z korálovce ježatého snižují smrt neuronových buněk a vykazují ochrannou aktivitu těchto buněk. Stimulují také tvorbu nervového růstového faktoru, který je krajně důležitý pro lidský život. Může jich být využito při léčbě Alzheimerovy choroby ale i například demence, mrtvice nebo Parkinsonovy choroby, a to s využitím sekundárních metabolitů hericenonů a erinacinů, konkrétněji erinacinu A, jež lze izolovat z plodnic i mycelia korálovce ježatého [2][50].

Neméně perspektivní je potenciál pro využití korálovce ježatého při léčbě neuropsychiatrických onemocněních, konkrétně při léčbě deprese. Jelikož bioaktivní látky obsažené v plodnicích a myceliu podporují expresi neurotrofních faktorů, je jejich aktivita v zásadě podobná aktivitě konvenčních antidepresiv. Proto může korálovec sloužit jako alternativní antidepresivum [51].

Mimo výše zmíněných vlastností a funkcí vykazuje korálovec ježatý díky svým bioaktivním sekundárním metabolitům také antimikrobiální aktivitu nebo antioxidační aktivitu. Dále existuje řada jiných terapeutických nebo farmakologických využití, které tato práce není schopna obsáhnout. Jisté ale je, že představuje ohromný potenciál v těchto odvětvích [2].

2.5 Využití v potravinách

Korálovec ježatý, jako mnoho dalších hub, má vynikající nutraceutické vlastnosti. Aplikace hub, a tak potažmo i korálovce v potravinářském průmyslu může v budoucnosti představovat velký potenciál při řešení otázek jako je zvyšování kvality potravin nebo udržitelnost potravinářského průmyslu. Díky vysokému množství sekundárních metabolitů je navíc korálovec ježatý zajímavý nejen pro farmaceutické odvětví, ale uplatňuje se také jako doplněk stravy nebo jako prostředek doplňkové medicíny [52].

Existuje také množství studií, které se zabývají možným obohacováním potravin extrakty korálovce ježatého. Příkladem je studie Wang a kolektiv, která se zaměřuje na zlepšení výživové hodnoty a chuti tradičních čínských nudlí přidávkem korálovce ježatého ve formě prášku. Výsledky ukázaly, že přídavek korálovce má pozitivní vliv na trávení škrobu a antioxidační kapacitu. Změnila se také textura nudlí, které byly tužší, ale kvalita nudlí nebyla jinak negativně pozměněna [53].

Historicky je korálovec ježatý potravinou, která se vyskytuje v tradiční asijské kuchyni. Plodnice hub se dají zpracovat přímo. Měly by mít nasládlou až mdlou chuť, texturou naopak má připomínat chobotnici. Sušené plodnice se potom přidávají do kaší nebo nápojů. Využívá se také jako přísada při pečení chleba. V tomto případě je využíváno inhibice enzymatického hnědnutí hub [6][37][54].

Byly zkoumány také vlastnosti fermentované šťávy korálovce ježatého, které byla vyrobena po vzoru fermentovaných rostlinných nápojů. Šťáva, fermentovaná pomocí bakterií mléčného

kvašení, obsahovala vysoký obsah L-glutaminu a kyseliny L-glutamové. Produktem je fermentovaný nealkoholický houbový nápoj [55].

Korálovec ježatý je využíván také jako fermentační substrát při výrobě octů nebo vín. Společnost Unframed Ice Cream představila také zmrzlinu s příchutí korálovce ježatého [37][56].

Do budoucna můžeme vedle využití korálovce jako doplňku stravy očekávat také rozvoj v oblasti jeho uplatnění jako funkční potraviny. Rozvíjet se pravděpodobně budou i nápoje na bázi korálovce ježatého pro svůj příznivý vliv na energii, vitalitu a imunitu [56].

3 CÍL PRÁCE

Cílem práce je optimalizovat kultivaci korálovce ježatého na obilných a pseudoobilných substrátech. Dále jsou stanoveny nutriční parametry, antioxidační kapacita a celková biologická aktivita jednotlivých substrátů i substrátů s myceliem korálovce ježatého. Po vyhodnocení získaných dat je provedena charakterizace produktů a doporučena aplikace v oblasti výživy.

1. literární rešerše na dané téma: charakterizace korálovce ježatého (podmínky kultivace, substráty, významné biologicky aktivní látky apod.)
2. kultivace mycelia korálovce ježatého na vybraných substrátech
3. stanovení základních nutričních parametrů, biologicky aktivních látek a antioxidační kapacity pomocí vybraných analytických metod
4. vyhodnocení výsledků a z nich plynoucí doporučující závěry v oblasti výživy

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité materiály, chemikálie, přístroje

4.1.1 Použité chemikálie pro kultivace

- Agarpowder, Himedia (IND)
- Malt extract broth base, Himedia (IND)
- Potato dextrose agar, Himedia (IND)
- Yeast extract powder, Himedia (IND)

4.1.2 Použité chemikálie

- ABTS, Sigma-Aldrich (DEU)
- Acetonitril pro HPLC, Penta (CZE)
- Albumin, Sigma-Aldrich (DEU)
- D-Glukóza monohydrát, Penta (CZE)
- Dusitan sodný, Lachema (CZE)
- Ethanol 96 %, Lach-Ner (CZE)
- Ethylacetát pro HPLC, Penta (CZE)
- Fenol, Lach-Ner (CZE)
- Folin-ciocalteuovo činidlo, VWR Chemicals (USA)
- Hexan pro HPLC, (IND)
- Hydroxid sodný, Lach-Ner (CZE)
- Chlorid hlinitý hexahydrát, Lach-Ner (CZE)
- Chlorid sodný, Penta (CZE)
- Chloroform, Lach-Ner (CZE)
- Katecholamin, Sigma-Aldrich (DEU)
- Kyselina gallová monohydrát, Sigma-Aldrich (DEU)
- Kyselina chlorovodíková 35 %, Penta (CZE)
- Kyselina sírová 96 %, Lach-Ner (CZE)
- Methanol, Lach-Ner (CZE)
- Pentahydrát síranu měďnatého, Lach-Ner (CZE)
- Peroxodisíran sodný, Sigma-Aldrich (DEU)
- Tetrahydrát vinanu sodno-draselného, Lachema (CZE)
- TROLOX, Sigma-Aldrich (DEU)
- Uhličitan sodný, Penta (CZE)

4.1.3 Použité přístroje

- Analytické váhy Pioneer PX224, Ohaus (GB)
- Autokláv mikrovlnný, Microjet, Enbio (CHE)
- Automatické pipety, HTL (ITA)

- Centrifuga Hermle z 36 HK, Hermle (DEU)
- Centifuga miniSpin, Eppendorf (DEU)
- Elektrický homogenizátor, SCG 1050BK, Sencor (JP)
- GC soustava s detektorem FID (Thermo Fischer Scientific, USA)
 - kapilární kolona Zebron ZB-FAME, délka 30 m
 - software Chromeleon 7.2
- Homogenizátor Vortex mini, Ohaus (GB)
- Homogenizátor Multi Speed Vortex, bioSan
- HPLC soustava s detektorem PDA (Thermo Fischer Scientific, (USA)
 - Dionex Ultimate Series 3000 Pump a Autosampler
 - kolona Kinetex EVO C18
 - Thermo Fischer Vanquish Detector
 - software Chromeleon 7.2
- Inkubátor 1000 topný modul, Heidolph (DEU)
- Kochův hrnec, Tescoma
- Laminární box Aura mini, Bioair (ITA)
- Lyofilizátor, FreeZone Triad, Labconco (USA)
- Předvážky Ohaus, ScoutPro (USA)
- Spektrofotometr, Helios δ , Unicam (GB)
- Spektrofotometr, UV-1600PC, Avantor (GB)
- Sušárna Binder FD 53, Verkon (CZE)
- Termostat blokový OHAUS, HB2DG
- Termostat blokový s 2 20místnými bloky, VWR
- Termostat Q – Cell
- Třepačka temperovaná Heidolph, Promax 1020 (DEU)
- Ultrazvuková lázeň, Ultrasonic compact cleaner 1,25 l, PS 02000, Powersonic
- Vodní lázeň LaboPlay
- Vortex Genie, Scientific Industries, Inc. (USA)

4.1.4 Použité materiály

- Amarant zrno, Provita (*Obrázek 3*)
- Kroupy ječné, Probio (*Obrázek 4*) *Obrázek 4 – Substrát ječné kroupy*
- Krupice kukuřičná polohrubá, Zdraví z přírody (*Obrázek 5*)
- Pohanka světlá loupaná, Provita (*Obrázek 6*)
- Pšeničné otruby jedlé, Evit (*Obrázek 7*)
- Quinoa bílá, Provita (*Obrázek 8*)
- Quinoa červená, Provita (*Obrázek 9*)

4.1.5 Použité mikroorganismy

- *Hericium erinaceus*, K 2 120 H, kultura od firmy Myco, Kyjov, ČR



Obrázek 3 – Substrát amarant



Obrázek 7 – Substrát pšeničné otruby



Obrázek 4 – Substrát ječné kroupy



Obrázek 8 – Substrát quinoa bílá



Obrázek 5 – Substrát kukuřičná krupice



Obrázek 9 – Substrát quinoa červená



Obrázek 6 – Substrát pohanka světlá

4.2 Kultivace mycelia korálovce ježatého

Pro kultivaci byla použita dvě různá média, PDA a YMEA. V případě YMEA byl na 100 ml destilované vody navážen 1 g kvasničného extraktu, 2 g maltózy a 2 g agaru. Pro PDA bylo potom na 100 ml destilované vody naváženo 3,9 g bramborového škrobu s agarem.

Baňky s médiem byly sterilovány v mikrovlnném autoklávu (100 ml po dobu 2 minut) nebo v Kochově hrnci (120 °C, 1200 W po dobu 30 minut). Takto připravené médium bylo rozlito do sterilních Petriho misek za aseptických podmínek.

Očkování médií proběhlo ve sterilním prostředí očkovacího boxu. Z misky s již narostlým myceliem korálovce ježatého byl pomocí skalpelu a očkovací kličky vyříznut a odebrán malý čtverec (o straně cca 5 mm). Tento čtverec byl umístěn na prostředek Petriho misky s novým médiem.

Po zaočkování byly Petriho misky s oběma médii přesunuty do termostatu, kde byly ponechány při teplotě 25 °C po dobu 14 dní.

4.2.1 Kultivace na šikmém agaru

Podle stejných poměrů jako v kapitole 4.2 byla připravena média YMEA a PDA. Baňky s médiem byly sterilovány v mikrovlnném autoklávu (100 ml po dobu 2 minut) nebo v Kochově hrnci (120 °C, 1200 W po dobu 30 minut).

Za aseptických podmínek byla média převedena do zkumavek. Zkumavky byly naplněny asi do 1/3 objemu, uzavřeny vatovými zátkami a uloženy v šikmé poloze. Po zatuhnutí média tak vznikly šikmé agary.

Jejich očkování proběhlo ve sterilním prostředí očkovacího boxu. Z misky s již narostlým myceliem korálovce ježatého byl pomocí očkovací kličky odebrán vzorek mycelia korálovce ježatého. Očkovací kličkou byl potom tento vzorek nanesen na povrch šikmého agaru ve tvaru vlnovky.

Po zaočkování byly šikmé agary přesunuty do termostatu, kde byly ponechány při teplotě 25 °C po dobu 14 dní.

4.2.2 Příprava substrátů

Aby bylo zajištěno co nejpříznivější prostředí pro růst mycelia korálovce ježatého, byly substráty před očkováním kulturou povařeny v destilované vodě. Tak se do substrátu dostala požadovaná vlhkost. Vždy bylo naváženo 20 g substrátu, který se po dobu 16 minut vařil ve 150 ml destilované vody. Přebytná voda byla vysušena filtračním papírem a substrát byl přes gázu promyt destilovanou vodou. Poté byl substrát opět vysušen pomocí filtračního papíru a přenesen do Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 ml. Takto připravený substrát byl po vychladnutí připravená k očkování kulturou korálovce ježatého.

Tabulka 1 – Výživové hodnoty u vybraných substrátů (uvedeny výrobcem)

Výživové hodnoty na 100 g u substrátu ječné kroupy					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1480 kJ	350 kcal	2,8 g	68 g	7,4 g	9,2 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu kukuřičná krupice					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1401 kJ	330 kcal	2,0 g	69,5 g	6,3 g	8,6 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu pohanka					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1468 kJ	346 kcal	2,0 g	68,0 g	4,2 g	12,0 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu quinoa bílá					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1490 kJ	355 kcal	5,5 g	58,0 g	6,8 g	15,0 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu quinoa červená					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1582 kJ	378 kcal	6,7 g	67 g	11,0 g	13,0 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu pšeničné otruby					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
904 kJ	216 kcal	4,2 g	64,5 g	43,0 g	15,6 g
Výživové hodnoty na 100 g u substrátu amarant					
Energie		Tuky	Sacharidy	Vláknina	Bílkoviny
1552 kJ	371 kcal	7,0 g	65,0 g	6,7 g	14,0 g

4.3 Očkování substrátů

Pro očkování substrátů byly použity dvě metody: očkování pevným myceliem a očkování pomocí kombinace pevného a tekutého mycelia. Výsledky obou metod byly porovnány a byla tak optimalizována kultivace mycelia na substrátech použitých v této práci.

4.3.1 Očkování pevným myceliem

Substráty připravené do Erlenmeyerových baněk podle kapitoly 4.2.2 byly vysterilovány v autoklávu (100 ml po dobu 2 minut) nebo v Kochově hrnci (120 °C, 1200 W po dobu 30 minut).

Následně byl za aseptických podmínek z mycelia korálovce ježatého, připraveného podle kapitoly 4.2, pomocí skalpelu a očkovací kličky vyříznut a odebrán malý čtverec (o straně cca 5 mm). Tento čtverec byl opatrně umístěn na substrát tak, aby strana porostlá myceliem byla v přímém kontaktu se substrátem. Do každé Erlenmeyerovy baňky byly rozmístěny tři takovéto čtverce.

Erlenmeyerovy baňky byly po zaočkování přesunuty do termostatu, kde byly ponechány při teplotě 25 °C po dobu 21 dnů.

4.3.2 Očkování tekutým i pevným myceliem

Na připravené šikmé agary byl ve sterilním boxu pomocí očkovací kličky převeden vzorek korálovce ježatého. Takto připravené šikmé agary byly ponechány v termostatu při teplotě 25 °C po dobu 14 dnů.

Do zkumavek, ve kterých došlo k nárůstu kultury korálovce ježatého, bylo za aseptických podmínek pomocí Pasteurovy pipety přidáno 5 ml fyziologického roztoku. Fyziologický roztok byl připraven rozpuštěním 9 g NaCl v 1 litru destilované vody.

Fyziologický roztok byl pomocí Pasteurovy pipety opatrně promíchán tak, aby se v něm rozptýlilo mycelium a poté byl, opět pomocí Pasteurovy pipety, přenesen na substrát v Erlenmeyerově baňce, připravený podle kapitoly 4.2.2. Následně byl z mycelia korálovce ježatého, připraveného podle kapitoly 4.2, pomocí skalpelu a očkovací kličky vyříznut a odebrán malý čtverec (o straně cca 5 mm). Tento čtverec byl přenesen na prostředek substrátu.

Erlenmeyerovy baňky se substrátem byly po zaočkování přesunuty do termostatu, kde byly ponechány při teplotě 25 °C po dobu 21 dnů.

4.4 Extrakce aktivních látek

Substráty musely být, před samotnými analýzami, upraveny homogenizací a pro různé analýzy rozličně předem upraveny. Součástí těchto procesů byla také příprava extraktů.

4.4.1 Homogenizace substrátů

K homogenizaci bylo naváženo 20 g obilného substrátu. Zrna byla rozemleta na hladkou mouku pomocí elektrického mlýnku. Z takto připravených substrátů byl do centrifugačních zkumavek o objemu 15 ml odvážen vždy 1 g mouky.

V případě, kdy byl homogenizován substrát porostlý myceliem korálovce ježatého, byl nejprve obsah Erlenmeyerových baněk, připravený kultivací popsané v kapitole 4.2.2, lyofilizován. Když byl lyofilizát zcela suchý, byl homogenizován v třecí misce. Nakonec byl 1 g takto zpracovaného vzorku odvážen do centrifugační zkumavky o objemu 15 ml.

4.4.2 Extrakce ve vodném prostředí

Centrifugační zkumavky s naváženým substrátem bez mycelia, připravené podle kapitoly 4.4.1 byly doplněny 10 ml destilované vody. Následně byly umístěny na třepačku (100 rpm, 37 °C) po dobu 24 hodin. Po extrakci byla směs odstředěna (5000 rpm, 4 minuty). Vzniklé extrakty byly uchovávány v chladicím boxu a dále analyzovány.

Stejně se postupovalo u substrátů, které byly porostlé myceliem korálovce ježatého.

4.4.3 Kyselá hydrolýza

Do centrifugační zkumavky o objemu 15 ml byl navážen 1 g substrátu, připraveného podle kapitoly 4.4.1. Dále bylo přidáno 10 ml 6 M HCl. Obsah zkumavky byl důkladně promíchán pomocí vortexu a zkumavky byla umístěna na třepačku (160 rpm, 37 °C) po dobu 90 minut. Po ukončení hydrolýzy byla směs odstředěna pomocí centrifugy (5000 rpm, 6 minut). Supernatant byl pomocí pipety převeden do čisté zkumavky. Extrakty byly analyzovány bezprostředně po jejich přípravě metodou podle Duboise.

4.4.4 Extrakce podle Folcha

Před analýzou pigmentů a lipofilních metabolitů pomocí HPLC byly vzorky extrahovány metodou podle Folcha. Do centrifugačních zkumavek o objemu 15 ml bylo naváženo 0,1 g vzorku, připraveného podle kapitoly 4.4.1. Ke vzorku byly přidány skleněné kuličky a 10 ml směsi rozpouštědel chloroform:methanol v poměru 2:1. Takto připravená směs byla po dobu 30 minut intenzivně promíchávána pomocí vortexu. Po promíchání byly ke směsi přidány 3 ml destilované vody, směs byla opět promíchána a následně zcentrifugována (4500 rpm, 6 minut). Následně byla spodní chloroformová fáze odpipetována a odpařena. Vzniklý odparek byl rozpuštěn ve známém množství směsi ethylacetátu a acetonitrilu. Vzorky připravené tímto způsobem pro následnou analýzu pomocí HPLC byly uchovávány při 7 °C bez přístupu světla.

4.4.5 Transesterifikace

Před analýzou mastných kyselin pomocí GC musely vzorky projít transesterifikací. Do skleněné kryptovialky o objemu 2 ml bylo vždy naváženo 50–60 mg vzorku, připraveného podle kapitoly 4.4.1. K navážce bylo přidáno 1,8 ml transesterifikační směsi. Ta obsahovala inertní standart C17 o koncentraci 0,50 g/ml. Inertní standart byl rozpuštěn v 15 % roztoku kyseliny sírové v methanolu. Po zakrytí vialky byla umístěna na termoblok (85 °C) po dobu 3 hodin. Jakmile došlo u ukončení transesterifikace, byla vialka ochlazená na laboratorní teplotu.

Do čisté skleněné vialky o objemu 4 ml bylo napipetováno 0,5 ml 0,05 M NaOH. Dále byl do této vialky kvantitativně převeden obsah původní vialky, která prošla transesterifikací.

Do směsi byl následně přidán 1 ml hexanu (HPLC kvalita). Vialka byla pomocí víčka uzavřena a umístěna na vortex po dobu 6 minut. Po důkladném promíchání došlo ve směsi k oddělení dvou fází. Horní hexanové a spodní vodné. Z horní hexanové fáze byl do čisté skleněné vialky o objemu 2 ml odpipetováno 0,1 ml. Dále bylo přidáno 0,9 ml hexanu (HPLC kvalita). Vzorky připravené tímto způsobem pro následnou analýzu pomocí GC byly uchovávány v mrazáku.

4.5 Stanovení nutričních hodnot

Pro stanovení nutričních hodnot u vybraných substrátů před a po kultivaci mycelia korálovce ježatého bylo využito spektrofotometrických metod, HPLC a GC analýzy.

4.5.1 Stanovení celkových sacharidů dle Duboise

Metodou podle Duboise byly v extraktech, připravených podle kapitoly 4.4.3, stanoveny celkové sacharidy. Do skleněné zkumavky byl napipetován 1 ml, vhodně zředěného, vzorku. K němu bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny sírové a 1 ml 5 % roztoku fenolu. Zkumavka byla opatřena šroubovacím uzávěrem a její obsah byl, pomocí vortexu, řádně promíchán. Takto připravená směs byla ponechána po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Po uplynutí této doby byla spektrofotometricky měřena absorbance vzorku při vlnové délce 490 nm proti blanku. Každý vzorek byl tímto způsobem stanoven třikrát.

Kalibrační křivka byla sestavena pomocí kalibračního standardu (roztok D-glukózy) v rozmezí 0,01–0,08 mg/ml.

Rovnice 1 – Lineární regrese kalibrační křivky pro stanovení celkových sacharidů s koeficientem R^2

$$A = 10,861 \cdot c \quad (1.1)$$

$$R^2 = 0,9979 \quad (1.2)$$

4.5.2 Stanovení bílkovin dle Hartree-Lowryho

Metodou podle Hartree-Lowryho byly ve vodných extraktech, připravených podle kapitoly 4.4.2, analyzovány ve vodě rozpustné bílkoviny. Ke stanovení byla použita následující činidla:

- *Hartree-Lowryho činidlo A*: 50 ml 1 M NaOH; 10,0 g uhličitanu sodného; 0,2 g dihydrátu vlnanu sodno-draselného. Odměrná baňka byla doplněna na 100 ml destilovanou vodou.
- *Hartree-Lowryho činidlo B*: 10 ml 1 M NaOH; 1,0 g pentahydrátu síranu měďnatého; 2,0 g vlnanu sodno-draselného. Odměrná baňka byla doplněna na 100 ml destilovanou vodou.
- *Hartree-Lowryho činidlo C*: Folin-Ciocalteuovo činidlo naředěné destilovanou vodou v poměru 1:15 (na jeden objem Folin-Ciocalteuovo činidla 15 objemů destilované vody)

Do skleněné zkumavky byl napipetován 1 ml vzorku, který byl optimálně naředěn. K němu bylo přidáno 0,9 ml Hartree-Lowryho činidla A. Obsah zkumavky byl řádně promíchán s pomocí vortexu a 10 minut inkubován ve vodní lázni při teplotě 50 °C. Po zchlazení vzorku

na laboratorní teplotu bylo do směsi přidáno 0,1 ml Hartree-Lowryho činidla B. Obsah zkumavky byl opět řádně promíchán pomocí vortexu a inkubován, tentokrát při laboratorní teplotě, po dobu 10 minut. Následně bylo do zkumavky přidáno Hartree-Lowryho činidlo C o objemu 3 ml. Roztok ve zkumavce byl opět inkubován ve vodní lázni při teplotě 50 °C po dobu 10 minut. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla spektrofotometricky změřena absorbance vzorku při vlnové délce 650 nm oproti blanku. Každý vzorek byl tímto způsobem stanoven třikrát.

Kalibrační křivka byla sestavena pomocí kalibračního standardu (krystalický BSA) v rozmezí 30–300 µg/ml.

Rovnice 2 – Lineární regrese kalibrační křivky pro stanovení bílkovin s koeficientem R²

$$A = 2,4269 \cdot c \quad (2.1)$$

$$R^2 = 0,9955 \quad (2.2)$$

4.5.3 Stanovení celkových fenolických látek

Pro stanovení celkových fenolických látek byly použity vodné extrakty, připravené podle kapitoly 4.4.2. Dále bylo použito Folin-Ciocalteuovo činidlo zředěné v poměru 1:9 destilovanou vodou.

Do skleněné zkumavky byl napipetován 1 ml destilované vody, 1 ml již zředěného Folin-Ciocalteuova činidla a 50 µl analyzovaného extraktu. Po důkladném promíchání směsi pomocí vortexu byl obsah zkumavky ponechán při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Následně byl do zkumavky přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Obsah zkumavky byl opět důkladně promíchán pomocí vortexu a ponechán při laboratorní teplotě po dobu 15 minut. Nakonec byla spektrofotometricky změřena absorbance vzorku při vlnové délce 750 nm oproti blanku. Každý vzorek byl tímto způsobem stanoven třikrát.

Kalibrační křivka byla sestavena pomocí kalibračního standardu (kyselina gallová) v rozmezí 0,10–0,70 mg/ml.

Rovnice 3 – Lineární regrese kalibrační křivky pro stanovení celkových fenolických látek s koeficientem R²

$$A = 1,5907 \cdot c \quad (3.1)$$

$$R^2 = 0,9989 \quad (3.2)$$

4.5.4 Stanovení flavonoidů

Pro stanovení flavonoidů byly použity vodné extrakty, připravené podle kapitoly 4.4.2.

Do skleněné zkumavky bylo napipetováno 0,2 ml 5 % roztoku dusitanu sodného, 1,5 ml destilované vody a 0,5 ml analyzovaného extraktu. Směs ve zkumavce byla důkladně promíchána pomocí vortexu a ponechána při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Po uplynutí této doby bylo ke směsi přidáno 0,2 ml 10 % roztoku chloridu hlinitého. Obsah zkumavky byl opět důkladně promíchán pomocí vortexu a ponechán při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Následně bylo ke směsi přidáno 1,5 ml 1 M NaOH a 1 ml destilované vody. Směs ve zkumavce byla opět důkladně promíchána pomocí vortexu a ponechána při laboratorní teplotě po dobu

15 minut. Nakonec byla spektrofotometricky změřena absorbance vzorku při vlnové délce 510 nm oproti blanku (destilovaná voda). Každý vzorek byl tímto způsobem stanoven třikrát.

Kalibrační křivka byla sestavena pomocí kalibračního standardu (ethanolový roztok katechinu) v rozmezí 0,05–0,30 mg/ml.

Rovnice 4 – Lineární regrese kalibrační křivky pro stanovení flavonoidů s koeficientem R²

$$A = 3,2648 \cdot c \quad (4.1)$$

$$R^2 = 0,9986 \quad (4.2)$$

4.5.5 Stanovení mastných kyselin pomocí GC

Před samotným stanovením mastných kyselin prošly vzorky transesterifikací, která je popsána v kapitole 4.4.5. Během transesterifikace vznikly methylestery mastných kyselin, který byly následně analyzovány na GC. Parametry analýzy jsou zaznamenány v následující *Tabulka 2*. Chromatogramy získané analýzou byly zpracovány a vyhodnoceny v programu Chromeleon™ Chromatography Data System.

Tabulka 2 – Parametry pro analýzu GC

Přístroj	Thermo Fischer TRACETM GC
Dávkování	Autosampler Thermo Scientific A1 1310
Kolona	Zebron ZB-FAME; 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm
Detektor	FID
Nosný plyn	vodík
Průtok nosného plynu	1 ml·min ⁻¹
Objem nástřiku	1 μl
t_{injektor}/t_{detektor}	250 °C/260 °C
Objemový průtok plyů	vzduch: 350 ml·min ⁻¹ ; dusík: 30 ml·min ⁻¹ ; vodík: 35 ml·min ⁻¹

4.5.6 Stanovení pigmentů a lipofilních metabolitů pomocí HPLC

Před samotným stanovením mastných kyselin prošly vzorky extrakcí podle Folcha, která je popsána v kapitole 4.4.4. Pracovalo se s duplikáty vzorků. Parametry analýzy jsou zaznamenány v následující *Tabulka 3* a *Tabulka 4*. Chromatogramy získané analýzou byly zpracovány a vyhodnoceny v programu Chromeleon™ Chromatography Data System.

Tabulka 3 – Parametry analýzy HPLC

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

Tabulka 4 – Složení mobilních fází v různých časech analýzy HPLC

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

4.5.7 Stanovení celkové antioxidační kapacity metodou TEAC

Pro stanovení antioxidační kapacity byly použity vodné extrakty, připravené podle kapitoly 4.4.2. Dále byl připraven roztok radikálového kationtu ABTS^{•+} smícháním 7 mM roztoku ABTS^{•+} s destilovanou vodou a 2,45 mM roztokem peroxidisíranu sodného. Než byl takto připravený roztok použit ke stanovení, byl ponechán po dobu nejméně 12 hodin při laboratorní teplotě v prostoru bez přístupu světla.

Než začalo samotné stanovení antioxidační kapacity, byl roztok ABTS^{•+} postupně zředěn UV-VIS ethanolem na absorbanci $0,700 \pm 0,020$ oproti blanku (UV-VIS ethanol). Do mikrozkušavek Eppendorf byl pipetován 1 ml připraveného roztoku ABTS^{•+}. K němu bylo přidáno 10 μ l vodného extraktu. Po promíchání byly vzorky ponechány po dobu 10 minut v prostoru bez přístupu světla. Poté byla změřena jejich absorbance při vlnové délce 734 nm. K měření byla použita zúžená křemenná kyveta. Pro měření hodnoty absorbance A_0 bylo do mikrozkušavky Eppendorf k 1 ml roztoku ABTS^{•+} pipetováno 10 μ l destilované vody a absorbance byla změřena okamžitě.

Kalibrační křivka byla sestavena pomocí kalibračního standardu (modelový antioxidant TROLOX v 60 % ethanolu) v rozmezí 0,05–0,40 mg/ml.

Rovnice 5 – Lineární regrese kalibrační křivky pro stanovení antioxidační aktivity s koeficientem R^2

$$A = 1,0889 \cdot c \quad (5.1)$$

$$R^2 = 0,9961 \quad (5.2)$$

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato bakalářská práce byla zaměřená na optimalizaci kultivace korálovce ježatého na obilných i pseudoobilných substrátech a následném stanovení nutričních parametrů, antioxidační kapacity a celkové biologické aktivity jednotlivých substrátů i substrátů s myceliem korálovce ježatého. Na základě získaných výsledků byla potom doporučena aplikace v oblasti výživy.

5.1 Kultivace mycelia

Pro kultivaci korálovce ježatého byly použity dvě kultivační média: PDA a YMEA. Bylo pozorováno, na kterém z médií bude probíhat intenzivnější růst mycelia.



Obrázek 10 – Porovnání kultivace mycelia na PDA a YMEA

Jak je zřetelné na *Obrázek 10*, nárůst mycelia po 14 dnech kultivace byl na obou médiích srovnatelný, i když nárůst na médiu YMEA (na misce vpravo) probíhal v prvních dnech kultivace intenzivněji. Vzhledem k tomu, že ani jedno médium se pro mycelium korálovce nejevilo jako výrazně vhodnější, byly ke kultivaci substrátů využívány obě.

5.2 Kultivace mycelia na zvolených substrátech

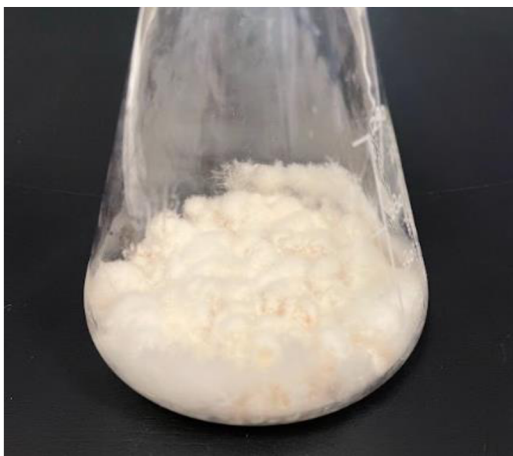
Kultivace probíhala na sedmi zvolených substrátech: amarant, ječné kroupy, kukuřičné krupice, pohanka, pšeničné otruby, bílá quinoa a červená quinoa. Substráty byly všechny připraveny stejnou metodou, jak je popsáno v *kapitole 4.4.2*.

Při očkování pevným myceliem narostlo mycelium korálovce ježatého za podmínek uvedených v *kapitole 4.3.1*. úspěšně po uplynutí doby 21 dnů na většině substrátů. Nejlépe se dařilo myceliu na ječných kroupách (*Obrázek 11*), kukuřičné krupici (*Obrázek 12*), červené quinoe (*Obrázek 13*) a na pšeničných otrubách (*Obrázek 14*). Ve všech těchto případech porostl substrát hustým bílým myceliem.

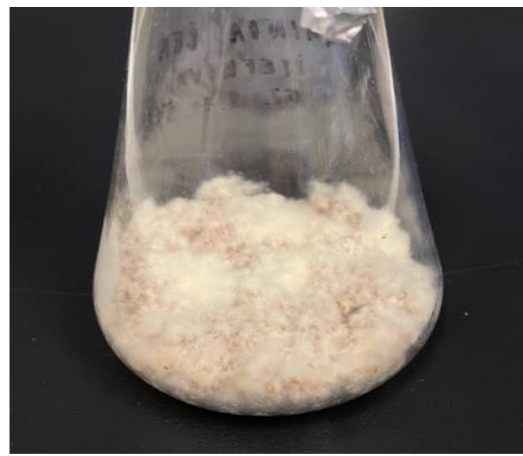
Substráty, na kterých se mycelium korálovce ježatého neuchytilo, a po uplynutí doby 21 dnů nedošlo k jeho nárůstu byly amarant (*Obrázek 15*) a bílá quinoa (*Obrázek 16*). Zajímavé přitom je, že se myceliu na bílé quinoe během prvních dnů kultivace dařilo, ale již po prvním

týdnu zhnědlo a odumřelo. Vysvětlením, proč na červené odrůdě quinoj mycelium korálovce ježatého narostlo, ale na bílé odrůdě ne by mohl být rozdílný obsah rozpustného proteinu v obou odrůdách. V nedávných studiích se ukázalo, že quinoa s tmavší barvou semene je nutričně kvalitnější [57][58]. Vykazuje také vyšší klíčivost, což je pro kultivaci klíčové, protože čím více jsou semena naklíčena, tím má rostoucí mycelium jednodušší přístup k živinám [59]. V situaci, kdy sloužil amarant jako substrát je překvapivé, že mycelium nenarostlo, protože co se nutričních vlastností týká, má všechny předpoklady pro to, aby se na něm korálovci ježatému dařilo. Existuje ale studie, která uvádí, že amarantová zrna ve srovnání s jinými obilovinami jako např. kukuřice nejsou dobrým substrátem pro růst plísní [60]. Pro zlepšení výtěžnosti mycelia by se tedy mohla místo zrn využít amarantová mouka [61].

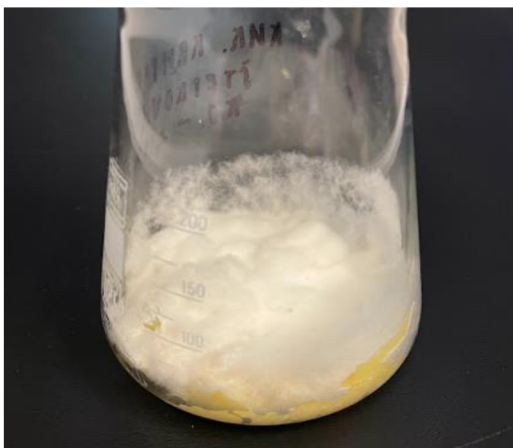
V případě, kdy bylo využito pohanky jako substrátu (*Obrázek 17*) sice mycelium korálovce ježatého narostlo, ne však po celé ploše substrátu.



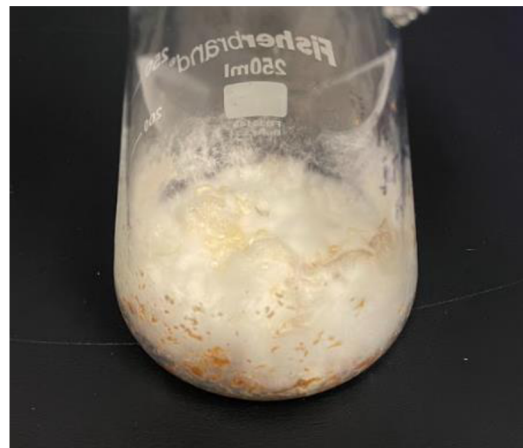
Obrázek 11 – Ječné kroupy s myceliem



Obrázek 13 – Quinoa červená s myceliem



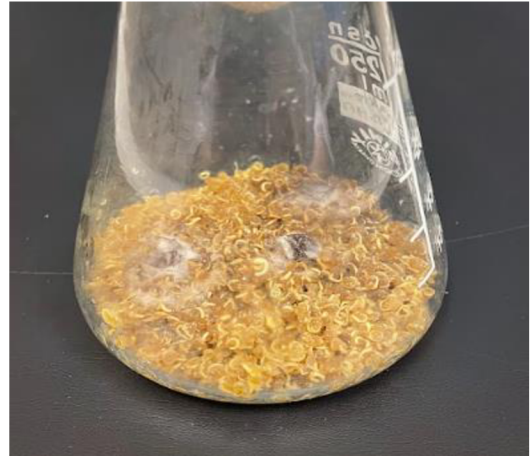
Obrázek 12 – Kukuřičná krupice s myceliem



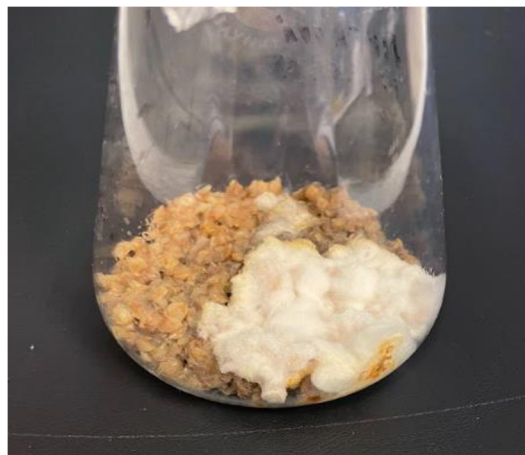
Obrázek 14 – Pšeničné otruby s myceliem



Obrázek 15 – Amaranth s myceliem

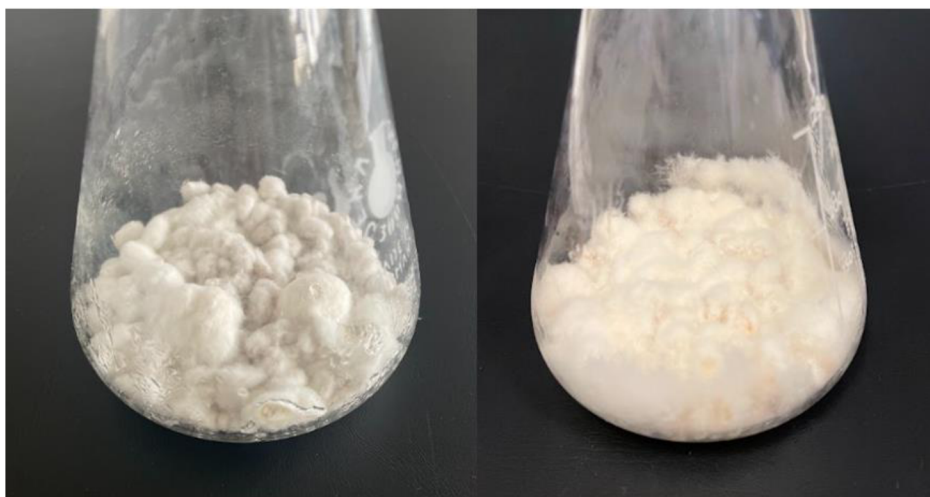


Obrázek 16 – Quinoa bílá s myceliem



Obrázek 17 – Pohanka s myceliem

Při očkování kombinací tekutého a pevného mycelia, jak bylo popsáno v kapitole 4.3.2 byla v Erlenmeyerových baňkách přílišná vlhkost a mycelium úspěšně vyrostlo pouze na jednom ze sedmi substrátů, na ječných kroupách. Přesto byl nárůst mycelia v porovnání s metodou očkování pevným myceliem nedostatečný, jak je vidět na *Obrázek 18*. Tato metoda očkování byla tedy vyhodnocena jako nevhodující pro kultivaci korálovce ježatého.



Obrázek 18 – Srovnání výsledků kultivace korálovce ježatého na ječných kroupách metodou očkování kombinací tekutého a pevného mycelia (vlevo) a pouze pevným myceliem (vpravo)

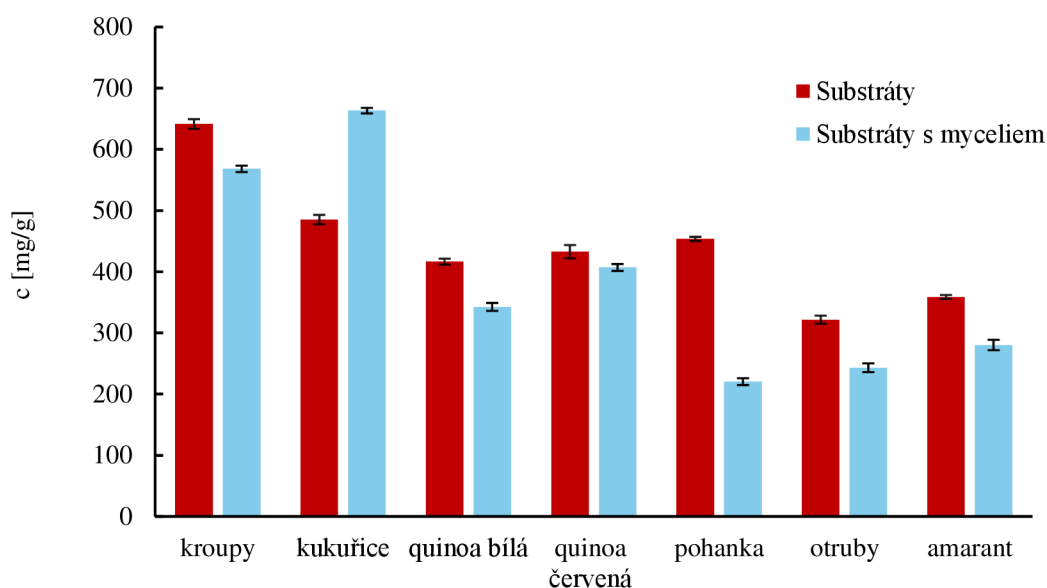
5.3 Spektrofotometrická stanovení aktivních látek

Nejprve byly charakterizovány jednotlivé obilné i pseudoobilné substráty, které byly zvoleny pro kultivaci korálovce ježatého. Poté byly charakterizovány tytéž substráty s narostlým myceliem korálovce ježatého a výsledky obou měření byly porovnány.

5.3.1 Stanovení celkových sacharidů podle Duboise

Obsah celkových sacharidů v jednotlivých vzorcích obilných a pseudoobilných muk byl stanoven pomocí metody dle Duboise, jak je popsáno v kapitole 4.5.1. Dále byl celkový obsah sacharidů stanoven u vzorků obilnin a pseudoobilnin porostlých myceliem korálovce ježatého. Spektrofotometricky byla měřena intenzita vzniklého oranžového zabarvení v roztocích jednotlivých vzorků.

Kalibrační závislost, získaná z kalibrační křivky je popsána v Rovnice 1. Do ní byly dosazovány hodnoty naměřených absorbancí. Získané hodnoty celkových sacharidů u jednotlivých substrátů jsou uvedeny na Obrázek 19, kde jsou také porovnány s hodnotami substrátů porostlých myceliem.



Obrázek 19 – Graf koncentrací celkových sacharidů v analyzovaných substrátech a substrátech s myceliem

Polysacharidy tvoří v obilných i pseudoobilných zrnech většinu jejich složení, a to v podobě škrobu a vlákniny. U obilných zrn se jedná až o 70–80 % suché hmotnosti. U pseudocereálií se hodnoty pohybují mezi 60-80 % v závislosti na konkrétním zrně a odrůdě [24].

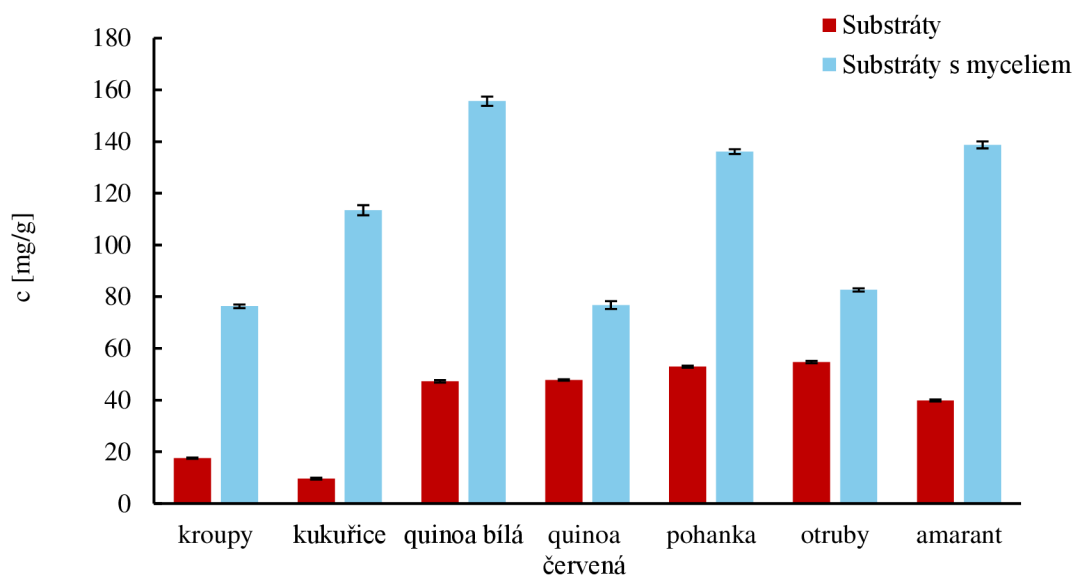
Při stanovení samotných substrátů byly naměřené hodnoty ve srovnání s hodnotami uvedenými výrobcem ve všech případech o něco nižší. Například u ječných krup uvádí výrobce 68 g sacharidů na 100 g výrobku a naměřená hodnota byla asi 64 g sacharidů na 100 g výrobku. U pohanky je tento rozdíl výraznější, výrobce uvádí 68 g sacharidů na 100 g výrobku a naměřená hodnota byla asi 45 g sacharidů na 100 g výrobku. Nejvíce sacharidů před kultivací obsahovaly ječné kroupy ($641,44 \pm 7,90$ mg/g mouky) a nejméně naopak pšeničné otruby ($321,64 \pm 6,57$ mg/g mouky) což odpovídá nutričním hodnotám uvedeným v *Tabulka 1*.

U všech použitých substrátů, až na kukuřičnou krupici, byla koncentrace sacharidů při měření extraktů s myceliem nižší, což je způsobeno tím, že korálovec ježatý v průběhu kultivace spotřebovává sacharidy přítomné v substrátu a využívá je jako zdroj energie pro růst a metabolismus [9]. V případě, kdy byla jako substrát využita kukuřičná krupice došlo po kultivaci k nárůstu celkových sacharidů. Mycelium, které sacharidy ze substrátů zutilizuje, obsahuje ve své struktuře polysacharidy [62]. Jelikož na kukuřičné krupici byl zaznamenán opravdu hustý nárůst mycelia, je možné, že se při měření projeví právě polysacharidy ze samotného mycelia korálovce ježatého.

5.3.2 Stanovení bílkovin dle Hartree-Lowryho

Obsah bílkovin v jednotlivých vzorcích obilných a pseudoobilných muk byl stanoven pomocí metody dle Hartree-Lowryho, jak je popsáno v kapitole 4.5.2. Dále byl obsah ve vodě rozpustných bílkovin stanoven u vzorků obilnin a pseudoobilnin porostlých myceliem korálovce ježatého. Spektrofotometricky byla měřena intenzita vzniklého modrého zabarvení v roztocích jednotlivých vzorků.

Kalibrační závislost, získaná z kalibrační křivky je popsána v *Rovnice 2*. Do ní byly dosazovány hodnoty naměřených absorbancí. Získané hodnoty bílkovin u jednotlivých substrátů jsou uvedeny na *Obrázek 20*, kde jsou také porovnány s hodnotami bílkovin u substrátů porostlých myceliem.



Obrázek 20 – Graf koncentrací bílkovin v analyzovaných substrátech a substrátech s myceliem

Při stanovení samotných substrátů byly naměřené hodnoty ve srovnání s hodnotami uvedenými výrobcem ve všech případech vyšší, přestože byly měřeny pouze ve vodě rozpustné bílkoviny. Například u ječných krup uvádí výrobce 9,2 g bílkovin na 100 g výrobku a naměřená hodnota byla asi 17,5 g bílkovin na 100 g výrobku. Ze všech substrátů byla naměřena nejvyšší hodnota u pšeničných otrub ($54,75 \pm 0,44$ mg/g mouky) a nejnižší u kukuřičné krupice ($9,64 \pm 0,35$ mg/g mouky).

Celkové množství ve vodě rozpustných bílkovin se zvýšilo u všech zkoumaných vzorků po kultivaci korálovce ježatého. U některých substrátů, například u pšeničných otrub byl nárůst menší, asi o 50 %. U jiných, například u kukuřičné krupice narostl obsah proteinů více než desetkrát (z $9,64 \pm 0,35$ mg/g na $113,45 \pm 1,95$ mg/g). V tomto nárůstu se projevují bílkoviny, které obsahuje samotné mycelium korálovce ježatého, čímž by se vysvětlilo například značné navýšení hodnoty proteinu u vzorku s kukuřicí, protože na tomto vzorku byl zaznamenán opravdu značný nárůst mycelia. Zároveň mycelium korálovce ježatého vylučuje enzymy, které mohou rozkládat složité bílkoviny na menší, ve vodě rozpustné, proteiny.

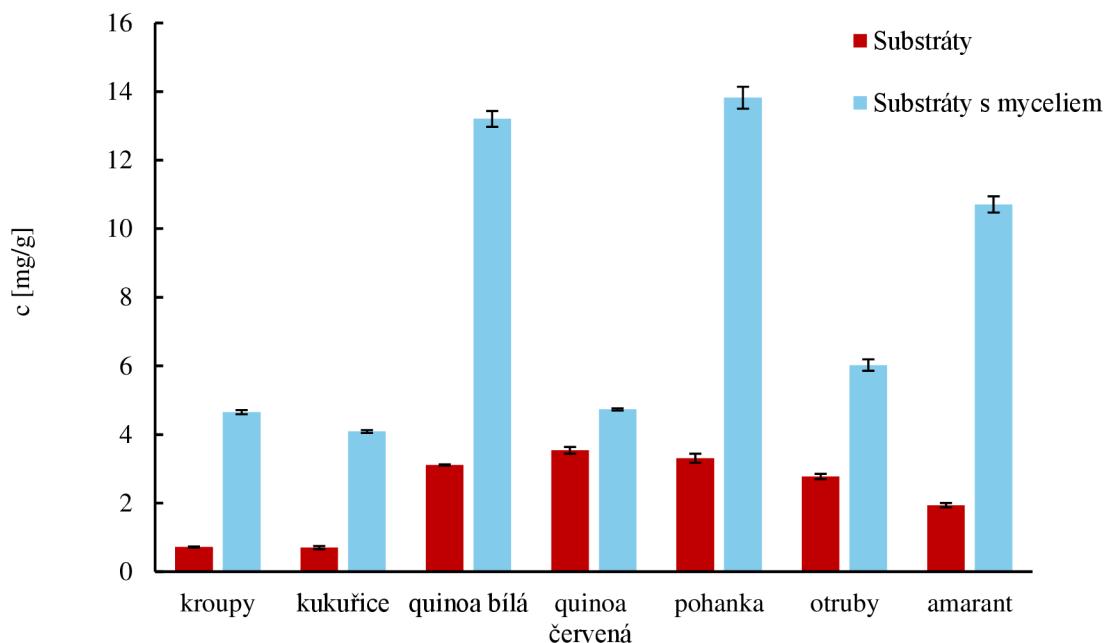
Nápadný je vysoký nárůst ve vodě rozpustných proteinů u bílé quinoj, u které byla naměřená hodnota po kultivaci nejvyšší ($155,62 \pm 1,80$ mg/g) oproti nárůstu u červené quinoj. Rozdíl může být způsobeno silnějšími rozkladnými procesy u bílé quinoj, při kterých dochází k hydrolýze proteinů a je tedy zvýšena jejich rozpustnost ve vodě [63].

5.3.3 Stanovení celkových fenolických látek

Obsah celkových fenolických látek v jednotlivých vzorcích obilných a pseudoobilných muk byl stanoven podle návodu v kapitole 4.5.3. Dále byl celkový obsah fenolických látek stanoven

u vzorků obilnin a pseudoobilnin porostlých myceliem korálovce ježatého. Spektroforometricky byla měřena intenzita vzniklého zabarvení v roztocích jednotlivých vzorků.

Kalibrační závislost, získaná z kalibrační křivky je popsána v *Rovnice 3*. Do ní byly dosazovány hodnoty naměřených absorbancí. Získané hodnoty celkových fenolických látek u jednotlivých substrátů jsou uvedeny na *Obrázek 21*, kde jsou také porovnány s hodnotami substrátů porostlých myceliem.



Obrázek 21 – Graf koncentrací celkových fenolických látek v analyzovaných substrátech a substrátech s myceliem

Při stanovení samotných substrátů byla nevyšší naměřená hodnota fenolických látek u červené quinoj ($3,54 \pm 0,01$ mg/g) a pohanky ($3,31 \pm 0,13$ mg/g). Nejnižší hodnotu fenolických látek naopak vykazovaly ječné kroupy ($0,72 \pm 0,02$ mg/g) a kukuřičná krupice ($0,70 \pm 0,05$ mg/g).

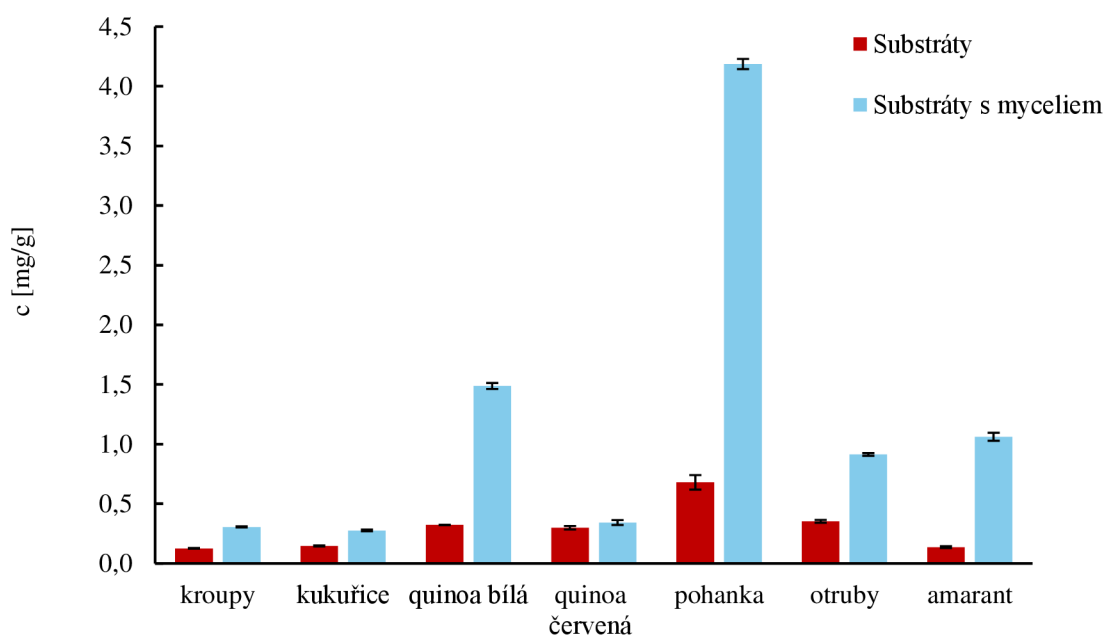
Celkové množství fenolických látek se po kultivaci mycelia korálovce ježatého výrazně navýšilo u všech použitých substrátů. Ve většině případů byl nárůst více než pětinasobný, což je způsobeno velkým množstvím polyfenolů v myceliu korálovce ježatého, které obsahuje až 23,26 mg fenolických látek na 1 g sušiny [64][65]. Kultivace korálovce na substrátech pomohla k uvolnění fenolických látek z matrice substrátů, což se také projevilo v navýšení hodnot. Nejvyšší obsah, u substrátu s myceliem, byl naměřen u pohanky ($13,82 \pm 0,32$ mg/g vzorku). Velmi vysokou hodnotu vykazoval také vzorek bílé quinoj ($13,20 \pm 0,23$ mg/g vzorku), což je zajímavé, protože samotná červená quinoa ($3,54 \pm 0,01$ mg/g mouky) vykazovala více fenolických látek než bílá. ($3,11 \pm 0,02$ mg/g mouky). To potvrzuje i literatura [58].

Existují ale také studie, které prokazují zvýšení koncentrace fenolických látek při tepelné úpravě [66]. Je tedy možné, že se jejich obsah ve vzorcích zvýšil při autoklávování.

5.3.4 Stanovení celkových flavonoidů

Obsah celkových flavonoidů v jednotlivých vzorcích obilných a pseudoobilných muk byl stanoven podle návodu v kapitole 4.5.4. Dále byl celkový obsah flavonoidů stanoven u vzorků obilnin a pseudoobilnin porostlých myceliem korálovce ježatého. Spektroforometricky byla měřena intenzita vzniklého zabarvení v roztocích jednotlivých vzorků.

Kalibrační závislost, získaná z kalibrační křivky je popsána v Rovnice 4. Do ní byly dosazovány hodnoty naměřených absorbancí. Získané hodnoty celkových flavonoidů u jednotlivých substrátů jsou uvedeny na Obrázek 22, kde jsou také porovnány s hodnotami substrátů porostlých myceliem.



Obrázek 22 – Graf koncentrací celkových flavonoidů v analyzovaných substrátech a substrátech s myceliem

Při stanovení samotných substrátů byla nevyšší naměřená hodnota flavonoidů u pohanky ($0,68 \pm 0,06$ mg/g). Nejnižší hodnotu fenolických látek naopak vykazovaly ječné kroupy ($0,13 \pm 0,00$ mg/g) a amarant ($0,14 \pm 0,01$ mg/g).

Ačkoliv u všech substrátů po kultivaci s myceliem došlo k nárůstu celkového množství flavonoidů, u některých vzorků byla hodnota zvýšena razantněji. Přitom korálovec ježatý obsahuje až 3,26 mg flavonoidů na 1 g sušiny [65]. V případě ječných krup a kukuřičné krupice se zvýšil obsah flavonoidů zhruba dvakrát. U červené quinoxy to bylo pouze o 15 %. Výrazněji se zvýšila hodnota celkových flavonoidů u těch vzorků, na kterých se mycelium neuchytilo.

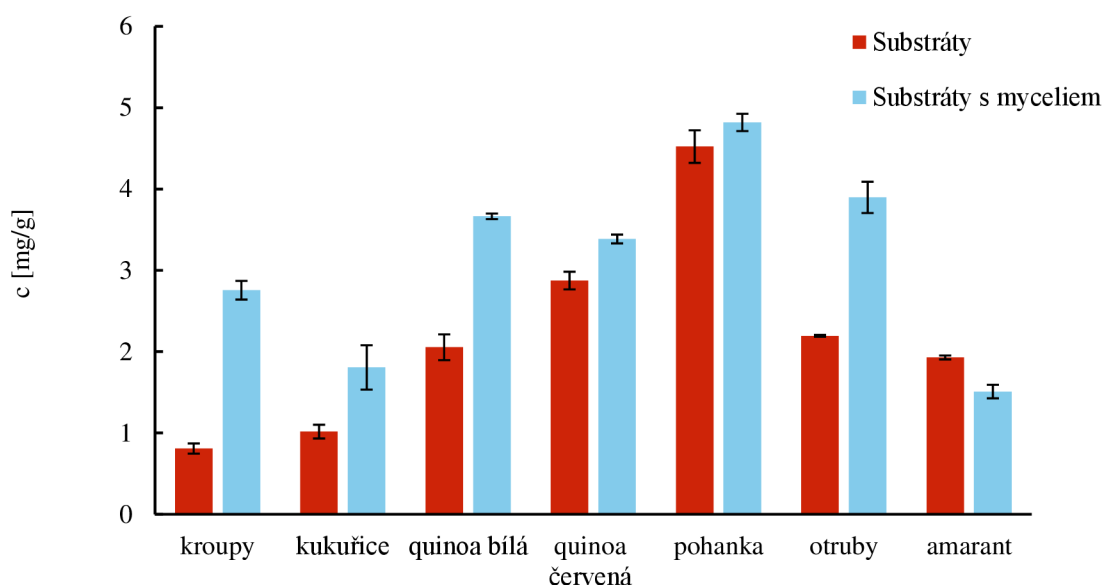
Zásadní vliv na množství flavonoidů v extraktech má jednak extrakční činidlo. V našem případě bylo použito vodných extraktů, ale ethanolové extrakty vykazují vyšší obsah fenolických látek [65].

5.3.5 Stanovení celkové antioxidační kapacity

Obsah celkové antioxidační kapacity v jednotlivých vzorcích obilných a pseudoobilných muk byl stanoven pomocí metody TEAC, jak je popsáno v kapitole 4.5.7. Dále byl obsah celkové

antioxidační kapacity stanoven u vzorků obilnin a pseudoobilnin porostlých myceliem korálovce ježatého. Spektrofotometricky byla měřena intenzita vzniklého zabarvení v roztocích jednotlivých vzorků.

Kalibrační závislost, získaná z kalibrační křivky je popsána v *Rovnice 5*. Do ní byly dosazovány hodnoty naměřených absorbancí. Získané hodnoty celkové antioxidační kapacity u jednotlivých substrátů jsou uvedeny na *Obrázek 23*, kde jsou také porovnány s hodnotami substrátů porostlých myceliem.



Obrázek 23 – Graf koncentrací celkové antioxidační kapacity v analyzovaných substrátech a substrátech s myceliem

Při stanovení samotných substrátů byla nevyšší naměřená hodnota antioxidační kapacity u pohanky ($4,52 \pm 0,20$ mg/g). Nejnížší hodnotu antioxidační kapacity naopak vykazovaly vzorky ječných krup ($0,81 \pm 0,06$ mg/g) a kukuřičné krupice ($1,02 \pm 0,08$ mg/g).

Na grafu je vidět zvýšení antioxidační kapacity u všech obilných i pseudoobilných substrátů až na amarant. Korálovec ježatý produkuje mnohé sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi jako fenolické sloučeniny, flavonoidy nebo i některé polysacharidy [67]. Samotná přítomnost mycelia korálovce ježatého na substrátech cereálií a pseudocereálií může přitom také stimulovat aktivaci jejich antioxidačních drah [68]. Bylo také popsáno, že korálovec ježatý má schopnost snižovat oxidační stres a tato schopnost může, díky zachování antioxidačních sloučenin, zvyšovat antioxidační kapacitu substrátu [69].

K největšímu nárůstu antioxidační kapacity v porovnání se stavem před kultivací mycelia korálovce ježatého došlo u substrátu ječné kroupy, kde se antioxidační kapacita navýšila z $0,81 \pm 0,06$ mg/g na $2,76 \pm 0,11$ mg/g, tedy více než třikrát.

Naopak u vzorku amarantu nedošlo ke zvýšení hodnoty celkové antioxidační aktivity, ale naopak k jejímu mírnému snížení z $1,93 \pm 0,02$ mg/g na $1,51 \pm 0,08$ mg/g. Přitom amarant patřil k substrátům, na kterých kultivace mycelia korálovce ježatého neproběhla úspěšně. Přítomto procesu mohlo tedy dojít k degradaci některých sloučenin a tím pádem ke snížení celkové antioxidační aktivity. Samotný amarant je pseudocereálie s velmi vysokou hodnotou

antioxidační aktivity [70]. Naopak samotné ječné kroupy tak významnou antioxidační aktivitu neukazují, ale po nárůstu mycelia korálovce ježatého se v tomto ohledu s přehledem vyrovnají i, na antioxidanty bohatým, pseudocereáliím jako právě amarant.

5.4 Stanovení mastných kyselin pomocí GC

Obsah lipidů a jednotlivých mastných kyselin byl stanoven ve vzorcích vybraných obilných a pseudoobilných substrátů a stejných substrátů s myceliem korálovce ježatého, jak je popsáno v kapitole 4.5.5. Výsledky měření jsou uvedeny v *Tabulka 5* a v *Tabulka 6*.

Tabulka 5– Hodnoty mastných kyselin v substrátech bez mycelia

Vzorek	Obsah lipidů [g/100 g]	Zastoupení typů MK [%]		
		SFA	MUFA	PUFA
Ječné kroupy	2,25	27,95	8,76	63,31
Kukuřičná krupice	3,41	17,78	21,18	61,06
Quinoa bílá	5,50	9,89	27,52	62,6
Quinoa červená	6,72	10,82	29,96	59,23
Pohanka	2,93	15,72	41,39	42,9
Pšeničné otruby	6,54	18,11	15,79	66,11
Amarant	7,43	22,43	28,5	49,09

Jak je uvedeno v *Tabulka 5*, která zobrazuje hodnoty lipidů a mastných kyselin ve vzorcích substrátů bez mycelia korálovce ježatého, nejvyšší obsah lipidů vykazovaly vzorky amarantu ($7,43 \pm 0,10$ g/100 g) červené quinoi ($6,72 \pm 0,28$ g/100 g) a pšeničných otrub ($6,54 \pm 0,26$ g/100 g). Při porovnání s nutričními hodnotami, které byly uvedeny výrobcem (uvedeny v *Tabulka 1*) hodnoty u amarantu (výrobce uvádí 7 g) a červené quinoi (výrobce uvádí 6,7 g) odpovídají, u pšeničných otrub (výrobce uvádí 4,2 g) byla ale naměřena výrazně nižší hodnota. U bílé quinoi naměřená hodnota ($5,50 \pm 0,04$ g/100 g) hodnotě uvedené výrobcem (5,5 g) odpovídá ideálně, podobně tomu je v případě ječných krup ($2,25 \pm 0,26$ g/100 g, výrobce uvádí 2,8 g). U kukuřičné krupice ($3,41 \pm 0,26$ g/100 g, výrobce uvádí 2 g) a pohanky ($2,93 \pm 0,26$ g/100 g, výrobce uvádí 2 g) byly ale naměřeny o něco vyšší hodnoty, než je uvedeno na obalu výrobku.

Tabulka 6 – Hodnoty mastných kyselin v substrátech s myceliem

Vzorek	Obsah lipidů [g/100 g]	Zastoupení typů MK [%]		
		SFA	MUFA	PUFA
Ječné kroupy	2,90	23,34	14,84	55,83
Kukuřičná krupice	4,15	16,85	22,17	60,98
Quinoa bílá	12,48	9,14	29,16	61,71
Quinoa červená	6,00	9,18	43,04	47,79
Pohanka	7,72	17,69	45,33	36,98
Pšeničné otruby	7,69	17,84	19,15	63,03
Amarant	12,50	22,98	29,89	47,13

V *Tabulka 6* jsou uvedené hodnoty celkových lipidů a mastných kyselin u vzorků substrátu po kultivaci mycelia korálovce ježatého. Při porovnání hodnot s těmi v *Tabulka 5* je zřejmé, že se u všech použitých substrátů, s výjimkou červené quinoi, mírně zvýšila hodnota celkových lipidů. V porovnání s množstvím bílkovin nebo sacharidů je obsah lipidů v korálovci ježatém nízký [71], proto nejsou rozdíly mezi hodnotami celkových lipidů v substrátech a v substrátech s myceliem tolik výrazné (například u ječných krup bez mycelia 2,25 g/100 g, s myceliem 2,90 g/100 g).

Co se jednotlivých typů mastných kyselin týče, byly porovnávány nasycené mastné kyseliny (SFA), mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA). U všech substrátů s myceliem, s výjimkou červené quinoi, převažovaly polynenasycené mastné kyseliny s procentuálním podílem 47 až 63 %, ty mají přitom velmi příznivý vliv lidské zdraví [72]. V případě červené quinoi se potom jednalo o mononenasyčené mastné kyseliny, které tvořily asi 43 %.

Literatury uvádí, že plodnice korálovce ježatého obsahují $47,57 \pm 1,47$ g/100 g SFA, $26,80 \pm 1,19$ g/100 g MUFA a $25,63 \pm 0,28$ g/100 g PUFA (v sušině) [73]. Jak je ale jasné z *Tabulka 5*, samotné obilné a pseudoobilné substráty obsahují velké množství PUFA, což ovlivnilo i konečný poměr mastných kyselin.

5.5 Stanovení pigmentů a lipofilních metabolitů pomocí HPLC

Obsah pigmentů, karotenoidů a chlorofylů, a lipofilních metabolitů byl stanoven ve vzorcích vybraných obilných a pseudoobilných substrátů a stejných substrátů s myceliem korálovce ježatého, jak je popsáno v kapitole 4.5.6. Výsledky měření jsou uvedeny v *Tabulka 7* a v *Tabulka 8*.

Tabulka 7 – Hodnoty stanovených pigmentů a lipofilních metabolitů u vzorků substrátů bez mycelia

Vzorek	Ergosterol [μg/g]	Ubichinon [μg/g]	Lutein [μg/g]	Torulen [μg/g]	Tokoferol [μg/g]
Ječné kroupy	7,678	25,52	0,364	-	-
Kukuřičná krupice	-	19,554	8,236	18,518	-
Quinoa bílá	63,253	-	0,460	-	48,516
Quinoa červená	-	150,922	1,235	18,553	48,720
Pohanka	12,210	48,658	0,286	-	24,854
Pšeničné otruby	145,407	85,281	0,352	-	69,173
Amarant	10,768	110,58	0,045	18,205	-

U všech měřených vzorků cereálií a pseudocereálií byl detekován lutein, typ kartotenoidu se silnou antioxidační kapacitou. Lutein, podle literatury, je v obilovinách a mnohých pseudoobilninách přirozeně přítomen [74]. Výrazně nejvyšší obsah luteinu přítom vykazoval vzorek kukuřičné krupice (18,518 μg/g), jelikož v kukuřici se obecně různé typy karotenoidů objevují ve větším množství než v jiných obilninách [75]. Torulen, taktéž karotenoid, který je produkován především mikroorganismy, ale ve stopovém množství se může objevit i u obilnin [76]. Detekován byl v relativně vysokém množství (nad 18,0 μg/g) ve vzorku kukuřičné krupice a amarantu. Ergosterol, steroidní sloučenina taktéž produkována mikroorganismy, byl detekován u všech vzorků substrátů s výjimkou kukuřičné krupice a červené quino. Je tedy velmi pravděpodobné, že přítomnost ergosterolu ve vzorcích je způsobena přirozenou kontaminací obilnin a pseudoobilnin plísněmi, případně kontaminací ve výrobě [77]. Výrazně největší množství ergosterolu bylo zjištěno ve vzorku pšeničných otrub (145,407 μg/g). Kromě vzorku bílé quino byl ve všech substrátech přítomný ubichinon, neboli koenzym Q10, ten se obvykle významně neobjevuje u vzorků obilnin ve významném množství, ale u měřených pseudocereálií se projevil výrazněji [78]. Nejvyšší hodnota ubichinonu byla naměřena u quino červené (150,992 μg/g) [79]. Dále byl ve vzorcích detekován tokoferol (vitamín E), který se v obilných a pseudoobilných zrnech přirozeně vyskytuje. Amarant, quinoa a pohanka obecně platí za dobré zdroje vitamínu E. Literatura uvádí tato množství tokoferolu: pro quinou 24,7 μg/g, pro amarant 15,4 μg/g a pro pohanku 6,3 μg/g [80]. Naměřené hodnoty jsou ale výrazně vyšší: pro bílou quinou 48,516 μg/g, pro červenou quinou 48,720 μg/g a pro pohanku 24,854 μg/g. U vzorku amarantu vůbec nebyl tokoferol detekován. To mohla zavinit vysoká citlivost tokoferolu na teplo a světlo. Mohlo dojít k nedokonalé extrakci vlivem vnějších podmínek. Naopak u pšeničných otrub se nacházel tokoferol v relativně vysokém množství 69,173 μg/g. Ostatní pigmenty a lipofilní metabolity byly ve vzorcích buď přítomny v zanedbatelném množství nebo nebyly vůbec detekovány, a proto nebyly uvedeny v *Tabulka 7* a v *Tabulka 8*.

Tabulka 8 – Hodnoty stanovených pigmentů a lipofilních metabolitů u vzorků substrátů s myceliem

Vzorek	Ergosterol [µg/g]	Ubichinon [µg/g]	Lutein [µg/g]	Torulen [µg/g]	Tokoferol [µg/g]
Ječné kroupy	506,453	212,723	0,064	-	94,182
Kukuřičná krupice	302,384	104,628	3,422	18,454	-
Quinoa bílá	27,373	-	0,584	-	341,486
Quinoa červená	460,800	328,433	0,204	18,610	104,248
Pohanka	347,284	803,723	0,678	-	94,356
Pšeničné otruby	527,388	535,069	0,238	-	121,256
Amarant	57,759	280,134	0,040	18,292	-

V *Tabulka 8* je vidět velmi nápadné zvýšení množství ergosterolu ve vzorcích po kultivaci mycelia ježatého. Ergosterol je hlavní sterolovou složkou většiny hub [77]. Zvýšená hodnota u zkoumaných vzorků tedy odpovídá předpokladům. Zároveň u vzorků, na kterých mycelium korálovce ježatého zdárně nenarostlo, tedy na amarantu a bílé quinoe, bylo detekováno nápadně nižší množství ergosterolu než u vzorků ostatních. Podobně jako ergosterol, také ubichinon je přítomný v myceliu korálovce ježatého. Jedná se o koenzym dýchacího řetězce a je tedy pro houbu nezbytný pro produkci energie [81]. Proto také u všech vzorků, s výjimkou bílé quinoe, došlo k výraznému navýšení množství ubichinonu po kultivaci mycelia korálovce ježatého. Nejvíce ubichinonu bylo přítom stanoveno ve vzorku pohanky (803,723 µg/g). Lutein se vyskytoval v samotných substrátech. Není ovšem obsažen v myceliu korálovce ježatého. Proto se také hodnoty v *Tabulka 7* ve srovnání s hodnotami v *Tabulka 8* prakticky neproměnily. Stejně hodnoty před a po kultivaci korálovce ježatého zůstaly také v případě torulenu. Jedná se o kartenoid syntetizovaný kvasinkami a houbami [82]. Produkce závisí ale nejen na druhu houby, ale také na podmínkách růstu. Za podmínek kultivace, se kterými tato práce pracuje, se produkce torulenu nepotvrdila. Naopak množství tokoferolu, tedy vitamínu E, se ve vzorcích po kultivaci výrazně navýšilo.

5.6 Aplikace korálovce ježatého v potravinářském průmyslu

Naším měřením bylo prokázáno, že použité substráty po kultivaci s korálovcem ježatým vykazovaly zlepšené a zajímavější nutriční hodnoty. Vzhledem k tomu, že jako některé substráty byly zvoleny i bezpečkové pseudoobilniny, mohly by pomocí korálovce ježatého být nutričně vylepšeny i bezpečkové produkty, které bývají nutričně málo zajímavé.

Z provedených analýz vyplývá, že korálovec ježatý představuje potenciál pro potravinářský průmysl díky svým výživovým a terapeutickým vlastnostem. Jedná se o silně bioaktivní houbu s vysokou antioxidační kapacitou. Produkuje také celou řadu bioaktivních metabolitů. V rámci této práce byl zkoumán např. ergosterol nebo ubichinon. Nabízí se tedy jeho využití k obohacení různých potravinářských výrobků, jako funkční potravina nebo jako nutraceutikum, tedy potravina, která poskytuje lékařské nebo zdravotní výhody [83].

Začlenění korálovce ježatého do potravin může probíhat také ve formě houbového extraktu, houbového prášku (z houbové sušiny) nebo např. houbové pasty. Důležité je ale připomenout,

že samotné zpracování a přítomnost jiných složek v potravinách může ovlivnit bioaktivní účinky korálovce ježatého [84].

Jelikož jsou houby bohaté na vlákninu, existují vize, že by mohly v budoucnosti nahradit nejběžnější obilné mouky [85]. Obohacením pseudoobilných muk o korálovce ježatého by tedy mohla vzniknout náhražka současných obilných muk s násobně lepšími výživovými vlastnostmi. Existují také studie, které prokazují, že přídavek houbového mycelia do pšeničné mouky neovlivnil nepříznivě strukturu ani sensorické vlastnosti chleba [85].

Využití v potravinářském průmyslu najdou také, často silně bioaktivní, polysacharidy korálovce ježatého. V současné době jsou již dostupné jako nutraceutika, ale některé studie se zabývají začleněním polysacharidů produkovaných houbami do potravin, které obsahují obiloviny (např. chléb, těstoviny, koláče) [86]. Podobně by se daly extrakty z korálovce ježatého přidávat do čajů, müsli nebo proteinových tyčinek nebo kaší.

Jelikož jsou v současnosti houby konzumovány především v přirozené formě nebo ve formě doplňku stravy, není jejich aplikace jako funkční potraviny zatím řádně prozkoumána [84]. Ačkoliv je korálovec ježatý z hlediska požitelnosti netoxický, bude u budoucích funkčních potravin s jeho přídavkem nutné provést antimikrobiální testy a testy cytotoxicity.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce měla za cíl charakterizovat korálovce ježatého jako producenta bioaktivních látek. V teoretické části byly popsány sekundární metabolity korálovce ježatého, které jsou zodpovědné za jeho biologicky aktivní a antioxidační účinky.

V experimentální části práce bylo nejprve kultivováno mycelium korálovce ježatého na vybraných obilných a pseudoobilných substrátech, tedy na ječných kroupách, kukuřičné krupici, bílé a červené quinoe, pohance, pšeničných otrubách a amarantu. Kultivace probíhala nejefektivněji po zaočkování pevným myceliem. Očkování kombinací pevného a tekutého mycelia bylo vyhodnoceno jako nevhodné pro kultivaci ve zvolených podmínkách.

Na substrátech ječné kroupy, kukuřičná krupice, červené quinoa a pšeničné otruby došlo k úspěšné kultivaci hustého bílého mycelia korálovce ježatého, zatímco u substrátu pohanka mycelium korálovce ježatého také narostlo, nebylo ovšem tak silné jako v předchozích případech. Výsledky ale naznačují, že všechny tyto substráty poskytují vhodné prostředí pro růst a vývoj houby. Na substrátech bílá quinoa a amarant se potom mycelium vůbec neuchytilo.

Dále byly u jednotlivých substrátů a u substrátů s myceliem korálovce ježatého stanoveny nutriční parametry a antioxidační kapacita pomocí vybraných spektrofotometrických metod. S nárůstem mycelia se snížil obsah sacharidů ve vzorcích až na případ kukuřičné krupice, kdy se v důsledku hustého nárůstu mycelia hodnota zvýšila z $485,22 \pm 7,63$ mg/g na $663,23 \pm 4,53$ mg/g. Množství ve vodě rozpustných proteinů se ale výrazně navýšilo u všech substrátů. Nejvýraznější nárůst zaznamenal opět vzorek kukuřičné krupice z hodnoty $9,64 \pm 0,35$ mg/g na $113,45 \pm 1,95$ mg/g. Hodnota celkových fenolických látek a flavonoidů se také s přidáním mycelia výrazně zvětšila. U měření fenolických látek po kultivaci nejvyšší hodnoty vykazoval vzorek pohanky ($13,82 \pm 0,32$ mg/g) a u flavonoidů vzorek bílé quinoy ($1,49 \pm 0,03$ mg/g). Celková antioxidační kapacita se po kultivaci mycelia ve všech vzorcích (s výjimkou amarantu) také navýšila, a to i přesto, že samotné substráty vykazují samy o sobě silnou antioxidační kapacitu. K největšímu nárůstu antioxidační kapacity v porovnání se stavem před kultivací mycelia došlo u substrátu ječné kroupy, kde se antioxidační kapacita navýšila z $0,81 \pm 0,06$ mg/g na $2,76 \pm 0,11$ mg/g, tedy více než třikrát.

Obsah lipidů a zastoupení jednotlivých mastných kyselin byl měřen metodou GC. V porovnání s množstvím bílkovin nebo sacharidů byl obsah lipidů v myceliu korálovce ježatého nízký, tedy rozdíly v obsahu lipidů v substrátech před a po kultivaci nebyly nijak závratné. Například hodnota $2,25$ g/100 g u substrátu ječné kroupy se po kultivaci mycelia ježatého navýšila na $2,90$ g/100 g.

Další biologicky aktivní látky byly detekovány metodou HPLC. Korálovec ježatý obilné a pseudoobilné substráty obohatil především o ergosterol, tokoferol a ubichinon. Samotné obilniny ve všech případech obsahovaly lutein, nejvíce kukuřičná krupice $18,518$ μ g/g. Po kultivaci se ve všech substrátech výrazně navýšila hodnota ergosterolu. Například před kultivací byla hodnota ergosterolu v ječných kroupách $7,68$ μ g/g a po kultivaci $506,45$ μ g/g. Téměř u všech vzorků došlo také k zvýšení hodnot ubichinonu (pohanka z $48,66$ μ g/g na $803,72$ μ g/g) a tokoferolu (bílá quinoa z $48,52$ μ g/g na $341,48$ μ g/g). Hodnoty torulenu zůstaly po kultivaci prakticky nezměněné. Například hodnota u amarantu před kultivací $18,21$ μ g/g je prakticky shodná s hodnotou $18,29$ μ g/g po kultivaci.

V poslední části práce byla diskutována možná doporučení pro aplikace korálovce ježatého v potravinářském průmyslu. Zaměřila se na obohacení cereálních a pseudocereálních výrobků o houbu korálovce ježatého. Korálovec ježatý, ve formě extraktu nebo houbového prášku, byl vyhodnocen jako vhodná forma pro fortifikaci funkčních potravin. Nejvhodnější aplikací je náhrada části obilných nebo pseudoobilných muk houbovým práškem. Tímto způsobem může být připraveno pečivo, těstoviny nebo jiné potraviny.

Do budoucna je nutné pokračovat ve výzkumu funkčních potravin obohacených o houbové extrakty. Tato oblast nabízí významný potenciál pro inovaci a vývoj nových potravinářských produktů.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] HE, Xirui, Xiaoxiao WANG, Jiacheng FANG, et al. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Herichium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review. *International journal of biological macromolecules* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2017, **97**, 228-237 [cit. 2022-04-10]. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.040
- [2] THONGBAI, Benjarong, Sylvie RAPIOR, Kevin D HYDE, Kathrin WITTSTEIN a Marc STADLER. *Herichium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2015, **14**(10), 1-23 [cit. 2022-04-24]. ISSN 1617-416X. Dostupné z: doi:10.1007/s11557-015-1105-4
- [3] WONG, Kah Hui, Vikineswary SABARATNAM, Noorlidah ABDULLAH, Umah Rani KUPPUSAMY a Murali NAIDU. Effects of cultivation techniques and processing on antimicrobial and antioxidant activities of *Herichium erinaceus* (Bull: Fr.) Pers. extracts. *Food technology and biotechnology* [online]. ZAGREB: FACULTY FOOD TECHNOLOGY BIOTECHNOLOGY, 2009, **47**(1), 47-55 [cit. 2022-05-28]. ISSN 1330-9862.
- [4] LIAO, Jing a Huihua HUANG. Preparation, Characterization and Gelation of a Fungal Nano Chitin Derived from *Herichium erinaceus* Residue. *Polymers* [online]. Switzerland: MDPI, 2022, **14**(3), 474 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: doi:10.3390/polym14030474
- [5] VALÍČEK, Pavel. *Houby a jejich léčivé účinky*. Benešov: Start, 2011. ISBN 978-80-86231-54-9.
- [6] ANTONÍN, Vladimír. *Houby jako lék*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2013. ISBN 978 80-7451-257-5.
- [7] WOLTERS, Niklas, Gerhard SCHEMBECKER a Juliane MERZ. Erinacine C: A novel approach to produce the secondary metabolite by submerged cultivation of *Herichium erinaceus*. *Fungal biology* [online]. OXFORD: Elsevier, 2015, **119**(12), 1334-1344 [cit. 2022-05-29]. ISSN 1878-6146. Dostupné z: doi:10.1016/j.funbio.2015.10.005
- [8] PHAN, Chia-wei, Guan-serm LEE, Sok-lai HONG, Yui-teng WONG, Robert BRKLJA A, Sylvia URBAN, Sri Nurestri ABD MALEK a Vikineswary SABARATNAM. *Herichium erinaceus* (Bull: Fr) Pers. cultivated under tropical conditions. *Food & function* [online]. CAMBRIDGE: Royal Soc Chemistry, 2014, **5**(12), 316-3169 [cit. 2022-06-13]. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/c4fo00452c
- [9] ATILA, Funda. Lignocellulosic and proximate based compositional changes in substrates during cultivation of *Herichium erinaceus* mushroom. *Scientia horticulturae* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2019, **258**, 108779 [cit. 2022-05-28]. ISSN 0304-4238. Dostupné z: doi:10.1016/j.scienta.2019.108779
- [10] SOKÓŁ, Sławomir; GOLAK-SIWULSKA, Iwona; SOBIERALSKI, Krzysztof; SIWULSKI, Marek a GÓRKA, Katarzyna. Biology, cultivation, and medicinal functions of the mushroom *Herichium erinaceum*. Online. *Acta Mycologica*. 2016, roč. 50, č. 2. ISSN 0001-625X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5586/am.1069>. [cit. 2024-01-27].
- [11] STIJVE, Tjakko. *Paul Stamets Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms Third Edition 2000 Ten Speed Press Berkeley, California 574 ISBN 1-58008-175-4 (paperback). Price*

- \$39.95. Online. *Mycologist*. 2001, roč. 15, č. 4, s. 188-189. ISSN 0269-915X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0269-915X\(01\)80024-0](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(01)80024-0). [cit. 2024-01-27].
- [12] EDIBLE AND MEDICINAL MUSHROOMS Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. By Shu-Ting Chang & Philip G. Miles. 2004. CRC Press, Boca Raton., Fl. Pp. 451. 2nd edn. ISBN 0 8493 1043 1. Price. Online. *Mycological research*. 2005, roč. 109, č. 2, s. 255-256. ISSN 0953-7562. Dostupné z: <https://doi.org/10.1017/S0953756205242363>.
- [13] CHANG, Hyun-You a ROH, Mun-Gi. Effect of Different Cultivation Methods on Yield of *Hericium erinaceus*. *The Korean Journal of Mycology*. 1999, roč. 27 Issue 4, č. 91, s. 249-251. ISSN 0253-651X.
- [14] WOLTERS, Niklas, Christoph SCHABRONATH, Gerhard SCHEMBECKER a Juliane MERZ. Efficient conversion of pretreated brewer's spent grain and wheat bran by submerged cultivation of *Hericium erinaceus*. *Bioresource technology* [online]. OXFORD: Elsevier, 2016, **222**, 123-129 [cit. 2022-05-29]. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2016.09.121
- [15] ANOLIEFO, G O; ISIKHUEMHEN, O S a OKOLO, E C. Traditional Coping Mechanism and Environmental Sustainability Strategies in Nnewi, Nigeria. Online. *Journal of agricultural & environmental ethics*. 1998, roč. 11, č. 2, s. 101. ISSN 1187-7863.
- [16] SANCHEZ, C. Modern aspects of mushroom culture technology. Online. *Applied microbiology and biotechnology*. 2004, roč. 64, č. 6, s. 756-762. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1569-7>.
- [17] ASSAN, N., et al. The influence of substrate on mushroom productivity. *Scientific Journal of Crop Science*, 2014, 3.7: 86-91. ISSN 2322-1690.
- [18] HEŚ, Marzanna; DZIEDZIC, Krzysztof; GÓRECKA, Danuta; DROŹDŹYŃSKA, Agnieszka a GUJSKA, Elżbieta. Effect of Boiling in Water of Barley and Buckwheat Groats on the Antioxidant Properties and Dietary Fiber Composition. Online. *Plant foods for human nutrition (Dordrecht)*. 2014, roč. 69, č. 3, s. 276-282. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0425-x>.
- [19] SHAHBAZ, Muhammad; RAZA, Nighat; ISLAM, Mahad; IMRAN, Muhammad; AHMAD, Ishtiaque et al. The nutraceutical properties and health benefits of pseudocereals: a comprehensive treatise. Online. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2023, roč. 63, č. 29, s. 10217-10229. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2071205>.
- [20] GUO, Tianli; HORVATH, Carla; CHEN, Ling; CHEN, Jin a ZHENG, Bo. Understanding the nutrient composition and nutritional functions of highland barley (Qingke): A review. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2020, roč. 103, s. 109-117. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.011>.
- [21] BULKOVÁ, Věra, 2011. Rostlinné potraviny. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brne. ISBN 978-80-7013-532-7.
- [22] KOWIESKA, Agnieszka; LUBOWICKI, Roman; JASKOWSKA, Izabela. Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grain. *Acta Scientiarum Polonorum. Zootechnica*, 2011, 10.2. Dostupné z: https://asp.zut.edu.pl/2011/10_2/asp-2011-10-2-9.pdf

- [23] NOWAK, Verena; DU, Juan a CHARRONDIÈRE, U. Ruth. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Online. *Food chemistry*. 2016, roč. 193, s. 47-54. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.111>.
- [24] MIR, Nisar Ahmad; RIAR, Charanjit Singh a SINGH, Sukhcharn. Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2018, roč. 75, s. 170-180. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.016>.
- [25] AI, Yongfeng a JANE, Jay-lin. Macronutrients in Corn and Human Nutrition. Online. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2016, roč. 15, č. 3, s. 581-598. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192>.
- [26] NELSON, Lewis B. The mineral nutrition of corn as related to its growth and culture. *advances in Agronomy*, 1956, 8: 321-375. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60693-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60693-8)
- [27] WARMAN, P.R a HAVARD, K.A. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown potatoes and sweet corn. Online. *Agriculture, ecosystems & environment*. 1998, roč. 68, č. 3, s. 207-216. ISSN 0167-8809. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(97\)00102-3](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(97)00102-3).
- [28] Kumar, Dilip, and Aditya Narayan Jhariya. "Nutritional, medicinal and economical importance of corn: A mini review." *Res J Pharm Sci* 2319 (2013): 555X. ISSN 2319 – 555X
- [29] ONIPE, Oluwatoyin O.; RAMASHIA, Shonisani E. a JIDEANI, Afam I.O. Wheat bran modifications for enhanced nutrition and functionality in selected food products. Online. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2021, roč. 26, č. 13, s. 3918. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26133918>.
- [30] GÓMEZ, Manuel; JIMÉNEZ, Sara; RUIZ, Elena a OLIETE, Bonastre. Effect of extruded wheat bran on dough rheology and bread quality. Online. *Food science & technology*. 2011, roč. 44, č. 10, s. 2231-2237. ISSN 0023-6438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.006>.
- [31] MŁAKAR, Silva Grobelnik, et al. Nutrition value and use of grain amaranth: potential future application in bread making. *Agricoltura*, 2009, 6.4: 43-53. Dostupné z: <http://www.dlib.si/details/URN:NBN:SI:DOC-GMRGGV40>
- [32] VENSKUTONIS, Petras R. a KRAUJALIS, Paulius. Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses. Online. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2013, roč. 12, č. 4, s. 381-412. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12021>.
- [33] MALIK, Manisha; SINDHU, Ritu; DHULL, Sanju Bala; BOU-MITRI, Christelle; SINGH, Yudhbir et al. Nutritional Composition, Functionality, and Processing Technologies for Amaranth. Online. *Journal of food processing and preservation*. 2023, roč. 2023, s. 1-24. ISSN 0145-8892. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2023/1753029>.
- [34] ZHU, Yang a TRAMPER, Johannes. Koji – where East meets West in fermentation. Online. *Biotechnology advances*. 2013, roč. 31, č. 8, s. 1448-1457. ISSN 0734-9750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.001>.

- [35] ALLWOOD, Joanne G.; WAKELING, Lara T. a BEAN, David C. Fermentation and the microbial community of Japanese koji and miso: A review. Online. *Journal of food science*. 2021, roč. 86, č. 6, s. 2194-2207. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15773>. [cit. 2024-05-18].
- [36] HUTKINS, Robert W. Microbiology and technology of fermented foods. Ames, IA: Blackwell pub. Iowa, 2006. ISBN 047027624X
- [37] FRIEDMAN, Mendel. Chemistry, Nutrition, and Health-Promoting Properties of *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) Mushroom Fruiting Bodies and Mycelia and Their Bioactive Compounds. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. WASHINGTON: AMER CHEMICAL SOC, 2015, **63**(32), 7108-7123 [cit. 2022-04-22]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.5b02914
- [38] LI, Wei, Wei ZHOU, Eun-ji KIM, Sang Hee SHIM, Hee Kyoung KANG a Young Ho KIM. Isolation and identification of aromatic compounds in Lion's Mane Mushroom and their anticancer activities. *Food chemistry* [online]. OXFORD: Elsevier, 2015, **170**, 336-342 [cit. 2022-06-10]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.078
- [39] VENTURELLA, Giuseppe, Valeria FERRARO, Fortunato CIRLINCIONE a Maria Letizia GARGANO. Medicinal mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. *International journal of molecular sciences* [online]. Switzerland MDPI, 2021, **22**(2), 1-31 [cit. 2022-06-10]. ISSN 1661-6596. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22020634
- [40] TSAI-TENG, Tzeng, Chen CHIN-CHU, Lee LI-YA, et al. Erinacine A-enriched *Hericium erinaceus* mycelium ameliorates Alzheimer's disease-related pathologies in APP^{swe}/PS1^{dE9} transgenic mice. *Journal of biomedical science* [online]. LONDON: Springer Nature, 2016, **23**(1), 49-49 [cit. 2022-06-11]. ISSN 1021-7770. Dostupné z: doi:10.1186/s12929-016-0266-z
- [41] WU, Jing, Taiki TOKUNAGA, Mitsuru KONDO, et al. Erinaceolactones A to C, from the Culture Broth of *Hericium erinaceus*. *Journal of natural products (Washington, D.C.)* [online]. United States: American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, 2015, **78**(1), 155-158 [cit. 2022-06-16]. ISSN 0163-3864. Dostupné z: doi:10.1021/np500623s
- [42] SHAHIDI, Fereidoon a ZHONG, Ying. Measurement of antioxidant activity. Online. *Journal of functional foods*. 2015, roč. 18, s. 757-781. ISSN 1756-4646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>. [cit. 2024-05-18].
- [43] KIM, Da Hye, et al. Evaluation of the antioxidant activity and anti-inflammatory effect of *Hericium erinaceus* water extracts. *Korean journal of medicinal crop science*, 2013, 21.2: 112-117. Dostupné z: [10.7783/KJMCS.2013.21.2.112](https://doi.org/10.7783/KJMCS.2013.21.2.112)
- [44] ZHANG, Zuofa; LV, Guoying; PAN, Huijuan; PANDEY, Ashok; HE, Weiqiang et al. Antioxidant and hepatoprotective potential of endo-polysaccharides from *Hericium erinaceus* grown on tofu whey. Online. *International journal of biological macromolecules*. 2012, roč. 51, č. 5, s. 1140-1146. ISSN 0141-8130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.09.002>. [cit. 2024-05-18].
- [45] ZHU, Yang, Qian LI, Guanghua MAO, et al. Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Hericium erinaceus*. *Carbohydrate*

- polymers* [online]. OXFORD: Elsevier, 2014, **101**(1), 606-613 [cit. 2022-06-16]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: [doi:10.1016/j.carbpol.2013.09.099](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.099)
- [46] LI, Guang; YU, Kai; LI, Fushuang; XU, Kangping; LI, Jing et al. Anticancer potential of *Hericium erinaceus* extracts against human gastrointestinal cancers. Online. *Journal of ethnopharmacology*. 2014, roč. 153, č. 2, s. 521-530. ISSN 0378-8741. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.003>.
- [47] KIM, Sung Phil; NAM, Seok Hyun a FRIEDMAN, Mendel. *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) Mushroom Extracts Inhibit Metastasis of Cancer Cells to the Lung in CT-26 Colon Cancer-Tansplanted Mice. Online. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013, roč. 61, č. 20, s. 4898-4904. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf400916c>.
- [48] WANG, J.C; HU, S.H; WANG, J.T; CHEN, K.S a CHIA, Y.C. Hypoglycemic effect of extract of *Hericium erinaceus*. Online. *Journal of the science of food and agriculture*. 2005, roč. 85, č. 4, s. 641-646. ISSN 0022-5142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1928>.
- [49] XIE, Xiao Qian; GENG, Yan; GUAN, Qijie; REN, Yilin; GUO, Lin et al. Influence of short-term consumption of *Hericium erinaceus* on serum biochemical markers and the changes of the gut microbiota: A pilot study. Online. *Nutrients*. 2021, roč. 13, č. 3, s. 1-12. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu13031008>.
- [50] LI, I. Chen; CHANG, Han Hsin; LIN, Chuan Han; CHEN, Wan Ping; LU, Tsung Han et al. Prevention of Early Alzheimer's Disease by Erinacine A-Enriched *Hericium erinaceus* Mycelia Pilot Double-Blind Placebo-Controlled Study. Online. *Frontiers in aging neuroscience*. 2020, roč. 12, s. 155-155. ISSN 1663-4365. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00155>.
- [51] CHONG, Pit Shan; FUNG, Man Lung; WONG, Kah Hui a LIM, Lee Wei. Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. Online. *International journal of molecular sciences*. 2019, roč. 21, č. 1, s. 163. ISSN 1661-6596. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms21010163>.
- [52] PRASAD, Shaline, et al. Medicinal mushrooms as a source of novel functional food. *IJFS*, 2015, 4: 221-5. Dostupné z: [10.19070/2326-3350-1500040](https://doi.org/10.19070/2326-3350-1500040)
- [53] WANG, Lei; TIAN, Yingpeng; CHEN, Zhaoqing a CHEN, Jie. Effects of *Hericium erinaceus* powder on the digestion, gelatinization of starch, and quality characteristics of Chinese noodles. Online. *Cereal chemistry*. 2021, roč. 98, č. 3, s. 482-491. ISSN 0009-0352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cche.10387>.
- [54] WANG, Mingxing, et al. *Hericium erinaceus* (Yamabushitake): a unique resource for developing functional foods and medicines. *Food & function*, 2014, 5.12: 3055-3064. Dostupné z: [10.1039/c4fo00511b](https://doi.org/10.1039/c4fo00511b)
- [55] WORAHARN, Sasimar; LAILERD, Narissara; SIVAMARUTHI, Bhagavathi Sundaram; WANGCHAROEN, Wiwat; PEERAJAN, Sartjin et al. Development of fermented *Hericium erinaceus* juice with high content of L-glutamine and L-glutamic acid. Online. *International journal of food science & technology*. 2015, roč. 50, č. 9, s. 2104-2112. ISSN 0950-5423. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12873>.
- [56] ÜSTÜN, Nebahat Şule; BULAM, Sanem; PEKŞEN, Aysun. The use of mushrooms and their extracts and compounds in functional foods and nutraceuticals. *Türkmen, A.(ed.)*, 2018, 1: 1205-1222. ISBN: 978-975-2481-10-7.

- [57] CHEN, Xuan; ZHANG, Yueyue; CAO, Beier; WEI, Xiaonan; SHEN, Zhenguo et al. Assessment and comparison of nutritional qualities of thirty quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seed varieties. Online. *Food Chemistry: X*. 2023, roč. 19, s. 100808-100808. ISSN 2590-1575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100808>.
- [58] LIU, Mengjie; ZHU, Kaili; YAO, Yang; CHEN, Yinhuan; GUO, Huimin et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor activities of phenolic compounds from white, red, and black *Chenopodium quinoa* seed. Online. *Cereal chemistry*. 2020, roč. 97, č. 3, s. 703-713. ISSN 0009-0352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cche.10286>.
- [59] PIÑUEL, Lucrecia; BOERI, Patricia; ZUBILLAGA, Fanny; BARRIO, Daniel Alejandro; TORRETA, Joaquin et al. Production of white, red and black quinoa (*Chenopodium quinoa* willd var. real) protein isolates and its hydrolysates in germinated and non-germinated quinoa samples and antioxidant activity evaluation. Online. *Plants (Basel)*. 2019, roč. 8, č. 8, s. 257. ISSN 2223-7747. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants8080257>.
- [60] BRESLER, Gisela; VAAMONDE, Graciela; DEGROSSI, Claudia a FERNANDEZ PINTO, Virginia. Amaranth grain as substrate for aflatoxin and zearalenone production at different water activity levels. Online. *International journal of food microbiology*. 1998, roč. 42, č. 1, s. 57-61. ISSN 0168-1605. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00063-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00063-4).
- [61] KRUPODOROVA, Tetiana A., et al. Some macronutrient content in mycelia and culture broth of medicinal mushrooms cultivated on amaranth flour. *International journal of medicinal mushrooms*, 2012, 14.3. Dostupné z: [10.1615/IntJMedMushr.v14.i3.50](https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i3.50)
- [62] WANG, Xiao-yin; ZHANG, Duo-duo; YIN, Jun-yi; NIE, Shao-ping a XIE, Ming-yong. Recent developments in *Hericium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities. Online. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2019, roč. 59, č. sup1, s. S96-S115. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1521370>.
- [63] SUÁREZ-ESTRELLA, Diego; BRESCIANI, Andrea; IAMETTI, Stefania; MARENCO, Mauro; PAGANI, Maria Ambrogina et al. Effect of Sprouting on Proteins and Starch in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Online. *Plant foods for human nutrition (Dordrecht)*. 2020, roč. 75, č. 4, s. 635-641. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00864-6>.
- [64] LI, YangYang, et al. Determination of total polyphenol content from different *Hericium erinaceus* strains. *Food Research and Development*, 2017, 38.4: 123-126. Dostupné z: [10.3390/antiox11020324](https://doi.org/10.3390/antiox11020324)
- [65] GAŚECKA, M., et al. Phenolic and flavonoid content in *Hericium erinaceus*, *Ganoderma lucidum*, and *Agrocybe aegerita* under selenium addition. *Acta Alimentaria*, 2016, 45.2: 300-308. Dostupné z: [10.1556/066.2016.45.2.18](https://doi.org/10.1556/066.2016.45.2.18)
- [66] RAGAEI, Sanaa; SEETHARAMAN, Koushik a ABDEL-AAL, El-Sayed M. Impact of Milling and Thermal Processing on Phenolic Compounds in Cereal Grains. Online. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2014, roč. 54, č. 7, s. 837-849. ISSN 1549-7852. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.610906>.
- [67] HAN, Zi-hua; YE, Jian-min a WANG, Guan-fu. Evaluation of in vivo antioxidant activity of *Hericium erinaceus* polysaccharides. Online. *International journal of biological*

- macromolecules*. 2013, roč. 52, č. 1, s. 66-71. ISSN 0141-8130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.09.009>.
- [68] FUJITA, Masayuki a HASANUZZAMAN, Mirza. Approaches to Enhancing Antioxidant Defense in Plants. Online. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 5, s. 925. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11050925>.
- [69] CORDARO, Marika; SALINARO, Angela Trovato; SIRACUSA, Rosalba; D'AMICO, Ramona; IMPELLIZZERI, Daniela et al. Key mechanisms and potential implications of hericium erinaceus in NLRP3 inflammasome activation by reactive oxygen species during alzheimer's disease. Online. *Antioxidants*. 2021, roč. 10, č. 11, s. 1664. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox10111664>.
- [70] KARAMAĆ, Magdalena; GAI, Francesco; LONGATO, Erica; MEINER, Giorgia; JANIĄK, Michał A. et al. Antioxidant activity and phenolic composition of amaranth (*Amaranthus caudatus*) during plant growth. Online. *Antioxidants*. 2019, roč. 8, č. 6, s. 173. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox8060173>.
- [71] KALAC, Pavel. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. Online. *Food chemistry*. 2009, roč. 113, č. 1, s. 9-16. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.077>.
- [72] MOLENDI-COSTE, Olivier; LEGRY, Vanessa a LECLERCQ, Isabelle A. Why and How Meet n-3 PUFA Dietary Recommendations? Online. *Gastroenterology research and practice*. 2011, roč. 2011, s. 364040-11. ISSN 1687-6121. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2011/364040>.
- [73] HELENO, Sandrina A.; BARROS, Lillian; MARTINS, Anabela; QUEIROZ, Maria João R.P.; MORALES, Patricia et al. Chemical composition, antioxidant activity and bioaccessibility studies in phenolic extracts of two *Hericium* wild edible species. Online. *Food science & technology*. 2015, roč. 63, č. 1, s. 475-481. ISSN 0023-6438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.040>.
- [74] NANDAN, Alisha; KOIRALA, Pankaj; DUTT TRIPATHI, Abhishek; VIKRANTA, Urvashi; SHAH, Kartik et al. Nutritional and functional perspectives of pseudocereals. Online. *Food chemistry*. 2024, roč. 448, s. 139072-139072. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139072>.
- [75] HOSSAIN, Ashrafi a JAYADEEP, Padmanabhan Appukuttan. Comparison of total carotenoids, lutein, zeaxanthin, and β -carotene content in maize employing solvent extraction and in vitro physiological methods. Online. *Journal of food biochemistry*. 2018, roč. 42, č. 6, s. e12653-n/a. ISSN 0145-8884. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12653>. [cit. 2024-05-18].
- [76] MOLINÉ, Martín; LIBKIND, Diego; VAN BROECK, María. Production of torularhodin, torulene, and β -carotene by *Rhodotorula* yeasts. *Microbial carotenoids from fungi: methods and protocols*, 2012, 275-283. Dostupné z: [10.1007/978-1-61779-918-1_19](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-918-1_19)
- [77] PERKOWSKI, Juliusz; BUĄKO, Maciej; STUPER, Kinga; KOSTECKI, Marian; MATYSIAK, Anna et al. Concentration of ergosterol in small-grained naturally contaminated and inoculated cereals. Online. *Biología*. 2008, roč. 63, č. 4, s. 542-547. ISSN 1336-9563. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/s11756-008-0083-2>. [cit. 2024-05-18].

- [78] SHEN, Zhi Jun; XU, Su Xia; HUANG, Qing Yun; LI, Zi Yang; XU, Yi Ding et al. TMT proteomics analysis of a pseudocereal crop, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), during seed maturation. Online. *Frontiers in plant science*. 2022, roč. 13, s. 975073-975073. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.975073>. [cit. 2024-05-18].
- [79] POZA-VIEJO, Laura; REDONDO-NIETO, Miguel; MATÍAS, Javier; GRANADO-RODRÍGUEZ, Sara; MAESTRO-GAITÁN, Isaac et al. Shotgun proteomics of quinoa seeds reveals chitinases enrichment under rainfed conditions. Online. *Scientific reports*. 2023, roč. 13, č. 1, s. 4951-4951. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32114-5>. [cit. 2024-05-18].
- [80] ALVAREZ-JUBETE, L; HOLSE, M; HANSEN, A; ARENDT, E.K a GALLAGHER, E. Impact of Baking on Vitamin E Content of Pseudocereals Amaranth, Quinoa, and Buckwheat. Online. *Cereal chemistry*. 2009, roč. 86, č. 5, s. 511-515. ISSN 0009-0352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-5-0511>. [cit. 2024-05-18].
- [81] MORTON, R. Alan. Ubiquinones (coenzymes Q), ubichromenols, and related substances. In: *Vitamins & Hormones*. Academic Press, 1962. p. 1-42. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(08\)61052-3](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(08)61052-3)
- [82] KOT, Anna M.; BŁAZEJAK, Stanisław; GIENKA, Iwona; KIELISZEK, Marek a BRYŚ, Joanna. Torulene and torularhodin: "New" fungal carotenoids for industry? Online. *Microbial cell factories*. 2018, roč. 17, č. 1, s. 49-14. ISSN 1475-2859. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0893-z>.
- [83] EL SOHAIMY, S. A., et al. Functional foods and nutraceuticals-modern approach to food science. *World Applied Sciences Journal*, 2012, 20.5: 691-708. Dostupné z: [10.5829/idosi.wasj.2012.20.05.66119](https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.20.05.66119)
- [84] REIS, Filipa S.; MARTINS, Anabela; VASCONCELOS, M. Helena; MORALES, Patricia a FERREIRA, Isabel C.F.R. Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. Online. *Trends in Food Science & Technology*. 2017, roč. 66, s. 48-62. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.010>.
- [85] ULZIJARGAL, Enkhjargal; YANG, Joan-hwa; LIN, Li-yun; CHEN, Chiao-pei a MAU, Jeng-leun. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. Online. *Food chemistry*. 2013, roč. 138, č. 1, s. 70-76. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.051>.
- [86] FOSCHIA, Martina; PERESSINI, Donatella; SENSIDONI, Alessandro a BRENNAN, Charles Stephen. The effects of dietary fibre addition on the quality of common cereal products. Online. *Journal of cereal science*. 2013, roč. 58, č. 2, s. 216-227. ISSN 0733-5210. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.05.010>.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

%	procento
% hm.	hmotnostní procento
°C	stupeň Celsia
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)
AF2S-2	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc, Man, Fuc v poměru 96,3:2,8:0,9
BF2S-2	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc, Man, Fuc v poměru 95,7:3,1:0,6
cm	centimetr
DPY	médium z kvasničného extraktu peptonové dextrózy
FID	plamenný ionizační detektor
g	gram
GC	plynová chromatografie
HEP-3	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc
HEP-5	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc
HEPA 1	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc, Ara, Xyl v poměru 33,1:1,7:1,0
HEPA 4	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc, Ara, Xyl, Man, Gal v poměru 3,6:2,3:3,5:1,0:1,7
HEPF 5	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HPP	polysacharid izolovaný z k. ježatého, monosacharidové složení: Glc
M	molární
mg	miligram
ml	mililitr
mM	milimolární
mm	milimetr
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
nm	nanometr
PDA	detektor diodového pole
PDA	médium z agaru a bramborového škrobu
pH	záporný logaritmus vodíkových iontů
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
RI	refrakční detektor
rpm	otáčky za minutu
SFA	nasyčené mastné kyseliny
TEAC	antioxidační kapacita látek ekvivalentní Troloxu
YMEA	médium z kvasničného extraktu, maltózy a agaru
W	Watt
µg	mikrogram
µl	mikrolitr
µm	mikrometr