

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2020

Bc. Jakub Korček



# 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

# ANALÝZA VZORKŮ CIBULE A ČESNEKU RŮZNÉHO GEOGRAFICKÉHO PŮVODU

ANALYSIS OF ONION AND GARLIC SAMPLES OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL ORIGIN

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jakub Korček

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1437/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Jakub Korček**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Analýza vzorků cibule a česneku různého geografického původu

### Zadání diplomové práce:

1. Zpracování teoretické části práce
2. Analýza vzorků cibule pomocí ICP–OES, UV–VIS, HPLC a dalších chemických metod
3. Zpracování naměřených výsledků, diskuse

### Termín odevzdání diplomové práce: 31.7.2020:

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

-----  
Bc. Jakub Korček  
student(ka)

-----  
doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## ABSTRAKT

Predložená diplomová práca sa zaoberala analýzou vzoriek cibule a cesnaku a snažila sa nájsť korelácie medzi chemickým zložením a krajinou pôvodu. Sledovaných bolo dvanásť parametrov: obsah sušiny, hrubej bielkoviny, koncentrácia fenolických látok, obsah sacharidov (fruktóza, glukóza), obsah alliinu a koncentrácia vybraných prvkov (P, Mg, Ca, Na, K, Fe, Zn). Priemerná hodnota obsahu sušiny u čerstvých vzoriek bola  $35,84 \pm 2,12 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a u dehydratovaných vzoriek bola  $90,61 \pm 2,90 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Koncentrácia fenolických látok bola stanovená spektrofotometricky s Folin-Ciocalteuovým činidlom. Priemerný obsah fenolických látok vzoriek bol  $0,1840 \pm 0,1286 \text{ GAE g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah hrubej bielkoviny bol stanovený Kjeldahlovou metódou, prepočtom z celkového obsahu dusíka. Priemerný obsah hrubej bielkoviny bol  $19,66 \pm 0,36 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Sacharidy boli stanovené metódou HPLC-ELSD po hydrolýze fruktanov. Priemerný obsah fruktózy u vzoriek cesnaku bol  $57,014 \pm 0,863 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , u vzoriek cibule bol  $33,718 \pm 1,168 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Priemerný obsah glukózy u vzoriek cibule bol  $22,633 \pm 0,405 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah alliinu bol stanovený metódou HPLC-DAD. Priemerný obsah alliinu u čerstvých vzoriek bol  $4,644 \pm 0,446 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , u dehydratovaných bol  $1,962 \pm 0,180 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Prvková analýza bola prevedená metódou ICP-OES. Priemerná koncentrácia vybraných prvkov bola: P  $2,15 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Mg  $0,638 \pm 0,03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Ca  $1,246 \pm 0,05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Na  $0,550 \pm 0,08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , K  $7,49 \pm 0,41 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Fe  $79,3 \pm 6,16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , Zn  $11,4 \pm 3,33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Získané dáta boli štatisticky spracované na hladine významnosti 0,05. Na základe analýzy hlavných komponent bolo zistené, že na rozlíšenie vzoriek z Česka, Poľska a Ukrajiny od iných krajín sú najvhodnejšími parametrami obsah dusíka, fosforu, horčíka, sodíka a vápnika. Bolo tiež zistené, že rodové odlišnosti medzi cibuľou a cesnakom majú väčšiu váhu, ako geografické odlišnosti.

## KLÚČOVÉ SLOVÁ

Cesnak, cibuľa, nutričné zloženie, alliin, prvková analýza, HPLC, ICP-OES, Kjeldahl

## ABSTRACT

Presented master thesis dealt with the analysis of garlic and onion samples and tried to find correlations between chemical composition and country of origin. The parameters examined were dry content, crude protein content, concentration of phenolic compounds, carbohydrate content (fructose, glucose), alliin content and concentration of selected elements (P, Mg, Ca, Na, K, Fe, Zn). Average content of dry matter of fresh samples was  $35,84 \pm 2,12 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  and of dehydrated samples was  $90,61 \pm 2,90 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Concentration of phenolic compounds was measured spectrophotometrically with Folin-Ciocalteu reagent. Average phenolic compounds content of samples was  $0,1840 \pm 0,1286 \text{ GAE g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Crude protein content was measured by Kjeldahl method, and calculated from total nitrogen content. Carbohydrates were measured by HPLC-ELSD after hydrolysis of fructans. Average content of fructose of garlic samples was  $57,014 \pm 0,863 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , of onion samples was  $33,718 \pm 1,168 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Average content of glucose of onion samples was  $22,633 \pm 0,405 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Alliin content was measured by HPLC-DAD method. Average alliin content of fresh samples was  $4,644 \pm 0,446 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , of dehydrated samples was  $1,962 \pm 0,180 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Elemental analysis was conducted by ICP-OES method. Average concentration of selected elements was: P  $2,15 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Mg  $0,638 \pm 0,03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Ca  $1,246 \pm 0,05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Na  $0,550 \pm 0,08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , K  $7,49 \pm 0,41 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , Fe  $79,3 \pm 6,16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , Zn  $11,4 \pm 3,33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Obtained data were statistically processed on significance level 0,05. Based on the principal components analysis, it was found, that the best parameters to differentiate samples from Czechia, Poland and Ukraine from other countries were content of nitrogen, phosphorus, magnesium, sodium and calcium. It was also discovered, that genus differences between onion and garlic have greater significance than geographical differences.

## KEYWORDS

Garlic, onion, nutritional composition, alliin, elemental analysis, HPLC, ICP-OES, Kjeldahl

KORČEK, Jakub. *Analýza vzorků cibule a česneku různého geografického původu*. Brno, 2020. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

### **Prehlásenie**

Prehlasujem, že som svoju diplomovú prácu vypracoval samostatne a že som všetky použité literárne zdroje správne a úplne citoval. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť použitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....  
podpis študenta

### **Pod'akovanie**

*V prvom rade by som chcel poďakovať doc. Ing. Pavlovi Divišovi Ph.D. za ústretovosť a odborné vedenie pri vypracovávaní tejto diplomovej práce. Ďalej by som chcel tiež poďakovať svojmu konzultantovi Ing. Václavovi Štursovi za všetok poskytnutý čas a cenné rady.*

*Moje poďakovanie tiež patrí rodine a priateľom, ktorí ma počas celej doby štúdia podporovali.*

# OBSAH

<b>1 ÚVOD .....</b>	<b>9</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČASŤ .....</b>	<b>10</b>
2.1 Botanická charakteristika .....	10
2.1.1 Charakteristika cesnaku kuchynského – <i>Allium sativum</i> .....	10
2.1.2 Charakteristika cibule kuchynskej – <i>Allium cepa L.</i> .....	11
2.2 Chemické zloženie cibule a cesnaku .....	12
2.2.1 Organické sírne zlúčeniny .....	12
2.2.1.1 Thiosulfináty .....	12
2.2.1.2 Alliin a Allicin .....	14
2.2.1.3 Sulfidy .....	15
2.2.1.4 Vinyldithiiny .....	15
2.2.1.5 Ajoeny .....	15
2.2.2 Nesírne látky .....	15
2.2.2.1 Bielkoviny (enzýmy) .....	15
2.2.2.2 Sacharidy .....	16
2.2.2.3 Vitamíny a minerálne látky .....	17
2.2.2.4 Fenolické zlúčeniny .....	20
2.3 Pestovanie a technologické spracovanie .....	21
2.3.1 Odroda a spôsob sadby .....	21
2.3.2 Podmienky pestovania .....	22
2.3.3 Skladovanie .....	22
2.3.4 Spracovanie cibule .....	23
2.3.5 Spracovanie cesnaku .....	24
2.4 Falšovanie potravín .....	25
2.4.1 Legislatíva v oblasti falšovania potravín .....	26
2.4.2 Metódy hodnotenia autenticity a detekcie falšovania potravín .....	27
2.4.3 Falšovanie bylín a korenia .....	27
2.5 Inštrumentálne metódy .....	28
2.5.1 Metódy prvkovej analýzy .....	28
2.5.1.1 Mineralizácia .....	29
2.5.2 Optická emisná spektrometria s indukčne viazaným plazmatom .....	29
2.5.2.1 Princíp metódy .....	29
2.5.2.2 Inštrumentácia .....	30
2.5.2.3 Zmlžovacie zariadenie .....	30
2.5.2.4 Plazmový zdroj ICP .....	31
2.5.2.5 Spektrometer .....	32
2.5.2.6 Detektor .....	33
2.5.2.7 Interferencie ICP .....	33
2.5.3 Stanovenie hrubej bielkoviny Kjeldahlovou metódou .....	34
2.5.3.1 Mineralizácia podľa Kjeldahla .....	34

2.5.3.2	Princíp metódy.....	34
2.5.4	Chromatografické metódy .....	34
2.5.5	Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia .....	35
2.5.5.1	Retenčné charakteristiky .....	35
2.5.5.2	Chromatografická separácia .....	35
2.5.5.3	Princíp metódy.....	36
2.5.5.4	Inštrumentácia .....	36
2.5.5.5	Transport a príprava mobilnej fázy .....	36
2.5.5.6	Vysokotlaké čerpadlo .....	37
2.5.5.7	Dávkovacie zariadenie.....	37
2.5.5.8	Kolóna .....	38
2.5.5.9	Detektor .....	39
2.5.6	Spektrofotometrické stanovenie fenolických látok.....	40
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....</b>	<b>41</b>
3.1	Analyzované vzorky .....	41
3.2	Laboratórne vybavenie .....	41
3.2.1	Prístroje .....	41
3.2.2	Chemikálie .....	42
3.2.3	Pomôcky .....	42
3.3	Stanovenie vybraných parametrov .....	43
3.3.1	Stanovenie sušiny.....	43
3.3.2	Stanovenie fenolických látok.....	43
3.3.3	Stanovenie hrubej bielkoviny .....	43
3.3.4	Prvková analýza .....	44
3.3.5	Stanovenie sacharidov .....	44
3.3.6	Stanovenie alliinu.....	45
3.3.7	Štatistické vyhodnotenie .....	46
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSIA.....</b>	<b>47</b>
4.1	Stanovenie sušiny .....	47
4.2	Stanovenie fenolických látok .....	47
4.3	Stanovenie hrubej bielkoviny .....	48
4.4	Stanovenie sacharidov .....	48
4.5	Stanovenie alliinu .....	49
4.6	Prvková analýza .....	52
4.6.1	Fosfor .....	52
4.6.2	Horčík .....	52
4.6.3	Vápnik.....	52
4.6.4	Sodík .....	53
4.6.5	Draslík.....	53
4.6.6	Železo.....	53
4.6.7	Zinok .....	53



4.7	Analýza hlavných komponent (PCA).....	56
<b>5</b>	<b>ZÁVER.....</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV.....</b>	<b>71</b>

# 1 ÚVOD

Cesnak kuchynský (*Allium sativum*) a cibuľa kuchynská (*Allium cepa L.*) patria do botanického rodu *Allium*, ktorý zahŕňa asi 700 druhov rastlín. Prvé historické zmienky o konzumácii cesnaku siahajú až do doby stavby Egyptských pyramíd, teda viac ako 3000 rokov pred Kristom. Počiatky pestovania cibule sú nejasné, odhadujú sa ale na viac ako 5000 rokov pred Kristom.

Najväčším pestovateľom cesnaku na svete je Čína, ktorá produkuje viac ako 22 miliónov ton ročne, na druhom mieste je India s produkciou asi 1,7 milóna ton ročne (FAO, 2018). Dominantnou krajinou v pestovaní zelenej cibule je Čína s necelými 100 000 ton ročne, na druhom mieste je Mali s necelými 70 000 ton ročne (FAO, 2018). Okrem toho v mnohých krajinách existujú menší pestovatelia ktorí si často šľachtia svoje vlastné odrody.

Obe rastliny môžu byť konzumované v čerstvom stave, alebo v sušenej forme, pričom sú vyhľadávanou komoditou nie len kvôli svojej výraznej chuti, ale aj preto, že majú preukázateľne pozitívny účinok na ľudský organizmus. Využitie nachádzajú aj rôzne iné formy, ktoré po spracovaní môžu slúžiť na ochranu poľnohospodárskych rastlín pred škodcami.

Popísané účinky cesnaku a cibule na ľudské zdravie, sú väčšinou spájané s derivátmi sírnych aminokyselín alliinu a isoallinu. Takýmito derivátmi sú predovšetkým thiosulfináty, thiosulfonáty, sulfidy, vinyldithiiny a ajoeny. Enzým alliináza katalyzuje vznik týchto zlúčenín, hlavne po narušení pletiva cesnaku a cibule. Obe rastliny obsahujú sacharidy predovšetkým vo forme inulinov, ktoré sa radia medzi fyziologicky pozitívne pôsobiace polysacharidy. Cibuľa v malej miere obsahuje aj jednoduché sacharidy. Fenolické látky sú ďalšou významnou skupinou zlúčenín, ktoré sú obsiahnuté v rastlinách z rodu *Allium*. Navyše sú tieto rastliny aj dobrým zdrojom niektorých vitamínov a minerálnych látok.

S rastúcim celosvetovým dopytom po týchto potravinách sa zvyšuje aj šanca, že výrobcovia siahnu po nekalých praktikách falšovania potravín, za účelom svojho obohatenia. K spôsobom falšovania potravín patrí účelové uvádzanie nesprávneho pôvodu potraviny, používanie iných častí rastliny do sušených zmesí, náhrada drahšej zložky lacnejšou, prípadne miešanie zmesí o rôznej kvalite.

Schopnosť preukázať autenticitu potraviny je dôležitá pre celý dodávateľský reťazec, teda od pestovateľa až po konečného spotrebiteľa. Z tohoto dôvodu je nutné vyvíjať stále nové a presnejšie analytické metódy, ktoré budú schopné takéto falšovanie odhaliť.

## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

### 2.1 Botanická charakteristika

Podľa švédskeho botanika P. Wendelbo, rod *Allium* zahŕňa asi 700 druhov. Cesnak a cibuľa sa v rastlinnej ríši botanicky zaraďujú takto:

Kmeň: *Angiospermae*

Trieda: *Monocotyledoneae*

Rád: *Asparagales*

Čelaď: *Alliaceae*

Rod: *Allium*

Druh: *Allium sativum* (cesnak kuchynský), *Allium cepa* L. (cibuľa kuchynská)

Spoločným znakom rodu *Allium* je tvorba cibule na skrátenej ose podpučia, trubkovité (monofaciálne) alebo ploché (čiarkovité listy), rôzne vysoká kvetná lodyha zakončená kvetným lichookolíkom. Kvet je zložený z 6 okvetných plátkov, 6 tyčiniek a polodlhej čnelky. Plod je trojhranná tobolka nesúca väčšinou 6 semien. Podľa formy listu sa členovia rodu *Allium* môžu jednoznačne rozdeliť na monofaciálne (napr. cibuľa kuchynská) a bifaciálne (napr. cesnak kuchynský) [1].

#### 2.1.1 Charakteristika cesnaku kuchynského – *Allium sativum*

Hlavné rastlinné orgány cesnaku sú koreň, podpučie, listy, kolaterálne pupene, stonka a okvetie. Reaguje citlivo na zmeny teploty, dĺžku dňa, vodný režim a prísun živín. Rastlinu tvorí 8 až 15 žlabkovitých plochých listov, rôzne širokých. Vytvára zväzkovité korene. Cibule vyrastajú z kolaterálnych pupeňov na podpučí. Celá zložená cibuľa je chránená povrchovými šupinami v troch vrstvách, ktoré pevne obalujú strúčiky a priliehajú ku kvetnému stvolu. Na teploty sú zvlášť citlivé vnútorné časti puku a podpučia. Cesnak nie je v našich podmienkach schopný tvoriť semená, rozmnožuje sa výhradne vegetatívne [1,2].

Botanická literatúra taxonomicky obyčajne delí cesnak na 3 typy:

Tabuľka 1: Taxonomické rozdelenie druhov cesnaku [1]

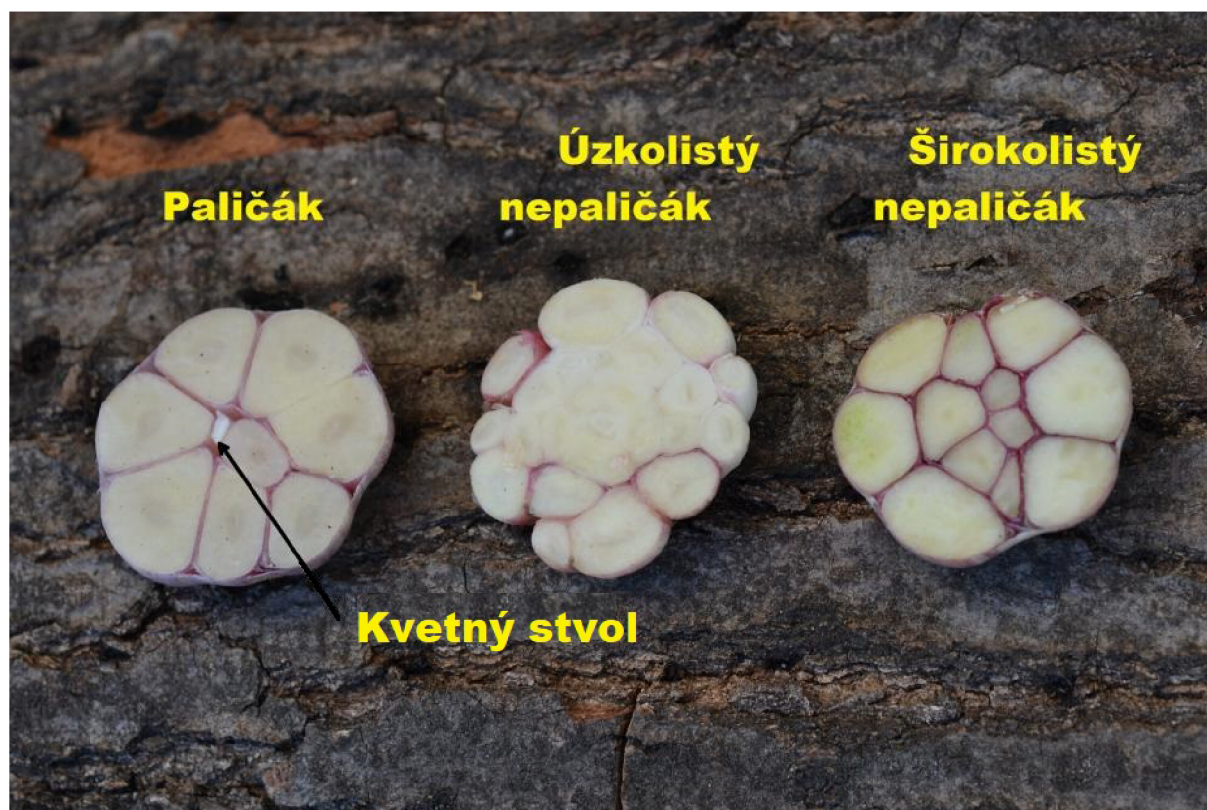
Typ	Latinské označenie	Označenie	České charakteristické označenie
1	var. <i>sagittatum</i>	H	paličák
2	var. <i>vulgare</i>	U	širokolistý nepaličák
3	var. <i>variabilis</i>	A	úzkolistý nepaličák

Typ H predstavujú najmladšie vývojové formy, rozšírené hlavne v strednej Ázii, Moldavsku, Európe, ale aj na Sibíri. Za normálnych okolností tvorí kvetonosnú lodyhu a delenú cibuľu s dvomi skupinami strúčikov, v úžľabí okolo kvetnostnej stonky. Farba cibule je biela až fialová, tvar guľovitý alebo mierne sploštený, výška lodyhy dosahuje až 1,5 m.

Typ U tvorí vývojovo najstaršie formy. Pestuje sa predovšetkým v Stredomorí, Egypte, Číne. Patria sem hlavne zimné (ozimé) formy, ktoré ale dávajú aj pri jarnej výsadbe

uspokojivé výsledky. Má plochú cibuľu s polmesačným rozložením skupin strúčikov. Tie sú väčšinou biele až svetlo fialové. Biotypy z južných oblastí majú malú skladovateľnosť a krátku periódu kľudu, ale sú obľúbené u pestovateľov, lebo tvoria veľké cibule a tiež sú, s ohľadom na ich bielu farbu, veľmi vhodné pre ďalšie technologické spracovanie.

Úzkolistý nepaličák je rozšírený v suchých oblastiach. Väčšinou je pestovaný ako jarná forma. Vnútorne strúčiky má malé, vonkajšie sú väčšie. Má úzke žlabkovité listy, menšie ploché až guľovité palice, ktoré sú veľmi pevné a preto je ich rozobratie na strúčiky náročné. Zároveň sa typ A vyznačuje aj veľmi dobrou skladovateľnosťou. Má malé pacibulky a nízke lodyhy [1,2].



Obrázok 1: Prierez cibulami rôznych druhov cesnaku (prevzaté z [3])

### 2.1.2 Charakteristika cibule kuchynskej – *Allium cepa* L.

Cibuľa kuchynská je kultúrny druh, ktorý je rozšírený po celom svete a vykazuje veľkú variabilitu znakov a vlastností. Patrí medzi jednodeložné cudzoprašné rastliny. Jej semená kľúčia pomaly aj za nízkych teplôt. Pri vzhádzaní sa vytvára jeden rozvetvený koreň, ktorý prerastá do dĺžky. Za 14 až 18 dní sa na báze osy začínajú tvoriť ďalšie korene a rokladajú sa do šírky aj hĺbky. Súčasne sa začína osa zkracovať a rozširuje sa v podpučí. Keď začne báza listov dužnatieť, prvé korene vzniknuté pri vzhádzaní začnú odumierať. Lodyhu predstavuje skrátene podpučie, je vysoká niekoľko milimetrov, korkovite zatvrdlá. Listy sú duté, oblé, tmavo zelenej farby a s tenkým voskovým povlakom. Dosahujú dĺžky 300 až 400 mm. Cibuľa ako zásobný orgán sa začne vytvárať až za vyšších teplôt a za určitej dĺžky dňa, zdužnatením báze listov, kedy dochádza k hromadeniu glycidov. Povrch cibule je v dobe zrelosti krytý 2 až 3 obalovými suknicami. Pri dozrievaní sa organické látky premiestňujú z listov do cibule. Druhý rok vyraší z cibule niekoľko kvetných stvolov, ktoré sú trubkovito duté, v spodnej časti

rošírené a zakončené kvetenstvom. Kvetenstvo tvorí 200 až 2000 obojakých kvetov, u ktorých dozrievajú prašníky skôr ako blizny. Plodom je trojpúzdrová toboľka s dvomi čiernymi semenami v každom púzdre [1,2].

## 2.2 Chemické zloženie cibule a cesnaku

Cesnak a cibuľa obsahujú vyššie koncentrácie organických sírnych zlúčenín, ktoré sú primárne zodpovedné za ich účinky prospešné pre zdravie a zároveň charakteristickú ostrú arómu, pričom u cesnaku býva obsah sírnych látok až 2,3 % jedlého podielu. Allicin je hlavnou bioaktívnou zlúčeninou spôsobujúcou charakteristickú arómu rastlín z rodu *Allium*. Okrem sírnych látok obsahujú aj sacharidy (hlavne vo forme fruktanov), bielkoviny (enzýmy), fenolické zlúčeniny a tiež niektoré vitamíny a minerálne látky. Tuky sú zastúpené len vo veľmi malej miere [4,5].

Tabuľka 2: Vybrané nutričné hodnoty čerstvej cibule a cesnaku [6]

Názov	Obsah v 100 g jedlého podielu	
	Cesnak	Cibuľa
Voda	58,58 g	89,11 g
Sacharidy	33,06 g	9,34 g
Bielkoviny	6,36 g	1,1 g
Tuky	0,5 g	0,1 g
Vláknina	2,1 g	1,7 g

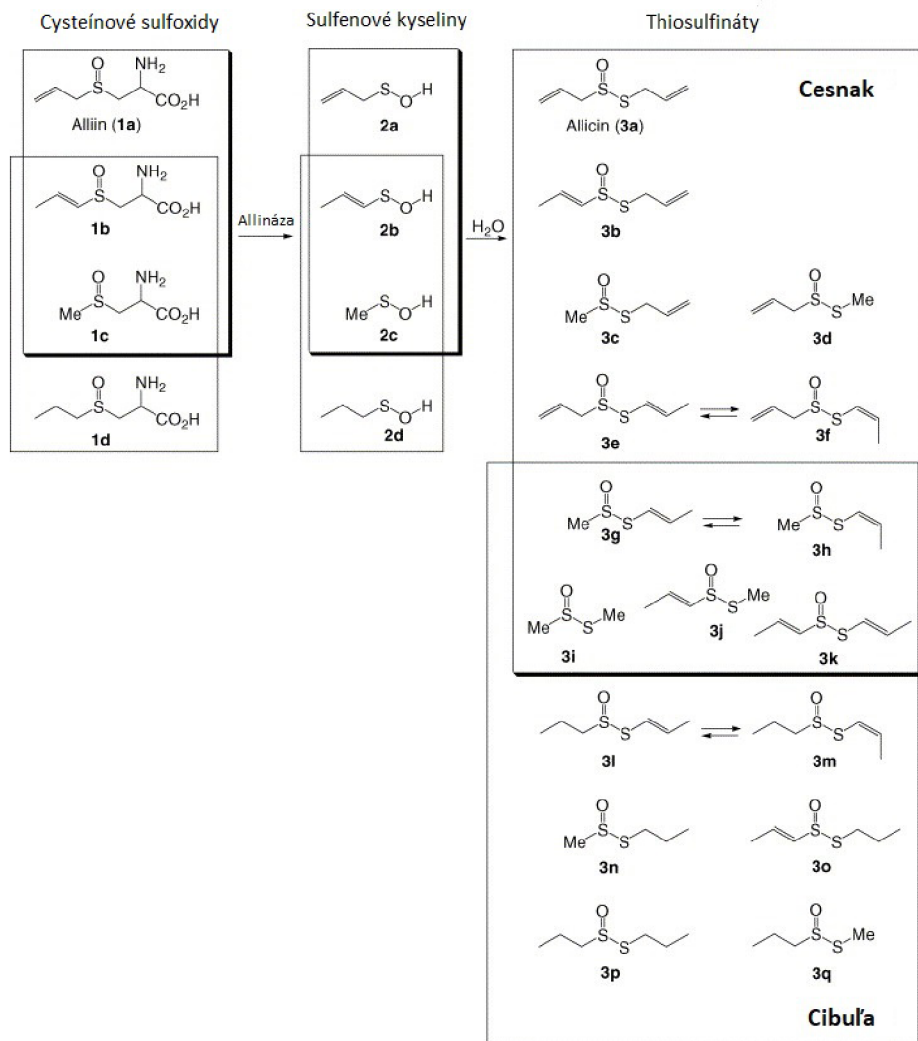
### 2.2.1 Organické sírne zlúčeniny

Východnou látkou všetkých sírnych derivátov v cesnaku a cibuli je alliin a jeho analógy. Sú to farmaceuticky neúčinné látky, účinné sú až produkty ich degradácie (thiosulfináty atď.) [1].

#### 2.2.1.1 Thiosulfináty

Thiosulfináty, sú najviac preštudovanými zlúčeninami, ktoré sú prítomné u všetkých rastlín rodu *Allium*. Tieto molekuly vznikajú z S-alk(en)yl-L-cystein-S-oxidov (**1a–1d**, Obr. 1), ktoré sa nachádzajú v cytoplazme. Reakcia je enzymaticky katalyzovaná allinázou a je iniciovaná porušením pletiva cesnaku a cibule. Medziproduktom sú sulfenové kyseliny (**2a–2d**, Obr. 1), vznikajúce C-S lyázou vo vakuolách. Tieto zlúčeniny sú veľmi reaktívne a okamžite kondenzujú za vzniku thiosulfinátov (**3a–3q**, Obr. 1) [4,7].

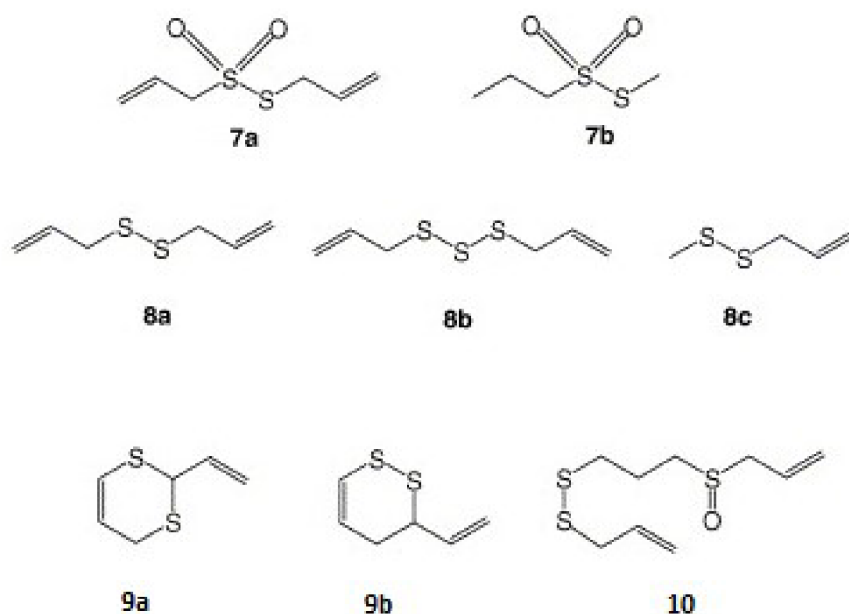
Obsahujú aj významné sírne aminokyseliny (methionin, cystein) a  $\gamma$ -glutamyl peptidy. Prvým objaveným sírnym prekursorom cibule bol v roku 1956 cykloalliin (5-methyl-1,4-thiazin-3-karboxy-S-oxid). Bola zistená nepriama úmera medzi obsahom isoalliinu a cykloalliinu. Obsah fenolických látok vykazoval pozitívnu koreláciu s obsahom cykloalliinu [8].



Obrázok 2: Biosyntetický vznik thiosulfinátov (prevzaté z [7])

Rastliny z rodu *Allium* sa medzi sebou líšia z hľadiska obsahu prekursorov a teda aj obsahu thiosulfinátov. U cibule je napríklad isoalliin (**1b**, Obr. 1) najviac zastúpený prekursor, ale alliin (**1a**, Obr. 1) je limitujúci. U cesnaku je zase limitujúca zlúčenina s propylovým reťazcom (**1d**, Obr. 1), ale alliin (**1a**, Obr. 1) je vo vysokom obsahu. Z alliinu vzniká allicin, preto cibuľa nemôže túto zlúčeninu produkovať vo významnom množstve. Zlúčeniny s prop-1-en-ylovým zvyškom na thio skupine (**3e**, **3f**, **3g**, **3h**, **3l**, **3m**, Obr. 1), existujú ako zmes cis a trans izomérov, kvôli sigmatropnému prešmyku [7].

Thiosulfináty sú nestabilné a vznikajú z nich ďalšie sírne deriváty. Sú to predovšetkým thiosulfonáty (**7a**, **7b**, Obr. 2), diallyl disulfidy a trisulfidy (**8a**, **8b**, **8c**, Obr. 2), vinyldithiiny (**9a**, **9b**, Obr. 2) a ajoeny (**10**, Obr. 2). Pri zahriatí na teplotu 100 °C vznikajú aj polysírne zlúčeniny [4,7].



Obrázok 3: Produkty degradácie thiosulfinátov (prevzaté z [7])

### 2.2.1.2 *Alliin a Alicin*

Allicin a alliin sú hlavnými sírnymi zlúčeninami obsiahnutými v rastlinách rodu *Allium*. Alicin je reaktívna látka, ktorá v rastline plní funkciu obrany proti prípadným škodcom a mikroorganizmom. Podmieňuje oxidáciu thiolov v bunkách (hlavne glutathionu a cysteínu v bielkovinách). V živom svete prebieha veľa reakcií naraz, pričom redoxný potenciál hraje významnú úlohu v kontrole týchto reakcií. Bunečný redox potenciál je kontrolovaný primárne GSH/GSSG redoxným párom (glutathion) a NAD(P)H/NAD<sup>+</sup> párom. Oxidácia týchto thiolových skupín (glutathionu) môže viesť ku zmenám v štruktúre proteínov, napríklad tvorbou disulfidickým mostíkov, čo má za následok stratu jeho funkcie. Čím viac sú tieto bunečné štruktúry oxidované, tým viac narastá redox potenciál, čo je pre správne fungovanie bunky nežiaduce [9,10].

Antimikrobiálne účinky allicinu sú (v závislosti na organizme a dávke) porovnateľné s  $\beta$ -laktámovými antibiotikami (penicilin, ampicilin). Alicin je ale účinný proti širšiemu spektru baktérií (účinkuje aj na Gram negatívne baktérie), navyše je efektívny aj proti rezistentným patogénom, ako *Staphylococcus aureus*, ktorý je často zodpovedný za infekcie v nemocničných zariadeniach. Alicin vykazuje okrem antimikrobiálnych aj fungicidné vlastnosti. Curtis et al. [11] napríklad testovali účinok cesnakových extraktov s definovaným množstvom alliicinu na poľnohospodárskych bakteriálnych (*Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora* atď.) a plesňových (*Botrytis cinerea*, *Alternaria brassicicola* atď.) škodcoch. U všetkých bol použitý extrakt obsahujúci 280  $\mu$ g allicinu a bol pozorovaný vznik menších či väčších inhibičných zón. Podobné environmentálne priateľské metódy ochrany poľnohospodárskych plodín, ako náhrada „umelých“ chemických postrekov, sú v dnešnej dobe propagácie organického pestovania žiadané [9,11,12].

Alicin je tiež priamo spojený s niektorými pozitívnymi účinkami na ľudský organizmus. Rozvoj kardiovaskulárnych ochorení ako napríklad aterosklerózy je často spojovaný s rôznymi oxidatívnymi procesmi (napr. oxidácia LDL, teda nízko hustotných lipoproteínov).

Allicin primárne vystupuje ako oxidačná látka, v nízkych koncentráciách je ale jej účinok opačný. Tento efekt je spôsobený tým, že jeho nízka koncentrácia indukuje expresiu detoxyficačných enzýmov, aktiváciou redox-senzitívnych transkripčných faktorov, čo ochráni bunku pred silnejšími oxidatívnymi zlúčeninami. Allicin dokáže tiež ovplyvniť biosyntézu cholesterolu tým, že kompetitívne inhibuje enzýmy skvalen-monooxygenáza a acetyl-CoA syntetáza. Vysoký krvný tlak môže byť tiež modulovaný allicinom. Je to spôsobené jeho vysokou reaktivitou, kedy komplexná reakčná kaskáda s thiolmi (glutathion) vedie ku vzniku sírovodíku, čo je signálna molekula ovplyvňujúca reguláciu krvného tlaku v organizme [13,14,15].

### **2.2.1.3 Sulfidy**

Sulfidy, disulfidy, trisulfidy, prípadne oligosulfidy sú látky bežne sa vyskytujúce v potravinách. Väčšinou sa jedná o alifatické zlúčeniny, ale poznáme aj cyklické. Rod *Allium* obsahuje predovšetkým allyl-sulfidy, čo sú lipofilné prchavé zlúčeniny, primárne zodpovedné za zápach po konzumácii cesnaku a cibule. Najvyšší obsah sulfidov nachádzame v skladovaných a vodnou parou destilovaných extraktoch [16,17,18].

### **2.2.1.4 Vinyldithiiny**

Sú to lipofilné, organosírne zlúčeniny (3-vinyl-4H-1,2-dithiin a 2-vinyl-4H-1,3-dithiin), nachádzajúce sa predovšetkým v olejových cesnakových macerátoch. Vznikajú beta elimináciou alllicinu a následnou diels-alderovou dimerizáciou z thioakroelinu. Sú popísané ich účinky na redukovanie diferenciácie preadipocytov na adipocyty a teda prevenciu obezity. Zároveň redukujú tvorbu zápalových molekúl ako interleukín-6, ktorých produkcia je spúšťaná makrofágmi [7,19].

### **2.2.1.5 Ajoeny**

Ajoeny sú tiež lipofilné zlúčeniny. Degradáciou alliinu v cesnaku vzniká predovšetkým 4,5,9-trithiadodeca-1,6,11-trién-9-oxid. Táto látka vykazuje optickú izomériu (E,Z). Je známy napríklad účinok ajoenu na zablokovanie tvorby oxidu dusnatého, zablokovaním exprese enzýmu iNOS v zápalovom prostredí. Tento proces je jedným z hlavných negatívnych sprievodných javov aterosklerózy [7,20].

## **2.2.2 Nesírne látky**

Cesnak a cibuľa obsahujú aj iné ako sírne látky. Ich existencia je významná predovšetkým preto, že sú stabilnej povahy. Ich obsah býva často variabilný a mnohé pôsobia terapeuticky [7].

### **2.2.2.1 Bielkoviny (enzýmy)**

Enzýmy sú látky bielkovinnej povahy, ktoré môžu ovplyvňovať rýchlosť chemických reakcií. V cibuli a cesnaku je v najvyššej miere obsiahnutý enzým alliináza. Alliináza je homodimerický glykoprotein, ktorý sa uvoľňuje z vakuol po narušení pletiva a katalyzuje biotransformáciu netekavých S-alk(en)yl-L-cystein-S-oxidov na sírne deriváty zodpovedné za typickú ostrú arómu. Pre správne fungovanie alliinázy je potrebný kofaktor pyridoxal fosfát, ktorý aktivuje pripojenie správnych substrátov. Samotná reakcia je založená na interakcii



medzi substrátom (alliin, isoalliin) a kovovým iontom  $M^+$ , ktorý sa nachádza v aktívnom mieste alliinázy [16,21].

V posledných pár rokoch sa allináza začala viac využívať v poľnohospodárstve, farmaceutike a potravinárstve. Používa sa napríklad imobilizovaná na N-sukcinylné chitosanových polyméroch, vápentom algináte alebo alginátových mikročasticách, kde katalyzuje premenu alliinu na allicin. Imobilizovaná môže byť využitá aj ako biosenzor, na monitorovanie obsahu cysteín sulfoxidov v potravinách. Binárne systémy s alliináзой a alliinom môžu byť použité na vytváranie allicinu in-situ, čo sa javí byť systémom s významným protirakovinovým lokálnym účinkom. Okrem rastlinných zdrojov je možné alliinázu získavať aj biotechnologickou produkciou z mikroorganizmov, ako *Penicillium corymbiferum*, alebo *Cupravidus necator* [22].

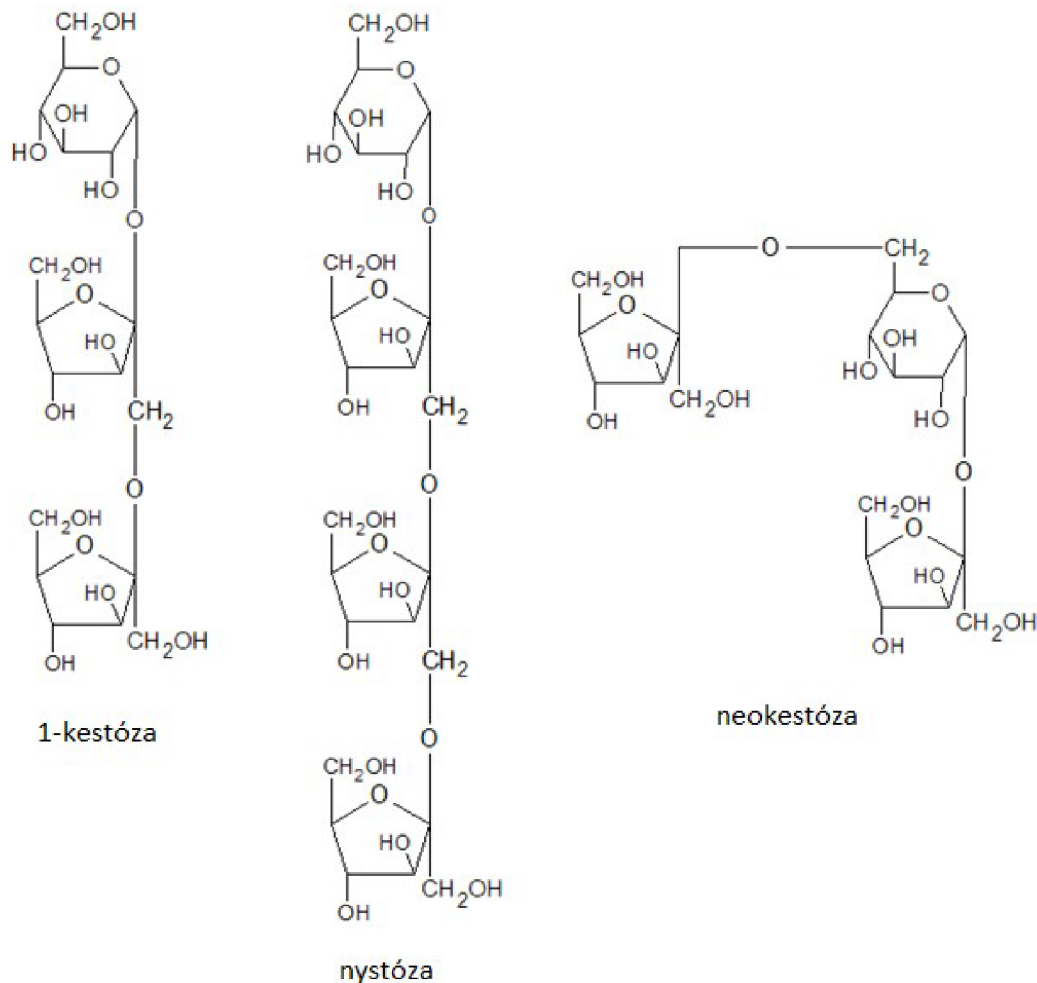
Okrem alliinázy obsahuje cesnak aj iné enzýmy. Napríklad myrosinázu, ktorá štiepi horčičné glykozidy. Tiež je, tak ako u všetkých organizmov prítomná adenosintrifosfatáza. Ďalej sú prítomné enzýmy fenylalanin-ammoniaklyáza (tvorba aromatických látok), polyfenoloxidáza (oxidácia fenolických látok), argináza (odbúravanie arginínu), peroxidáza (zmena farby v dôsledku prítomnosti kyslíka) a iné [1].

Okrem bielkovín obsahuje cibuľa a cesnak aj voľné (nesírne) aminokyseliny. Cibuľa obsahuje vo významnej koncentrácii voľné aminokyseliny arginín a kyselinu glutámovú. Ich obsah sa počas rastu zvyšuje, zatiaľ čo obsah ostatných aminokyselín zostáva konštantný. Predpokladá sa, že slúžia ako zdroj dusíku. Rastliny z rodu *Allium* tiež obsahujú niektoré aminokyseliny obsahujúce selén (napríklad selenocystein a selenomethionin) [16].

#### 2.2.2.2 Sacharidy

Rastliny z rodu *Allium* obsahujú sacharidy predovšetkým vo forme inulínov. Inulíny sa vo veľkej miere používajú ako aditívne látky v potravinách (cukorné a tukové náhrady). Okrem cibule a cesnaku sa vyskytujú aj v koreňoch čakanky alebo hlízach topinambur. Názvom inulíny, sa označujú polysacharidy zložené z lineárnych reťazcov D-fruktofuranóz (fruktany), obsahujúce zpravidla ako koncovú jednotku D-glukózu (glukofruktany). Vzájomne sú viazané  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2) glykozidovou väzbou. Pokiaľ majú fruktany molekulu zakončenú  $\alpha$ -D-glukopyranózou, označujú sa ako GF<sub>n</sub> (G = glukóza, F = fruktóza, n = stupeň polymerácie). Prototypom glukofruktanov inulínového typu je disacharid sacharóza. V enzýmovo aktívnych materiáloch sa inulín ľahko hydrolyzuje endogénnou inulínázou a vzniknuté monosacharidy sú degradované počas termických procesov. Z výživového hľadiska sa fruktany a glukofruktany radia medzi fyziologicky pozitívne pôsobiace nevyužitelné polysacharidy, nakoľko k ich vstrebávaniu nedochádza v tenkom čreve. Inulíny majú prebiotický efekt, teda selektívne podporujú rast a metabolickú aktivitu niektorých druhov baktérií hrubého čreva. Sú to predovšetkým rody *Bifidobacteria* a *Lactobacillus*. Stupeň polymerácie a vetvenie ovplyvňuje funkčné vlastnosti inulínov. Inulíny s vysokým stupňom polymerácie sú degradované dva krát pomalšie, ako tie s krátkym reťazcom (n < 10). Dlhoreťazcové inulíny môžu byť teda použité na selektívnu podporu rastu mikroflóry vo vzdialenejších častiach hrubého čreva. Jedlý podiel cibule (*Allium cepa* L.) obsahuje asi 1,1–7,5 % glukofruktanov a rovnaké množstvo fruktanov. Cesnak (*Allium sativum*) obsahuje 9–16 % glukofruktanov a 3,5–6,5 % fruktanov. Enzymatickou hydrolyzou inulínu vznikajú aj nízkomolekulárne oligosacharidy (so stupňom polymerácie 2–10) označované ako

fruktooligosacharidy. Vznikajúce fruktooligosacharidy sú predovšetkým trisacharidy 1-kestóza (základná jednotka typu GF<sub>n</sub>), neokestóza a tetrasacharid nystóza [23,24,25].



Obrázok 4: Základné fruktooligosacharidy vznikajúce hydrolyzou (prevzaté z [23])

### 2.2.2.3 Vitamíny a minerálne látky

Vitamíny sú organické nízkomolekulárne zlúčeniny syntetizované autotrofnými organizmami. V určitom minimálnom množstve sú nevyhnutné pre reguláciu metabolizmu človeka a látkovú výmenu. Niektoré vitamíny plnia funkciu kofaktorov enzýmov, iné sú antioxidantné látky, ďalšie sú kofaktory oxidačne-redukčných reakcií alebo hormóny. Najbežnejšie sa vitamíny delia na tie, ktoré sú rozpustné vo vode (B,C) a tie, ktoré sú rozpustné v tukoch (A,D,E,K) [17,26].

Ako minerálne látky sa v potravinách označujú prvky, ktoré nepatria do skupiny organogénnych prvkov (C,H,O,N,P,S), fosfor a síra tvoria výnimku (patria do oboch skupín). Podiel minerálnych látok u väčšiny potravín tvorí 0,5–3 hm. %. Minerálne látky bývajú súčasťou enzýmov, kostí, nervových buniek, niektoré majú vplyv na krvný tlak, alebo hladinu glukózy v krvi. Obsah majoritných vitamínov a minerálnych látok cibule a cesnaku je uvedený v Tabuľke 4 [17,26].

Tabuľka 4: Obsah vitamínov a minerálnych látok v 100 g jedlého podielu cesnaku a cibule [6]

<b>Vitamíny</b>	Cesnak	Cibuľa
Kyselina L-askorbová (C)	31,2 mg	7,4 mg
Thiamin (B1)	0,2 mg	0,0 mg
Riboflavin (B2)	0,1 mg	0,0 mg
Niacin (B3)	0,7 mg	0,1 mg
Pyridoxin (B6)	1,2 mg	0,1 mg
Folacin (B9)	3,0 µg	19,0 µg
<b>Minerálne látky</b>		
Vápnik	181,0 mg	23,0 mg
Železo	1,7 mg	0,2 mg
Horčík	25,0 mg	10,0 mg
Draslík	401,0 mg	146,0 mg
Sodík	17,0 mg	4,0 mg
Zinok	1,2 mg	0,2 mg
Fosfor	153 mg	29 mg

Zo všetkých štyroch stereoizomérov vitamínu C, vykazuje biologickú aktivitu iba L-askorbová kyselina. V chemických reakciách vystupuje predovšetkým ako donor elektrónov, podieľa sa na biosyntéze mukopolysacharidov, prostaglandinov, stimuluje transport sodných a chloridových iónov. Okrem toho má aj významné antioxidačné vlastnosti. Reaguje s aktívnymi formami kyslíku a tiež s oxidovanými formami vitamínu E, ktorý chráni membránové lipidy pred oxidáciou. Dospelým ľuďom vo veku 19–65 rokov sa doporučuje prijímať 45 mg vitamínu C za deň [17,27].

Thiamin je tvorený pyrimidínovým cyklom spojeným methylenovou väzbou s dusíkom thiazolového kruhu. Po prijatí z potravy je esterifikovaný na thiamindifosfát a následne funguje ako koenzym thiamin pyrofosfátu v metabolizme sacharidov a aminokyselín. Doporučená dávka u dospelých žien vo veku 19–65 rokov je 1,1 mg/deň a u mužov 1,2 mg/deň [17,27].

Základný skelet riboflavínu tvorí isoalloxazinové jadro, na ktoré je v polohe N-10 naviazaný ribitol. V ľudskom organizme dochádza k premene riboflavínu na flavinmononukleotid a flavinadenindinukleotid a následne tieto látky tvoria komplexy s flavoproteínovými dehydrogenázami a oxidázami, ktoré vystupujú v metabolických dráhach. U dospelých žien vo veku 19–65 rokov sa doporučuje denná dávka 1,1 mg a u mužov 1,3 mg [17,27].

Niacin je spoločným označením pre nikotínovú kyselinu a jej amid nikotínamid. Nikotínamid je súčasťou redoxných koenzýmov, nikotínamidadenindinukleotid (NAD) a jeho fosforečného esteru (NADP), resp. ich redukovanej a oxidovanej formy. U dospelých žien vo veku 19–65 rokov je doporučená denná dávka 14 mg a u mužov 16 mg [17,27].

Názvom pyridoxin sa súhrne označuje skupina troch štruktúrne príbuzných látok 3-hydroxy-5-hydroxymethyl-2-methylpyridínu a ich fosfátov. Metabolicky aktívnou formou je pyridoxal-5'-fosfát, ktorý funguje ako koenzým množstva enzýmov (napr. aminotransferáz,

dekarboxyláz) vystupujúcich v metabolizme aminokyselín. U dospelých ľudí do 51 rokov sa doporučuje denná dávka vo výške 1,3 mg [17,27].

Spoločným označením biologicky aktívnych derivátov kyseliny listovej je folacin. Aktívnou formou je 5,6,7,8-tetrahydrofolová kyselina, ktorá vystupuje predovšetkým ako prenášač jednouhlíkatých funkčných skupín. Doporučená denná dávka u dospelých ľudí je 400 µg [17,27].

Telo dospelého človeka obsahuje až 1 kg vápnika, pričom viac ako 99 % je uložených v kostiach vo forme fosforečnanu vápenatého. Okrem tuhosti kostí vystupuje vápnik napríklad aj v procese sťahovania svalstva, diferenciácii buniek a imunitných reakciách. Existujú silné dôkazy o tom, že nedostatok vápnika je zodpovedný za osteoporózu. Doporučená dávka u ľudí vo veku 19–65 rokov je 1 g [27,28].

V priemernom 70 kg mužovi sú obsiahnuté približne 4 g železa. Je viazané predovšetkým v krvi (hemoglobín), pečeni a obličkách (ferritin a homosiderin). Železo plní nezanedbateľnú funkciu pri transporte a skladovaní kyslíka a enzymatických reakciách. Je veľmi ťažké formulovať jednotnú doporučenú dennú dávku, nakoľko je táto hodnota závislá od faktorov ako hmotnosť a biologická dostupnosť železa v strave [27,29].

Horčík je v ľudskom tele rozložený na asi 30–40 % v svaloch a mäkkom tkanive, 1 % je v extracelulárnej tekutine a zvyšok v kostiach. V mäkkom tkanive funguje ako kofaktor množstva enzýmov spriahnutých s energetickým metabolizmom, alebo syntézou proteínov. Nedostatok horčíka sa spája s kardiovaskulárnymi ochoreniami ako ateroskleróza alebo ischemická choroba srdca. Doporučená denná dávka u žien vo veku 19–65 rokov je 220 mg a u mužov 260 mg [27,30].

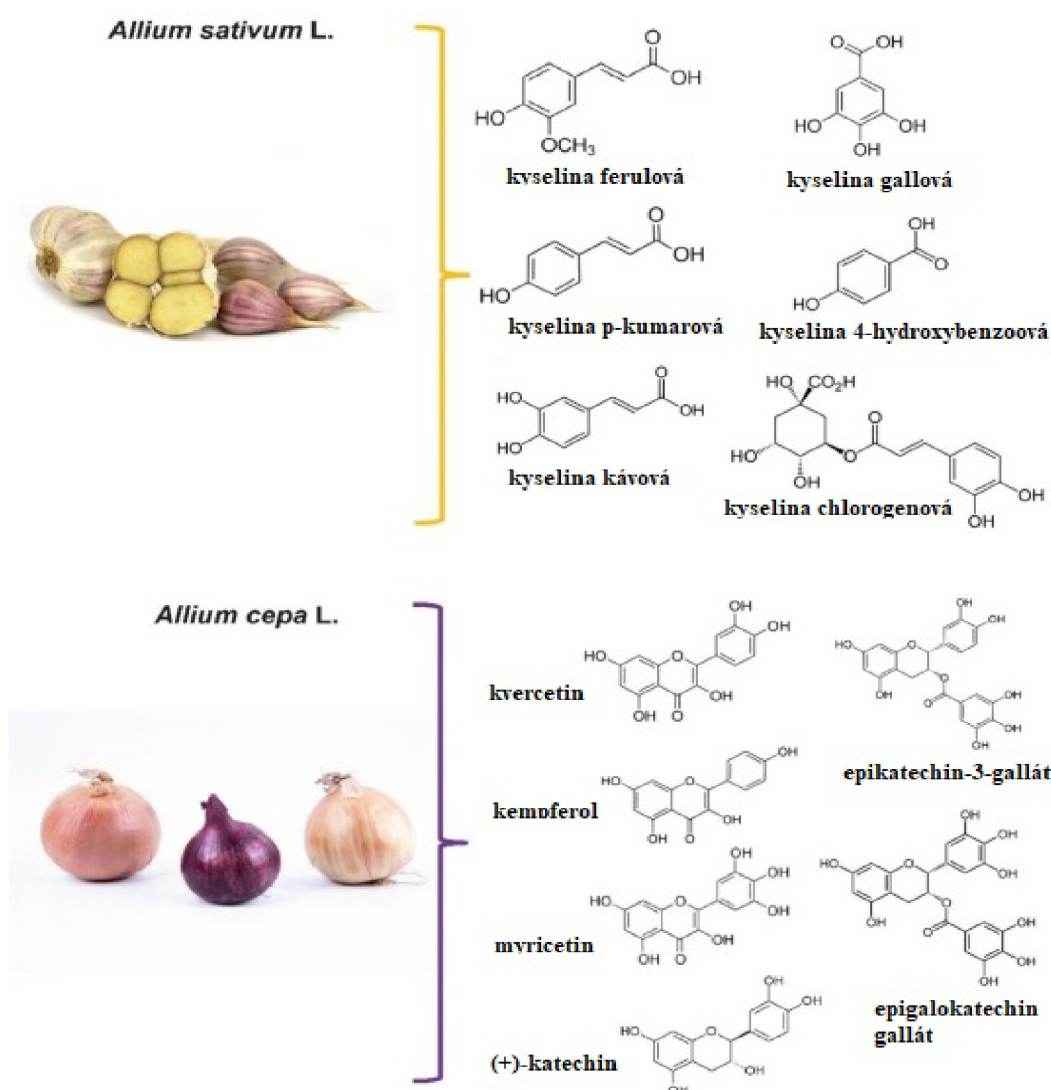
Celkový obsah draslíka v ľudskom tele je asi 140–180 g a sodíka asi 70–100 g. Ich hlavnou funkciou je udržiavať s chloridom ako protiónom osmotický tlak tekutín mimo a vnútri buniek a zároveň udržiavať acidobázickú rovnováhu. Okrem toho sú potrebné aj na aktiváciu niektorých enzýmov. Štúdia od Aaron et al. [31] zistila, že vysoký príjem sodíka vo forme kuchynskej soli má veľa nepriaznivých účinkov na ľudský organizmus (vysoký krvný tlak, endotelová dysfunkcia, rozvoj obličkových ochorení), zvýšený príjem draslíka má ale opačný efekt a tieto príznaky potláča. WHO doporučuje u dospelých ľudí dennú dávku sodíku maximálne 2 g (5 g kuchynskej soli) a draslíka minimálne 3,5 g za deň (u ľudí s kardiovaskulárnymi chorobami sa doporučuje viac) [17,31,32,33].

Množstvo zinku v ľudskom organizme sa odhaduje na 2 g a nachádza sa vo všetkých tekutinách a tkanivách. Je nepostradateľnou súčasťou viac ako 300 enzýmov, ktoré sa zúčastňujú na metabolizme všetkým makronutrientov. Zinok tiež tvorí komplexy s peptidovým hormónom pankreasu, inzulínom. V závislosti na type stravy (kvôliologickej dostupnosti zinku) sa doporučuje u dospelých ľudí denný príjem zinku v rozsahu 36–144 µg na kilogram hmotnosti za deň [17,27].

Fosfor tvorí približne 0,65 až 1,1 % ľudského organizmu, pričom až 85 % sa nachádza v kostiach. Je tiež obsiahnutý vo fosfolipidoch červených krviniek a lipoproteínoch krvnej plazmy. Je potrebný pri tvorbe proteínov, ktoré zabezpečujú rast a opravu buniek. Okrem toho má nezanedbateľnú úlohu v procese tvorby energie vo forme ATP, spolu s vitamínom B podporuje funkčnosť obličiek, reguluje srdečný tep a nervové signály. Pre ľudí vo veku 19–30 rokov sa odporúča denný príjem fosforu 580 mg [26,86].

### 2.2.2.4 Fenolické zlúčeniny

Fenolické látky sa nachádzajú takmer vo všetkých potravinách rastlinného pôvodu. Tvoria veľmi heterogénnu skupinu chemických zlúčenín, z ktorých sa niektoré uplatňujú ako chuťové látky (napr. kondenzované triesloviny - flavolany), niektoré ako vonné látky (napr. deriváty fenolových kyselín) a iné ako prírodné farbivá (napr. flavonoidy). Fenolické látky sa klasifikujú ako tzv. primárne antioxidanty, teda predovšetkým reagujú s voľnými radikálmi. V kontexte potravín je to dôležité hlavne kvôli oxidácii lipidov, kedy vznikajú rôzne prchavé degradačné produkty (aldehydy a ketóny). Odovzdaním svojho vodíkového protónu dokážu zastaviť radikálovú reakciu v iniciačnom alebo propagačnom kroku. Môžu tiež tvoriť prirodzené obranné látky rastlín, tzv. fytoalexiny (allicin nepatrí do tejto skupiny látok, ale do skupiny tzv. fytoanticipinov). Jednoduché fenoly sú toxické látky (majú nefrotoxické účinky, blokujú oxidatívnu fosforyláciu) [13,17,34].



Obrázok 5: Fenolické látky cesnaku a cibule (prevzaté z [35])

Flavonoidy sú rozsiahlou podskupinou rastlinných fenolických látok obsahujúca približne 4000 zlúčenín. Niektoré flavonoidy sú známe ako prírodné rastlinné farbivá, iné pre svoju

trpkú a horkú chuť. V molekule sa vyskytujú 2 benzénové jadrá v usporiadaní C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. U väčšiny flavonoidov je C<sub>3</sub> reťazec súčasťou pyranového kruhu. Sú odvodené od 2H-chroménu, substituovaného v polohe C-2 fenylovou skupinou. Kruhy bývajú ďalej bežne substituované hydroxy a methoxy skupinami. Flavonoidy sa bežne delia na 7 skupín. Obsah flavonoidov sa môže naprieč rastlinnou ríšou značne líšiť. Míean et al. [36], napríklad testovali 62 jedlých rastlín na obsah flavonoidov (myricetinu, kvercetinu, kaempferolu, luteolinu, a apigeninu). Najvyšší obsah bol nameraný u cibule (1497,5 mg·kg<sup>-1</sup> kvercetinu, 391,0 mg·kg<sup>-1</sup> luteolinu, a 832,0 mg·kg<sup>-1</sup> kaempferolu). U zeleniny sa kvercetin vyskytuje primárne vo forme glykozidu [17,36].

Cibuľa obsahuje aj zlúčeniny zo skupiny flavonolov a anthokyanidínov. Z flavonolov bolo zatiaľ identifikovaných asi 25 rôznych látok, pričom deriváty kvercetinu bývajú u všetkých druhov v najvyššom zastúpení. Anthokyanidínov bolo u červenej cibule objavených tiež asi 25. Najviac boli zastúpené kyanidínové glykozidy acylované kyselinou malonovou [37].

### 2.3 Pestovanie a technologické spracovanie

Hlavným kvalitatívnym ukazateľom cesnaku a cibule je okrem chuti aj obsah nutrične významných a bioaktívnych látok. Ich obsah sa mení v závislosti na spôsobe pestovania, odrode, geografickej polohe, skladovacích podmienkach, spôsobe konzumácie a iných faktoroch. Zásadný vplyv na kvalitu cesnaku po zbere má aj technologické spracovanie a tiež samotná mechanická a tepelná úprava pred konzumáciou. Klimatické podmienky, výber správneho hnojiva, zavlažovanie a čas zberu sú tiež dôležitými faktormi určujúcimi finálnu kvalitu produktu [1,38,39].

#### 2.3.1 Odroda a spôsob sadby

Výber správnej odrody vzhľadom na klimatické podmienky a žiadanú kvalitu je kľúčovým faktorom. V Českej republike je momentálne registrovaných asi 117 odrôd cibule. Na výsadbu sa používa čerstvé osivo, kvôli jeho krátkej životnosti. Cibuľa sa väčšinou vysádza technológiou priameho výsevu na jar, alebo v neskoro v lete. Cesnak sa vysádza, v závislosti na odrode od rannej jeseni až do jari. Hĺbka výsadby u cesnaku sa určuje podľa veľkosti strúčikov, veľké sa sadia do väčšej hĺbky (5-10 cm) ako malé (2-3 cm) [1,2].

Hirata et al. [40] testovali 103 odrôd cesnaku pochádzajúcich z rôznych krajín, ale pestovaných za rovnakých podmienok. Sledovaný bol obsah S-allyl-cystein sulfoxidov a celkových fenolických látok. Zistili, že aj keď boli odrody pestované za rovnakých podmienok a geografickej polohe, obsah skúmaných látok sa výrazne líšil. Ich záverom bolo, že odlišnosti sú spôsobené adaptáciou odrody na pre ňu nepriaznivé klimatické podmienky a rozdielnou farbou odrôd [40].

Caruso et al. [38] zase sledovali obsah kvalitatívnych ukazovateľov cibule v závislosti na čase a hustote sadby. U sledovaných znakov bol pozorovaný rozdielny trend. Obsah sušiny, glukózy, fruktózy, rafinózy, kyseliny citrónovej, fenolických látok a vitamínu C bol konštantný. Koncentrácia kyseliny šťavelovej a sacharózy sa zvyšovala priamo úmerne s časom sadby. Obsah kyseliny pyrohroznovej (indikátor ostroti), vápnika, chloridov a dusičnanov sa naopak znižoval s neskorším časom sadby. Hustota vysadenia mala významný vplyv iba na veľkosť hlavic cibule. U najmenej hustej výsadby (21,2 pt·m<sup>-2</sup>) vyrástli najväčšie hlavice. Bolo tiež zistené, že vonkajšie obalové vrstvy mali viac ako

dvojnásobný obsah fenolických látok, oproti vnútorným, bez ohľadu na čas a hustotu výsadby [38].

### 2.3.2 Podmienky pestovania

K pestovanie cibulovej zeleniny sú najvhodnejšie rovinaté pozemky s južnou alebo juhovýchodnou orientáciou a piesčitohlinitými, hlinitopiesčitými, prípadne hlinitými pôdami. Cibuloviny patria k rastlinám menej náročným na vlahu, ale v období klíčenia a vzchádzania je potrebné zavlažovať viac. Dôležitý je aj dostatočný prístup vzduchu [1,2].

Klimatické podmienky počas rastu ovplyvňujú obsah niektorých látok. Beato et al. [39] sledovali zmeny v obsahu fenolických látok v desiatich odrodách pestovaných na štyroch miestach s odlišnými podmienkami. Zistili, že celkový obsah fenolových a ferulových kyselín nebol ovplyvnený polohou, ale obsah vanilinových, p-kumarových a p-hydroxybenzoových kyselín bol rozdielny. Martins et al. [41] zase zistili, že obsah aliinu, fruktánov a iných sírných zlúčenín tiež závisí na odrode a podmienkach pestovania [39,41].

Dostatok vlahy je dôležitý faktor pri pestovaní každej plodiny. Csiszár et al. [42], ale zistili, že malý deficit vody počas rastovej fázy môže mať za následok pozitívnu zmenu v obsahu a aktivite zdravotne prospešných látok [42].

Cesnak je plodina náročná na výživu. Správne koncentrácie dusíka, fosforu a draslíka v hnojive sú kľúčové na dosiahnutie vysokej kvality. Síra je najdôležitejšou zložkou výživy, nakoľko sa podieľa na tvorbe bioaktívnych zlúčenín ako aliin, cystein, glutathion a iných. Bolo zistené, že hnojenie sírnymi zlúčeninami pozitívne ovplyvňuje obsah aliinu v cesnaku, hnojenie s vysokým obsahom dusíku má opačný efekt [43,44].

Veľmi dôležitým faktorom je aj fáza rastu v ktorej sa cesnak počas zberu nachádza. V skorých fázach rastu je aliin uložený predovšetkým v listoch, kde dochádza k jeho biosyntéze z cysteínu. Počas dozrievania dochádza k presunu aliinu do cibulky. Neskorý zber môže mať teda za následok vyšší obsah aliinu a jeho analógov v hlave cesnaku [41].

### 2.3.3 Skladovanie

Základnými požiadavkami na cibuľu a cesnak určených na skladovanie je dobrá vyzretosť, dobrý zdravotný stav bez viditeľného napadnutia chorobami a škodcami a nízka úroveň mechanického poškodenia. Skladovacie priestory musia byť zariadené tak, aby bolo možné kontrolovať a spomaliť rastové procesy, čoho sa dá dosiahnuť úpravou vlhkosti, teploty a svetla. Optimálne skladovacie podmienky cibule a cesnaku sú uvedené v Tabuľke 5. V niektorých krajinách sa na zvýšenie trvanlivosti cesnaku využíva gama žiarenie v dávkach od 1 do 10 kilorentgenov [1,2].

Tabuľka 5: Optimálne skladovacie podmienky [2]

Druh	Minimálna teplota (°C)	Maximálna teplota (°C)	Vlhkosť (%)	Vetranie	Uchovateľnosť (dni)
Cibuľa	-3	2	65–75	Silné	150–240
Cesnak	0	2	60–70	Silné	140–240

Štúdia od He et al. [45] sledovala účinok obalového materiálu na kvalitu strúčikov cesnaku skladovaných pri  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas 180 dní. Testovaných bolo 5 druhov bežne používaných obalových materiálov. Boli sledované parametre ako: rýchlosť klíčenia, elektrická vodivosť, intenzita dýchania, obsah vody a zmeny v štruktúre. Zistilo sa, že PET, PE a AKP materiály efektívne inhibovali klíčenie a chránili štruktúru pletív. PE obal taktiež najlepšie ochránil bunecné membrány pred poškodením, inhiboval dýchanie (spolu s SKP) a na konci experimentu obsahoval najvyšší jedlý podiel [45].

Iná štúdia, od Han et al. [46], sledovala aký vplyv na kvalitu cibule (*Allium fistulosum L.*) má uroveň poškodenia pletiva a teplota skladovania. Testovaná cibuľa bola rozrezaná na plátky o rôznej veľkosti ( $0,33\text{ m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $0,67\text{ m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $1,14\text{ m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$ ) a skladovaná pri teplote  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (7 dní) a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (2 dni). Výsledky ukázali, že väčšie poškodenie pletív a vyššie teplota skladovania mali za následok zrýchlené dýchanie, vyššie straty na hmotnosti a obsahu kyseliny askorbovej. Na druhej strane vykazovali aj vyšší obsah fenolických látok, aktivitu PAL a celkovú antioxidačnú kapacitu [46].

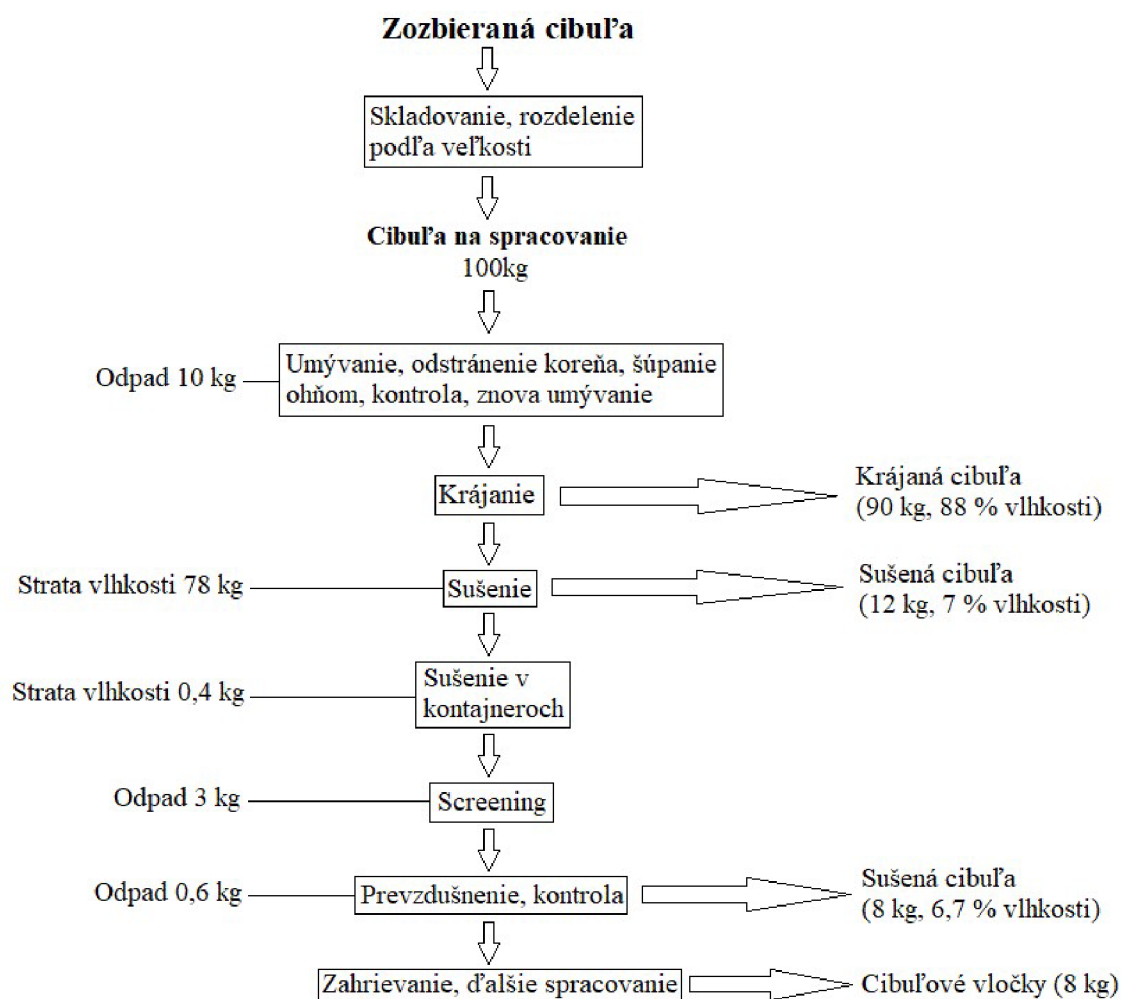
Obsah flavonoidov v cibuli je výrazne ovplyvnený spôsobom skladovania. Bolo zistené, že skladovanie pri teplote  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 5 mesiacov malo za následok zvýšenie obsahu glykozidu kvercetínu o 50%. Zvýšená teplota mala za následok aj zvýšenie akumulácie etylenu, ktorý podporuje tvorbu enzýmu PAL, zodpovedného za biosyntézu fenolických látok [47].

#### **2.3.4 Spracovanie cibule**

Na globálnom trhu sa dá kúpiť okrem čerstvej aj sušená cibuľa v rôznych formách, napríklad ako vločky, krúžky, granule alebo prášok. Rôzne reštauračné zariadenia rady využívajú tieto produkty, vďaka ich jednoduchšej skladovateľnosti a použitia v pokrmoch. Svetovými lídrami v produkcii dehydratovaných foriem cibule sú USA, India a Čína. Na sušenie sa väčšinou používajú biele odrody cibule, pretože dávajú oveľa vyššie výťažky v porovnaní s červenými a žltými, ktoré v technologickom procese strácajú farbu. Komerčne sa na sušenie využíva teplý vzduch. Samotný proces sušenia je obvyčajne rozdelený na 3 časti, kedy sa teplota znižuje priamo úmerne so znižujúcim sa podielom vody ( $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $55\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Jednoduchá schéma výroby dehydratovaných cibuľových produktov je zobrazená na Obrázku 6 [48,49].

Pri použití sušenia teplým vzduchom ale dochádza k obrovským stratám tepelnej energie do okolia. S výhodou je teda možné využiť aj sušenie infračerveným žiarením. Má mnoho výhod, ako zníženie času sušenia, lepšiu energetickú účinnosť, lepšiu kvalitu produktu, jednotnú teplotu v celom objeme alebo zbavenie sa nutnosti vytvárania prúdu vzduchu. Takto sušené plátky cibule sa tiež lepšie rehydratujú, čo svedčí o ich vyššej kvalite [49].





Obrázok 6: Výroba sušených cibuľových produktov (prevzaté z [48])

### 2.3.5 Spracovanie cesnaku

Práškové a granulátové formy cesnaku sú v dnešnej dobe veľmi vyhľadávanou komoditou. Používajú sa napríklad na zlepšenie chuti potravín, prípadne maskovanie nežiadúcich príchuťí. Sušené formy majú nižšie nároky na skladovanie a manipuláciu ako čerstvé. Klasický priemyselný spôsob spracovania je veľmi podobný ako u sušenej cibule. Suší sa vyhriatym vzduchom vo vákuových sušiarňach, obyčajne pri 60 °C. Pri vyšších teplotách dochádza k nežiadúcemu hnednutiu. Vločky sa sušia do 4 % vlhkosti, následne môžu byť spracované na prášok. Cesnaková múčka by mala byť voľne sypateľná, veľkosť zŕn by nemala byť menšia ako 10 mikrometrov, nakoľko má jemnejšie mletie sklon spôsobovať rýchlejšiu oxidáciu [1,50,51,52].

Klasické metódy sušenia teplom sa ukazujú ako neefektívne, v dôsledku tepelnej nestability allicinu. Štúdia Puranik et al. [53] porovnávala účinok rôznych techník sušenia na kvalitu cesnaku. Porovnávané bolo sušenie teplým vzduchom, mikrovlnné sušenie, lyofilizácia a sušenie na fluidnom loži. Najlepšie výsledky z hľadiska kvality cesnaku a straty vlhkosti dosiahlo sublimačné sušenie, nasledované sušením na fluidnom loži, konvenčným sušením a posledné bolo mikrovlnné sušenie [50,51, 53].

K podobnému záveru prišla aj štúdia od Shafiur et al. [54], ktorá sledovala antimikrobiálny účinok cesnakového prášku, vyrobeného rôznymi technikami sušenia. Porovnávané bolo sušenie vyhriatym vzduchom, vákuové sušenie a sublimačné sušenie na 5 bakteriálnych druhoch. Zistili, že vyššia teplota sušenia mala za následok zníženie antimikrobiálnej aktivity. Lyofilizovaný produkt vykazoval, najlepšie antimikrobiálne vlastnosti [54].

Li et al. [55] zase porovnávali účinok vákuového mikrovlnného sušenia a sublimačného sušenia na obsah allicinu v práškovom cesnaku. Za použitia optimálnych podmienok bolo dosiahnutých výsledkov porovnateľných so sublimačným sušením. Zároveň bola použitá metóda enkapsulácie. Takto enkapsulovaný allicin bol stabilný aj v simulovanom kyselom prostredí žalúdka (HCl, pH 1,2) [55].

## **2.4 Falšovanie potravín**

Problém falšovania produktov siaha hlboko do minulosti a bezprostredne nadväzuje na technologický rozvoj ich výroby. Hlavným motívom falšovania je dosiahnutie ekonomického prospechu a výhody na úkor poctivých výrobcov a obchodníkov, spotrebiteľa alebo štátu. Ďalšími dôvodmi môžu byť sezónnosť a celoročná dostupnosť určitej potraviny, geo-politické udalosti alebo zlé vonkajšie podmienky počas pestovania. Primárnymi znakmi falšovania je klamanie spotrebiteľa, prípadne odberateľa alebo nezhoda s legislatívnymi požiadavkami, pričom je toho dosiahnuté zámerne. Okrem porušenia potravinového práva môže byť falšovanie spojené aj s nezákonnými aktivitami (napr. predaj nekontrolovaných, nelicencovaných výrobkov) a ohrozením ľudského zdravia (napríklad prídavok melaminu do mliečnych výrobkov, prídavok ethylenglykolu do vína). Tabuľka 5 uvádza hlavné spôsoby falšovania potravín. Podľa správy Európskeho parlamentu z roku 2013 patria medzi najviac falšované potraviny zostupne olivové oleje, ryby, bio potraviny, mlieko, obilniny, med a javorový sirup, kava a čaj, korenie, víno a ovocné šťavy [56,57,58].

Tabuľka 6: Spôsoby falšovania potravín [56]

Kategória	Podkategória	Príklad
Čiastočná alebo úplná náhrada drahej suroviny alebo zložky lacnejšou	Prídavok alebo riedenie lacnejšou surovinou alebo prídavok adulterantu	Riedenie vína, mlieka alebo ovocnej šťavy vodou
	Nepravdivé označenie geografického pôvodu	Vydávanie šumivého vína za šampanské
	Nepravdivé označenie botanického pôvodu, druhu a odrody	Náhrada kozieho alebo ovčieho mlieka kravským
	Použitie inej ako deklarovanej technológie alebo spôsobu produkcie	Vydávanie rafinovaného oleja za olej lisovaný za studena (panenský olej)
	Nepravdivá deklarácia pôvodu alebo zloženia za účelom zníženia daní alebo cla	Spracovanie denaturovaného liehu do liehovín
Prídavok adulterantu za účelom maskovania nízkej kvality	Zlepšenie farby	Prifarbenie paprikového oleoretinu červeným farbivom Sudan
	Zlepšenie chuti	Nedeklarovaná aromatizácia
Odstránenie autentickej a cennej zložky	Izolácia cholesterolu z vaječných žĺtkov alebo kapsaicínu z papriky	

#### 2.4.1 Legislatíva v oblasti falšovania potravín

Národná aj európska legislatíva týkajúca sa ochrany spotrebiteľa pred falšovaním potravín vychádza z nariadenia (ES) č. 178/2002, ktorým sa stanovujú zásady a požiadavky potravinového práva. Od neho sú potom odvodené jednotlivé národné zákony o potravinách a príslušné komoditné nariadenia, vyhlášky a ďalšie doplnky. Cieľom potravinového práva je chrániť záujmy spotrebiteľov a poskytovať im vedecký základ, na základe ktorého budú vyberať potraviny, ktoré chcú konzumovať. V oblasti klamania spotrebiteľa, alebo uvádzania spotrebiteľa v omyl je najviac relevantným dokumentom nariadenie Európskeho parlamentu č. 1169/2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom.

Článok 7 hovorí, že potravina nesmie byť zavádzajúca hlavne:

- pokiaľ ide o charakteristiky potraviny a zvlášť o jej povahu, totožnosť, vlastnosti, zloženie, množstvo, trvanlivosť, zem pôvodu alebo miesto spôsobu výroby a získania
- pripisovaním účinku alebo vlastností, ktoré daná potravina nemá
- vyvolávaním dojmu, že daná potravina má zvláštne charakteristiky, pokiaľ všetky podobné potraviny majú v skutočnosti rovnaké charakteristiky

Článok 22 uvádza, že množstvo zložky alebo skupiny zložiek použitých pri výrobe alebo príprave potraviny sa uvedie, pokiaľ je daná zložka alebo skupina zložiek:

- uvedená v názve potraviny alebo ju spotrebiteľia s týmto názvom obvykle spájajú
- na etikete zdôraznená slovami, vyobrazením alebo grafickým znázornením

- dôležitá pre charakterizáciu potraviny a pre jej odlišenie od výrobkov, s ktorými by mohla byť zamenená kvôli svojmu názvu alebo vzhľadu

Európska legislatíva tiež rozoznáva a chráni niektoré tradičné poľnohospodárske produkty a potraviny ochrannými označeniami. Tými sú: chránené zemepisné označenie (CHZO), chránené označenie pôvodu (CHOP) a zaručená tradičná špecialita (ZTS) [56,59].

#### **2.4.2 Metódy hodnotenia autenticity a detekcie falšovania potravín**

Postupy pre hodnotenie autenticity potravín môžeme rozdeliť do dvoch skupín. V prvej kategórii sú zavedené kontrolné postupy založené na kontrole záznamov a dokumentov, v rámci princípu dosledovateľnosti u producentov, spracovateľov a distribútorov. Druhý postup je založený na kontrole konkrétnych kvalitatívnych znakov u jednotlivých výrobkov. Existuje veľké množstvo metód, ktorými sa dajú analyzovať individuálne znaky a látky, ktoré sú spojené s pôvodom, zložením a spôsobom spracovania potraviny. Praktickým problémom ale je, že niektoré znaky sú spojené aj s inými faktormi, ktoré priamo s autenticitou nesúvisia (napríklad spôsob pestovania, chovu alebo ročné obdobie). Na praktické overovanie falšovania potravín sa využívajú jednoduché metódy ako senzorická analýza (posúdenie chuti, vône, vzhľadu, konzistencie), klasické chemické a fyzikálne metódy (stanovenie hmotnosti, sušiny/vlhkosti, dusíka/bielkovín, popola, formolového čísla, tuku, pH) a tiež zložitejšie inštrumentálne metódy (chromatografické a separačné techniky, spektroskopické a spektrometrické metódy, biochemické, imunochemické metódy, izotopové metódy). Okrem týchto „klasických“ metód sa v posledných rokoch rozvíjajú aj nové ako napríklad metabolomika, fingerprinting, profilovanie, cieleňá analýza metabolitov, foodomika a proteomika. Na dokázanie falšovania potraviny je obvyčajne potrebné prevedenie niekoľkých alebo aj celého komplexu analýz. Vždy záleží na tom, akého charakteru domnelé falšovanie je a ako sofistikovane bolo zamaskované [56,57].

#### **2.4.3 Falšovanie bylín a korenia**

Najväčšiu časť celosvetovej produkcie bylín a korenia zaberá Ázia (81%). Predtým, ako sa tieto produkty dostanú vo svojej finálnej podobe ku koncovému spotrebiteľovi, prejdú väčšinou dlhým a komplexným dodávateľským reťazcom. V jednotlivých častiach tohoto reťazca môže potenciálne dochádzať k falšovaniu (Obrázok 7). Základným predpokladom na zabránenie a prípadné odhalenie takéhoto podvodu je monitorovanie a kontrola výroby a spracovania od pestovateľa až po spotrebiteľa. V roku 2016 sa cesnak stal potenciálne rizikovou plodinou z hľadiska falšovania. Bolo to spôsobené silnými dažďami a snežením v Číne ku koncu roku 2015, čo malo za následok prudké zvýšenie jeho ceny [58].

Najpožívanejšími analytickými metódami na odhalenia falšovania u bylín a korenia sú kvapalinová chromatografia, PCR, infračervená a Ramanova spektroskopia. Infračervená spektroskopia v spojení Fourierovou transformáciou bola napríklad úspešne použitá na detekciu škrobu v obohatenom cesnakovom prášku [58,60].



Obrázok 7: Možnosti falšovania bylín a korenia (prevzaté z [58])

## 2.5 Inštrumentálne metódy

V dôsledku stále zvyšujúceho sa počtu odhalených prípadov falšovania potravín, je nutné zavádzať a zlepšovať aj analytické metódy, ktoré sú schopné ich odhaliť. Tie, ktoré sú relevantné pre túto diplomovú prácu sú uvedené v tejto kapitole.

### 2.5.1 Metódy prvkovej analýzy

Pri hodnotení kvality potravín nás často zaujíma obsah jednotlivých prvkov. Existuje množstvo metód, ktoré sa používajú na dôkaz, alebo stanovenie samostatných prvkov, prípadne menších skupín. Patria sem metódy volumetrické, vážkové, destilačné, titračné, potenciometrické a iné. Poznáme tiež veľkú skupinu spektrometrických metód, ktoré dokážu okrem samostatných prvkov stanoviť aj komplexné prvkové zloženie [61,77].

Atómová absorpčná spektrometria (AAS) je metóda založená na meraní úbytku elektromagnetického žiarenia, spôsobeného absorpciou voľnými atómami prvku, ktoré musia byť v plynnej fázi. Analyticky významné sú predovšetkým intenzívne rezonančné prechody vychádzajúce zo základných energetických hladín elektrónov. K prevedeniu vzorky do

plynnej fázi a jej následnej atomizácii väčšinou dochádza v plameni, elektrotermicky, alebo v kremenných atomizátoroch. AAS je vysoko špecifická metóda, ktorou je možné stanoviť približne 70 prvkov (kovy aj niektoré nekovy), pričom medze detekcie sa u komerčných prístrojov pohybujú okolo  $1 \cdot 10^{-3}$  až  $1 \cdot 10^{-1}$  mg·ml<sup>-1</sup> v závislosti na type AAS a type použitého atomizačného zdroja [77,78].

Rentgenová spektrometria je označenie skupiny metód, ktoré je tiež možné využiť pri prvkovej analýze. Po dodaní dostatočnej energii atómu dôjde k vyrazeniu elektrónu z niektorej jeho vnútornej energetickej hladiny na vonkajšiu, pričom vzniknutá diera (vakancia) je okamžite zaplnená elektrónom z vyšších vnútorných hladín a rozdiel energie je emitovaný vo forme rentgenového žiarenia. Atómy sú v tejto metóde excitované urýchlenými elektrónmi alebo fotónmi, pričom sa väčšinou preferuje druhá možnosť, nakoľko pri ňom nevzniká spojité žiarenie, ktoré zťažuje následné vyhodnocovanie spektra. Rentgenová spektrometria je vhodná pre pevné vzorky a patrí k nedeštruktívnym metódam [77,78].

Hmotnostná spektrometria je veľmi účinná analytická technika, ktorá sa pri spojení s indukčne viazanou plazmou používa na prvkovú alebo izotopovú analýzu. Základným spojovacím prvkom oboch metód je tzv. interface, ktorý zabezpečuje vstup iónov z plazmy (atmosférický tlak) do hmotnostného analyzátoru (vákuum). K separácii iónov dochádza na základe ich rozdielneho pomeru hmotnosti a náboja. Hlavným problémom tejto metódy je tzv. hmotnostná interferencia, pri ktorej dochádza k detekovaniu molekulových iónov z plazmy a rozpúšťadla v pozadí (O<sup>2+</sup>, Ar<sup>2+</sup>), ktoré sú registrované pri rovnakej atómovej hmotnostnej jednotke ako niektoré prvky [77,78].

Atómová emisná spektrometria je založená na detekcii žiarenia emitovaného excitovanými atómami alebo iónmi a je bližšie popísaná v samostatnej kapitole [77].

### **2.5.1.1 Mineralizácia**

Mineralizácia je všeobecne rozklad organickej hmoty na jednoduché anorganické látky. Rozlišujeme dva základné spôsoby mineralizácie a to suchou cestou (spopolnenie) a mokrou cestou. Ak nás zaujíma obsah neprchavých prvkov, obvyčajne volíme spopolnenie. Samotný proces prebieha väčšinou s prídavkom látok, ktoré spopolnenie materiálu uľahčujú (octan horečnatý, dusičnan horečnatý). Nasledne dochádza k žihaniu v elektrickej peci pri vhodnej teplote (450–550 °C). Ďalší postup už býva rôzny, podľa stanovovaného prvku. Mineralizácia mokrou cestou je založená na spálení materiálu silnými anorganickými kyselinami (sírová, chloristá, dusičná). Väčšinou sa používa ak nás zaujíma stanovenie prchavých prvkov [61].

### **2.5.2 Optická emisná spektrometria s indukčne viazaným plazmatom**

Optická emisná spektrometria s indukčne viazaným plazmatom je jednou z najviac používaných a rozvíjajúcich sa inštrumentálnych metód multielementárnej analýzy, schopnou stanoviť väčšinu známych prvkov v rôznorodých matriciach. Okrem toho sa ICP-OES používa aj v spojení s inými, napr. chromatografickými technikami [79].

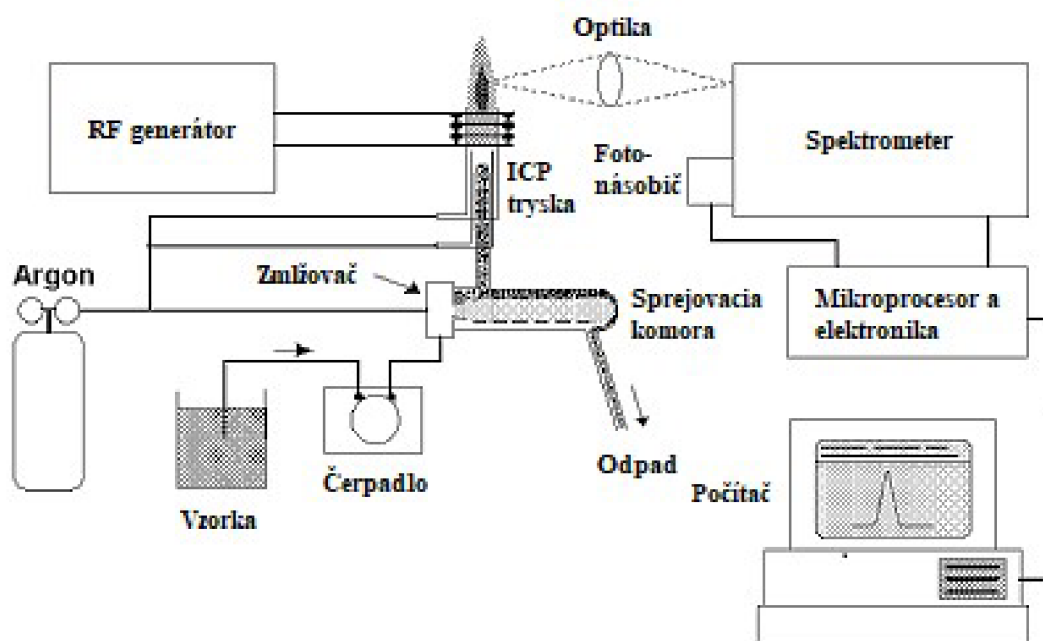
#### **2.5.2.1 Princíp metódy**

Emisná spektrometria je fyzikálna metóda vhodná na určenie kvalitatívneho a kvantitatívneho zloženia látok. Je založená na detekcii žiarenia, ktoré vyžiaria excitované atómy a ióny skúmaného prvku pri prechode elektrónov v týchto atómoch z vyšších energetických hladín

na nižšie. Rozkladom vysielaného polychromatického žiarenia monochromátorom sa získa čiarové spektrum. Emitované žiarenie je pre každý prvok charakteristické. Poloha čiar v spektre hovorí o kvalitatívnom zložení vzorky, intenzita čiar zase hovorí o kvantitatívnom obsahu jednotlivých prvkov [62,80].

### 2.5.2.2 Inštrumentácia

Optický emisný spektrometer je obyčajne zložený z častí uvedených na Obrázku 8. Je to peristaltické čerpadlo, zmlžovacie zariadenie, plazmový zdroj, spektrometer a vyhodnocovacia jednotka. Samotný proces sa môže mierne líšiť podľa toho, akého skupenstva je vzorka. Pre vzorky kvapalného skupenstva platí nasledovný všeobecný postup. Vzorka je nasávaná peristaltickým čerpadlom do zmlžovača, kde sa zmieša s nosným plynom (väčšinou argón) a vzniká aerosol. Ťažšie kvapky odchádzajú do odpadu, ľahšie sú unášané ďalej do plazmovej hlavice, kde dochádza k excitácii atómov a iónov v plazme, ktorú vytvára vysokofrekvenčné magnetické pole a argón. Emitované žiarenie vstupuje do spektrometra, v ktorom je odfiltrované žiarenie vybranej vlnovej dĺžky a nakoniec je snímané opticky citlivým detektorom. Vyhodnocovacia jednotka potom na základe odozvy detektora poskytne výsledný analytický signál [78,79,81].



Obrázok 8: Inštrumentácia ICP OES (prevzaté z [67])

### 2.5.2.3 Zmlžovacie zariadenie

Vzorka je do ICP výboja transportovaná vo forme vlhkého či suchého aerosolu. Takýto spôsob zavádzania vzorky je vždy spojený s množstvom problémov ako je neúplne vyparenie rozpúšťadla, alebo ovplyvnenie stability výboja, v dôsledku čoho vznikajú interferencie a zhoršuje sa presnosť a správnosť merania. Podľa spôsobu zmlžovania delíme zmlžovacie prístroje na dve skupiny a niekoľko podskupín:

- Zmlžovanie závislé na prietoku nosného plynu (Pneumatické zmlžovače)
  - Kapilárne zmlžovače (koncentrický, uhlový)
  - Zmlžovače na Babingtonovom princípe (žlábkový, sieťkový, fritový)

- Zmlžovanie nezávislé na prietoku nosného plynu
  - Vysokotlaká tryska
  - Hydraulický vysokotlaký zmlžovač
  - Tepelný zmlžovač
  - Ultrazvukový zmlžovač

Materiál mlžnej komory a zmlžovača musí odpovedať použitému rozpúšťadlu a kyselinám. Rôzne kombinácie materiálov vykazujú rozdielnú citlivosť a medze detekcie. Najčastejšie sa používajú celosklenené, plastové alebo ich kombinácia [78,81].

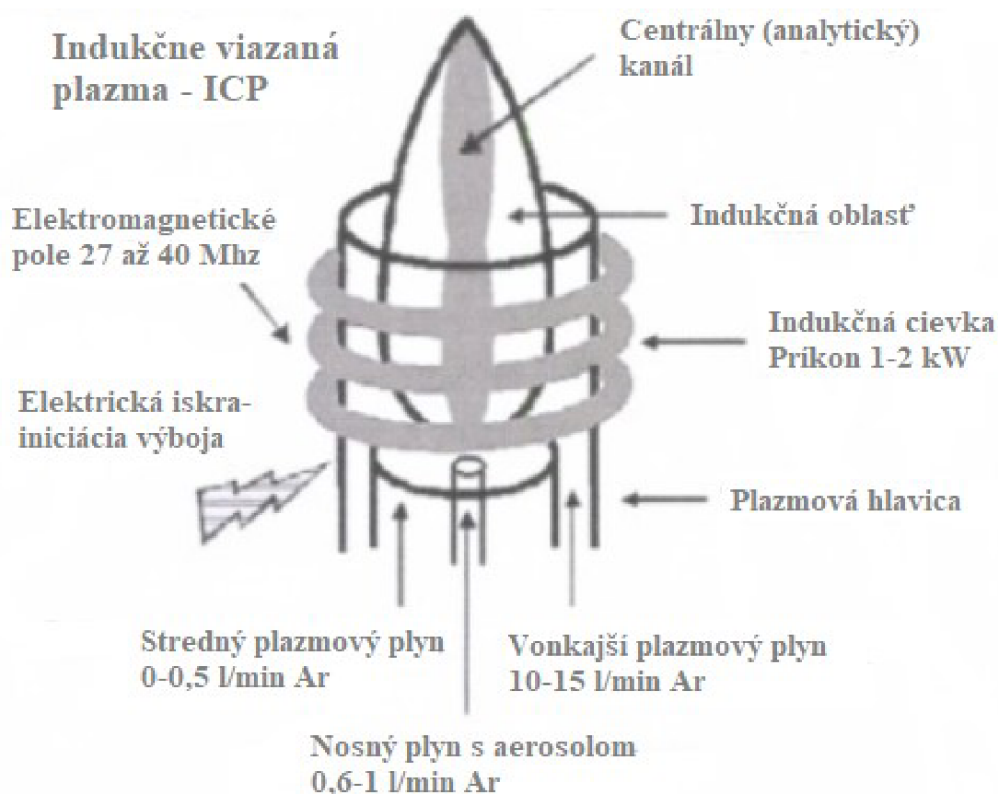
Najpoužívanjšie prístroje na generovanie aerosolu z roztoku sú pneumatiké zmlžovače so zmlžovaním závislým na prietoku nosného plynu. Aerosol vzniká účinkom plynu prúdiaceho malým otvorom na kvapalinu, ktorá je privádzaná pred túto trysku pri pomere rýchlosti prúdenia plynu a kvapaliny približne  $10^3$ . Najbežnejšie zmlžovače sú kapilárne, ktoré sú vhodné pre zmlžovanie roztokov bez mechanických nečistôt a s nižším obsahom solí. Hlavným nedostatkom pneumatikých zmlžovačov je ich závislosť na objemovom prietoku pracovného plynu [81].

U ultrazvukových zmlžovačov neovplyvňuje privádzaný plyn tvorbu aerosolu, len rýchlosť jeho transportu do ICP. Produkovaný aerosol vykazuje malú strednú hodnotu priemeru častíc (1–5  $\mu\text{m}$ ). Roztok vzorky je nasávaný na transduktor tvorený piezoelektrickým kryštálom, ktorý je budený oscilátorom. Tlakové pulzy potom vyvolávajú trieštenie kvapalinového filmu na jemné častice aerosolu. Samotná účinnosť generovania aerosolu býva až 10 krát vyššia ako u konvenčných pneumatikých zmlžovačov [81].

#### **2.5.2.4 Plazmový zdroj ICP**

Plazma je všeobecne kvazineutrálny plyn (napr. argón) nabitých a neutrálnych častíc a je elektricky vodivá. Indukčne viazaná plazma (Obrázok 9) vzniká indukčným prenosom vysokofrekvenčnej energie z budiaceho generátora cievkou, ktorá obyčajne predstavuje 2–3 závitov primárneho vinutia transformátora, plazma tvorí vinutie sekundárne. Kovom indukčnej cievky prechádza rádiový elektrický prúd, ktorý vytvorí magnetické pole s vektorom intenzity rovnobežným s kremennou trubicou ICP trysky. Elektróny vnútri kremennej trubice sú vzniknutým poľom urýchlené a svoju energiu predávajú atómom plynu (argónu), ktorý sa zahrieva a ionizuje. K predávaniu energie dochádza za spoluúčasti elektrónov o vysokej energii a ionizovaných atómov nosného plynu, prípadne jeho atómov v metastabilnom stave. Počiatkový výboj ICP je iniciovaný ionizáciou iskrovým výbojom Teslovho transformátora. Vznikajúca plazma má tvar toroidu (prstenca), jej stredom (analytickým kanálom) prúdi aerosol vzorky. Plazmová hlavička je tvorená tromi koaxiálnymi kremennými trubicami. Vnútorou trubicou je spolu s nosným plynom privádzaný aerosol vzorky, strednou prúdi plazmový plyn (Ar) a vonkajšou trubicou je privádzaný chladiaci plyn (Ar alebo  $\text{N}_2$ ). Plazma sa dá vytvoriť z akéhokoľvek plynu, v praxi sa ale dáva prednosť vzácnyim plynom, nakoľko majú jednoduché spektrá, netvoria stabilné zlúčeniny a ich vysoké hodnoty ionizačnej energie umožňujú účinnú ionizáciu väčšiny prvkov. Teplota plazmy závisí na pozorovanej oblasti výboja. Na rozhraní plazmového prstenca môže teplota dosahovať až 10000 K, v analytickom kanále 3500 K [78,81].





Obrázok 9: Indukčne viazaná plazma (prevzaté z [81])

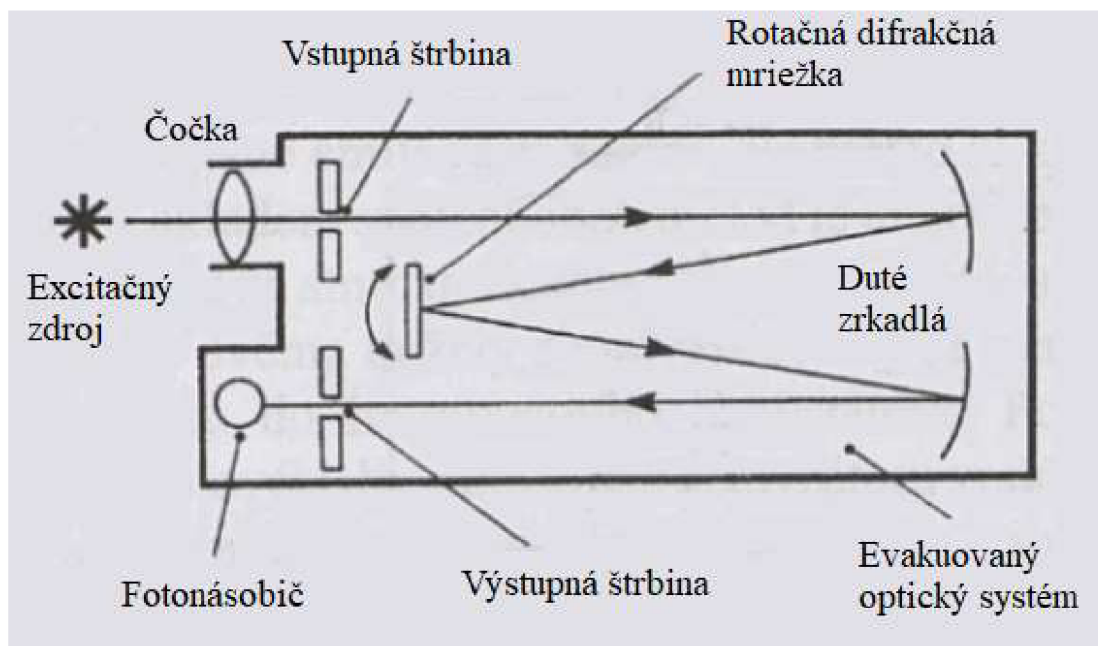
#### 2.5.2.5 Spektrometer

Spektrometer slúži k separácii žiarenia podľa vlnových dĺžok a k meraniu emisie spektrálnych čiar. Najviac používanými sú tieto typy spektrometrov:

- Spektrometre s rovinnou mriežkou montáže Czerny-Turner
- Spektrometre s konkávnou mriežkou Paschen-Runge
- Spektrometre s mriežkou typu echelle a deličom spektrálnych rádov (hranol)

Spektrometer typu Czerny-Turner sa skladá z osvetľovacej sústavy, vstupnej štrbiny, zrkadlového objektívu kolimátoru, difrakčnej mriežky, zrkadlového objektívu kamery, výstupnej štrbiny a detektora [78,81].

Polychromatické žiarenie vychádzajúce zo vzorky vstupuje štrbinou do optickej časti prístroja a disperzným prvkom je rozložené na monochromatické lúče. Na detekčnej ploche potom vzniká súbor monochromatických obrazov vstupnej štrbiny ako príslušné spektrum. Štrbina je tvorená dvomi pohyblivými britmi, ktorých šírka sa spravidla pohybuje v tisícinách až stotínach milimetrov [78,81].



Obrázok 10: Sekvenčné usporiadanie optických emisných spektrometrov (prevzaté z [78])

#### 2.5.2.6 Detektor

Úlohou detektora je meranie intenzity žiarenia, ktoré je emitované vzorkou a odfiltrované monochromátorom. V dnešnej dobe sa skoro výhradne používajú fotoelektrické detektory, ktoré prevádzajú optický signál na elektrický. Jedným z nich je emisný fotoelektrický článok. Tieto články pracujú na princípe vonkajšieho elektrického javu. Dopadajúce fotóny vyrážajú z povrchu fotokatódy elektróny, ktorých prúd smeruje k anóde. Ten je potom zosilovaný zaradením dynód medzi katódu a anódu. Potenciálový spád riadi pohyb elektrónov z fotokatódy na prvú dynódu, z ktorej povrchu sú vyrazené dva elektróny, ktoré pokračujú na ďalšiu dynódu a proces sa opakuje. Na anódu potom dopadá až 8000 krát väčší prúd ako na samotnú fotónku. Výsledný elektrický signál nakoniec registruje vyhodnocovacie zariadenie [80].

#### 2.5.2.7 Interferencie ICP

O tom, ako veľmi sa bude zhodovať signál meranej vzorky a štandardu o rovnakej koncentrácii môže rozhodovať veľa rušivých vplyvov (interferencií), ktoré zásadne ovplyvňujú výsledok a správnosť merania. Rozlišujeme spektrálne a nespektrálne interferencie [79,81].

Pri použití spektrometrov s axiálnym pozorovaním je pravdepodobné, že pri stanovovaní hlavných zložiek dochádza na citlivých čiarach k saturácii detektorov žiarenia. Čiary niektorých prvkov okrem toho vykazujú samoabsorpciu. Spektrálne interferencie môžeme rozdeliť nasledovne:

- Priamy prekryv dvoch alebo viacerých čiar.
- Čiary sú nerozlíšené v dôsledku malej rozlišovacej schopnosti spektrometra
- Čiastočný prekryv analytickej čiary krídlom rozšírenej interferujúcej čiary
- Žiarenie pozadia
- Rozptyl svetla

Nespektrálne interferencie sú interferencie osnovy vzorky. Súvisia buď s transportným systémom alebo s plazmatom. Tieto interferencie ovplyvňuje veľa parametrov:

- Konštrukcia a frekvencia oscilátora
- Konfigurácia plazmovej hlavice
- Zloženie a prietoky plynov
- Príkon do plazmatu
- Zobrazenia výboja a výška pozorovania

Vplyv interferencií je možné eliminovať optimalizáciou podmienok merania a prípravy vzoriek [79,81].

### 2.5.3 Stanovenie hrubej bielkoviny Kjeldahlovou metódou

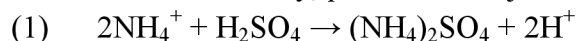
Metóda podľa Kjeldahla je jednou z najčastejšie používaných metód na stanovenie bielkovín v potravinách. Je založená na stanovení celkového dusíku, pričom jej výsledkom je obsah tzv. hrubej bielkoviny (zahŕňa v sebe aj dusík z látok nebielkovinnej povahy) [61].

#### 2.5.3.1 Mineralizácia podľa Kjeldahla

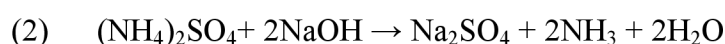
Prvým krokom je mineralizácia podľa Kjeldahla. Tento spôsob mineralizácie patrí k tzv. mokrým, rozklad organickej prebieha za prítomnosti koncentrovanej kyseliny sírovej, za teploty varu kyseliny a prídavku vhodného katalyzátora (oxid meďnatý, síran meďantý alebo selén). Mineralizácia prebieha v špeciálnych Kjeldahlových bankách [61,62].

#### 2.5.3.2 Princíp metódy

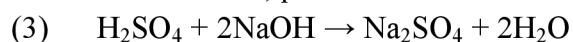
V aminokyselinách prítomný dusík vo forme iminoskupiny aj aminoskupiny sa mineralizáciou prevedie na síran amonný, podľa reakčnej rovnice 1:



Následne sa zo síranu amonného uvoľní amoniak 30% roztokom hydroxidu sodného podľa rovnice 2:



Toto klasicky prebieha v Parnas-Wagnerovom destilačnom prístroji, kde je amoniak predháňaný vodnou parou. Dnes už ale existujú aj moderné sofistikované prístroje, ktoré okrem vysokej účinnosti aj šetria čas. Amoniak sa jíma do predlohy, ktorá obsahuje definovaný nadbytok kyseliny sírovej. V predlohe opäť dochádza k reakcii 1. Prebytok kyseliny sa potom stanoví titračne štandardizovaným roztokom hydroxidu sodného na indikátor metylčerveň alebo Tashiro, podľa rovnice 3.



Po odčítaní prebytku kyseliny z celkového množstva sa vypočíta obsah dusíka. Ten sa potom prepočíta na obsah hrubej bielkoviny vynásobením univerzálnym faktorom 6,25. Okrem tohoto faktora sa na prepočet používajú aj iné, v závislosti na charaktere potraviny [61,63].

### 2.5.4 Chromatografické metódy

Chromatografické metódy patria k separačným metódam, ktoré tvoria významnú skupinu inštrumentálnych metód so širokým uplatnením v analytickej praxi. Sú charakteristické vysokou selektivitou a sú vhodné predovšetkým na analýzu komplexných vzoriek so zložitou maticou. Všetky chromatografické metódy pracujú na rovnakom princípe a to na distribúcii delených látok v zmesi medzi dve nemiešateľné fázy, mobilnú (pohyblivú) a stacionárnu

(nepohyblivú). Aby bola možná distribúcia medzi týmito fázami, musí existovať fázové rozhranie. Pri delení látok potom dochádza k opakovanému ustavovaniu rovnováhy analyzovaných látok medzi mobilnú a stacionárnu fázu. Separácia a elúcia jednotlivých zložiek zmesi je teda ovplyvnená povahou oboch fáz [62,82,83].

### 2.5.5 Vysokoučinná kvapalinová chromatografia

Ako vyplýva z názvu, u kvapalinovej chromatografii je mobilnou fázou kvapalina. Stacionárnou fázou môže byť buď tuhá látka alebo kvapalina ukotvená na tuhom nosiči. Základným cieľom HPLC je dosiahnutie čo najlepšieho rozdelenia látok v čo najkratšom čase. Vysokéj účinnosti separačného procesu sa dosahuje použitím kolón naplnených stacionárnou fázou o malej veľkosti častíc. Pre dosiahnutia dostatočného prietoku mobilnej fázy je nutné použiť pretlak desiatky MPa. Najčastejším usporiadaním kvapalinovej chromatografie je práve HPLC, kedy je mobilná fáza privádzaná do systému čerpadlom za vysokého tlaku [77,82,83].

#### 2.5.5.1 Retenčné charakteristiky

Pre identifikovanie a kvantifikovanie látok pri chromatografických metódach sa najčastejšie používajú ich retenčné charakteristiky. Najzákladnejšou charakteristickou veličinou každej delenej látky je retenčný čas. Je to doba, ktorá uplynie od nástreku vzorky, do dosiahnutia maximálnej hodnoty elučnej krivky (píku). Pri chromatografickej separácii je retenčný čas kvalitatívnou charakteristikou látky a plocha pod píkom, alebo výška píku je kvantitatívnou charakteristikou [77,82].

Účinnosť charakterizuje mieru rozširovania elučných zón delených na kolóne a používa sa teda na hodnotenie účinnosti separačného procesu. Mierou účinnosti je tzv. počet teoretických poschodí. Táto veličina nie je konštantná pre určitú kolónu a je závislá na retenčnom čase, dĺžke kolóny, rýchlosti prietoku mobilnej fázy, veľkosti častíc náplne, teplote a viskozite mobilnej fázy. Pre porovnanie rôznych kolón sa potom používa tzv. výškový ekvivalent teoretického poschodia, ktorý je možné definovať ako dĺžku kolóny pripadajúcu na jedno poschodie [77,82].

#### 2.5.5.2 Chromatografická separácia

Rozdelenie analytov môže byť dokonalé alebo nedokonalé. Mieru kvality separácie dvoch susedných píkov charakterizuje parameter rozlíšenie. Je udávané ako rozdiel retenčných časov delený priemernou hodnotou šírky píkov. Čím je hodnota vyššia, tým dochádza k lepšej separácii. Rovnica 4 uvádza rozšírený vzťah pre rozlíšenie pri izokratickej elúcii.

$$(4) \quad R_{1,2} = \frac{\sqrt{N}}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k}{1 + k} \right)$$

Rozlíšenie kolóny je teda závislé na počte teoretických poschodí ( $N$ ), selektivite ( $\alpha$ ), čo je pomer časov, ktoré dve separované látky strávia v stacionárnej fázi a retenčom faktore ( $k$ ), ktorý vyjadruje pomer časov, ktoré analyt strávi v stacionárnej a mobilnej fáze. Najúčinnnejším spôsobom ako ovplyvniť rozlíšenie je upraviť selektivitu. Druhou možnosťou je predĺženie kolóny, teda zvýšenie počtu teoretických poschodí. Pre rovnaký účinok na rozlíšenie ako ovplyvnením selektivity by ale musel byť počet teoretických poschodí zväčšený

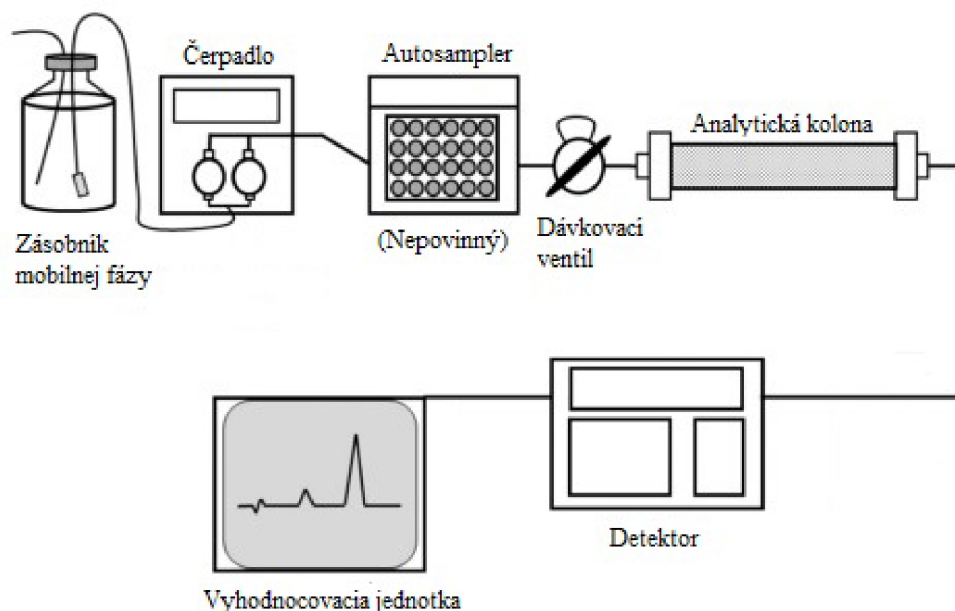
8 krát. Zvýšenie retenčného faktora má na rozlíšenie najmenší vplyv, zároveň dochádza k nežiadúcemu predlžovaniu času analýzy [77,82].

### 2.5.5.3 Princíp metódy

Základným princípom HPLC je distribúcia zložiek medzi stacionárnu a mobilnú fázu. Stacionárna fáza je umiestnená v chromatografickej kolóne vo forme sorbentu. Mobilná fáza obsahujúca analyzované látky preteká týmto sorbentom. Separované zóny analytov vychádzajúce z kolóny sú zaznamenané pri priechode detektorom a signál je prevedený do podoby chromatografického záznamu (chromatogramu) [82].

### 2.5.5.4 Inštrumentácia

Základný kvapalinový chromatograf sa skladá zo zásobníka mobilnej fázy, vysokotlakého čerpadla, autosampleru, dávkovacieho ventilu, analytickej kolóny, detektoru a vyhodnocovacej jednotky (Obrázok 11). Väčšinou tiež obsahuje odplyňovač MF, zmiešavač MF (gradientová elúcia), termostat. Ak nás zaujímajú jednotlivé frakcie, môže ešte obsahovať zberač frakcií umiestnený za detektorom. Pri izokratrickej elúcii je mobilná fáza po odplynení priamo nasávaná do vysokotlakého čerpadla. Pri gradientovej elúcii je ešte do systému zaradený zmiešavač, ktorý zmieša roztoky zo zásobných fliaš podľa nastaveného programu. Môžu byť tiež použité dve vysokotlaké čerpadlá, kedy by bol zmiešavač zaradený až za tieto čerpadlá. MF je ďalej vedená cez zariadenie dávkujúce vzorku (dnes sa dáva prednosť automatickým autosamplerom pred manuálnym dávkovaním) do termostatom vyhrievanej kolóny. Po separácii zložiek analytu postupuje MF ďalej do detektoru, z ktorého je analytický signál odoslaný do vyhodnocovacej jednotky [77,82].



Obrázok 11: Inštrumentácia HPLC (prevzaté z [65])

### 2.5.5.5 Transport a príprava mobilnej fázy

Mobilná fáza je uchovávaná v zásobníkoch. Použitie mobilnej fázy značne závisí na analyzovanej vzorke, nakoľko sa v nej musí rozpúšťať. Rozpúšťadlá používané ako MF

môžeme zoradiť podľa elučnej sily. Najmenšiu elučnú silu má voda a najvyššiu by mali nasýtené uhľovodíky. Vyššia elučná sila znamená schopnosť eluovať zložku z kolóny v kratšom retenčnom čase. Vhodnej elučnej sily sa dá dosiahnuť miešaním rôznych rozpúšťadiel. V chromatografii s obrátenými fázami sa používajú mobilné fázy polárnejšie ako stacionárne, napr. metanol, acetonitril, dioxan. V systéme s normálnymi fázami sa používajú menej polárne MF, väčšinou ide o zmes dvoch rozpúšťadiel s odlišnou polaritou. Mobilná fáza musí byť pred vstupom do kolóny odplynená, aby pri zmene tlaku nedochádzalo v kolóne a na výstupe z nej k uvoľneniu rozpustených bubliniek. V dnešnej dobe sa na odplyňovanie MF väčšinou používa prebublávanie hélíom, alebo vákuový degasser. Tiež je nutné tlmiť tlakové pulzy spôsobené čerpadlom. Čiastočne môžu byť odstránené zaradením ďalšej hlavy čerpadla, alebo zaradením tlmiča pulzov, ktorý pracuje na princípe zachycovania tlakových rázov odporovými, alebo kapacitnými elementmi [77,82].

#### **2.5.5.6 Vysokotlaké čerpadlo**

Základnou vlastnosťou každého dobrého čerpadla používaného v HPLC je stabilný prietok mobilnej fázy. Principiálne môžu byť používané čerpadlá rozdelené do dvoch skupín podľa toho, či pracujú pri konštantom tlaku alebo konštantnom objemovom prietoku. Čerpadlá musia byť tiež konštruované tak, aby odolávali aj agresívnym mobilným fázam. Použitelnými u HPLC sú čerpadlá piestové, membránové, pneumatické a injekčného typu [77,82].

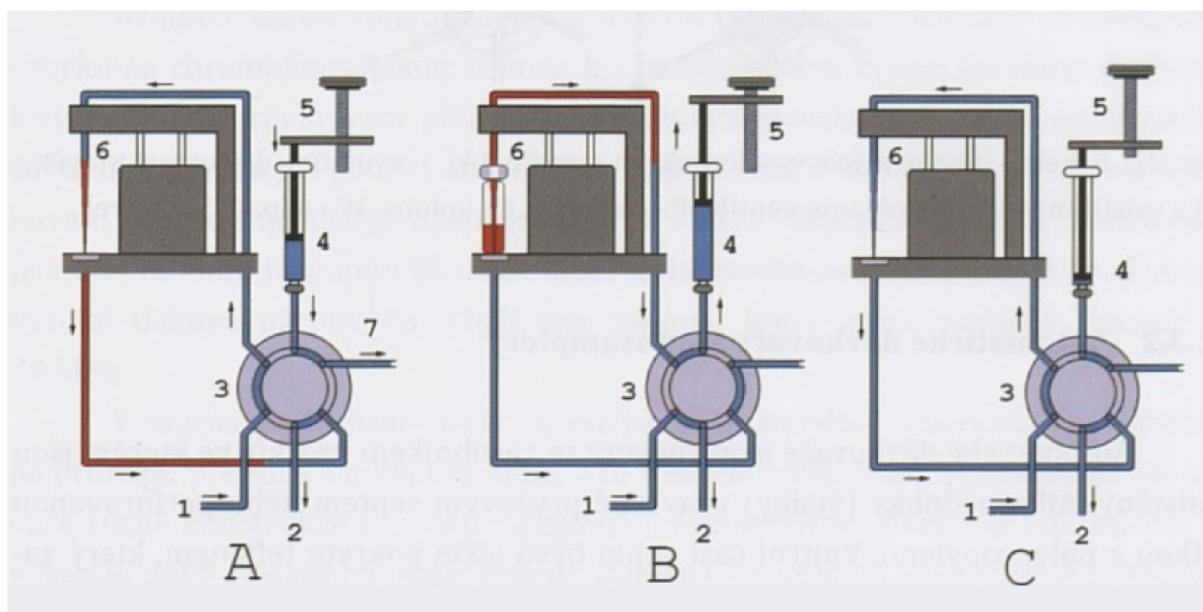
Piestové čerpadlá pracujú na princípe mechanického pohonu, kedy pri každom pohybe piestu vpred dochádza k vytlačeniu malého objemu mobilnej fázy a pri pohybe späť sa komora zase naplní. Pulzný charakter tohoto čerpadla sa dá obmedziť zaradením ďalšej hlavy s piestom, pracujúcim v opačnej fáze. Ich hlavnou výhodou je neobmedzené dávkovanie mobilnej fázy, maximálny tlak týchto čerpadiel býva 60–100 MPa [82].

Membránové čerpadlá pracujú na podobnom princípe, s tým rozdielom, že v hlave čerpadla je umiestnená membrána, ktorá zprostredkuje styk hydraulického kvapaliny s mobilnou fázou na druhej strane membrány. Hydraulická kvapalina (olej) je stlačovaná piestom čerpadla, pričom je tento tlak prenášaný cez membránu na mobilnú fázu, ktorá je následne vytlačovaná do kolóny. Hlavnou nevýhodou týchto čerpadiel je oveľa väčší mŕtvy objem v porovnaní s piestovým čerpadlom [82].

#### **2.5.5.7 Dávkovacie zariadenie**

Účinnosť chromatografického procesu je do istej miery závislá aj na dávkovaní vzorky. Pri nedokonalom dávkovaní môže dochádzať k významnému rozmývaniu pík, hlavne pri použití mikrokolón, kapilárnych kolón a krátkych kolón. V súčasnej dobe sú používané buď manuálne slučkové dávkovače na princípe prepínacích ventilov alebo, a to v oveľa väčšej miere, automatické dávkovače (autosamplery) [77,82].

Automatické dávkovače sú spojené so zásobníkom vzoriek, v ktorom sú umiestnené vialky uzavreté pryžovým septom, alebo perforovanou zátkou z polypropylénu. Vnútorňa časť býva ešte pokrytá teflónom, ktorý zabraňuje priamemu kontaktu vzorky a septa. Obrázok 12 popisuje princíp fungovania automatického dávkovača Agilent 1090 [82].



Obrázok 12: Schéma automatického dávkovača Agilent 1090, HPST (prevzaté z [82])

V prvej časti procesu dávkovania (A) mobilná fáza kontinuálne preteká z čerpadla (1) cez šesťcestný ventil (3) a dávkovaciu jednotku (6) na chromatografickú kolónu (2). Týmto je zaistený kontinuálny oplach ihly. V druhom bode (B) dochádza po prepnutí ventilu k naplneniu smyčky na požadovaný objem cez krokový motor (5), ktorý ovláda piest injekčnej striekačky dávkovača (4). V poslednom bode (C) dochádza, po opätovnom prepnutí ventilu (3), k vytlačeniu vzorky prúdom mobilnej fázy na kolónu (2). Tým sa jednotka dostane do východzieho stavu (A) a súčasne dôjde k vyprázdneniu injekčnej striekačky dávkovača do odpadu (7) [82].

### 2.5.5.8 Kolóna

Chromatografické kolóny sú miesto kde dochádza k separácii látok. Materiál kolón býva väčšinou nerezová ocel, alebo tvrdené sklo. Je nutné, aby bol vnútorný povrch dokonale hladký, odolával chemickému pôsobeniu mobilnej fázy a tiež vysokým tlakom, až do 100 MPa. Pre analytické účely sú dnes používané kolóny o vnútornom priemere 2,1–5 mm, dĺžke 10–300 mm a veľkosťou častíc náplne 1–10  $\mu\text{m}$ . Ku spojeniu kolóny s dávkovačom a detektorom sa používajú kovové, alebo polyetheretherketonové kapiláry a hydraulické spojky. Náplň chromatografickej kolóny tvorí stacionárnu fázu systému. Môže to byť buď tuhá látka, alebo film kvapaliny zakotvený, alebo chemicky naviazaný na nosič. Stacionárna fáza by mala byť chemicky a tepelne stabilná [77,82].

Najrozšírenejší polárny anorganický sorbent je silikagel. Aktívnymi centrami na povrchu silikagelu sú silanolové (hydroxylové) skupiny. Pre účely HPLC sa ďalej môže modifikovať rôznymi ligandmi, pričom výsledná polarita SF je daná použitým typom funkčnej skupiny. Pre RP-HPLC mód sa napríklad používa silikagel modifikovaný alkylovými reťazcami rôznej dĺžky. Pre NP-HPLC sa silikagel modifikuje nitrilovými, alebo amidovými skupinami [82].

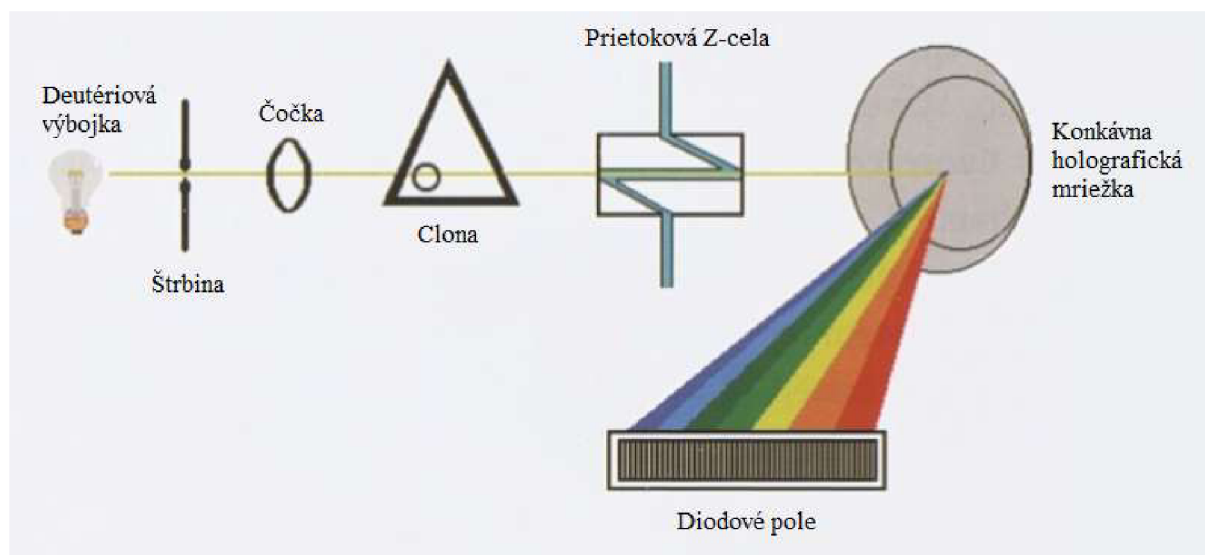
Ďalšími používanými materiálmi stacionárnej fázy sú oxidy kovov (hlinitý, zirkoničitý), polyméry (polystyrendivinylbenzén), alebo grafitový uhlík [82].

### 2.5.5.9 Detektor

Detektory sú v HPLC umiestnené za chromatografickú kolónu a zaznamenávajú rozdiel medzi priechodom čistej mobilnej fázy a mobilnej fázy obsahujúcej analyt. Je možné ich rozdeliť na univerzálne (refraktometrický, ELSD), detektory nejakej špecifickej vlastnosti vzorky (spektrofotometrické, elektrochemické) a na tie, ktoré sú spojené s inými technikami (hmotnostný spektrometer, NMR) [77,82].

Vodivostné detektory patria do skupiny univerzálnych detektorov. Fungujú na princípe merania elektrickej vodivosti eluátu v prietokovej cele medzi dvomi elektródami, na ktoré je vkladané striedavé napätie (aby sa zabránilo polarizácii elektród). Tieto detektory majú najväčšie uplatnenie v iónovej chromatografii [82].

Spektrofotometrické detektory tvoria významnú skupinu detektorov používaných v HPLC. Sú založené na princípe absorpcie žiarenia v oblasti vlnových dĺžok od 190–800 nm. Jedným z najviac používaných spektrofotometrických detektorov je detektor diodového poľa (DAD), ktorý sníma celé spektrum žiarenia v reálnom čase bez prerušenia separácie. Žiarenie zo zdroja je po prechode mernou celou spektrálne rozložené holografickou mriežkou, takže na každú fotodiódu dopadá žiarivý tok o určitej vlnovej dĺžke, zoslabený o absorbciu v cele detektora. Každá fotodióda je spojená s kondenzátorom, ktorý je dopredu nabitý na určitú hodnotu. Fotoelektrický prúd, ktorý dopadá na diódu potom vybije kondenzátor, priamoúmerne intenzite dopadajúceho žiarenia. Následne sú kondenzátory znova nabité a je sledovaný prúd potrebný na toto nabitie. Táto sekvencia vybíjania a nabíjania je veľmi rýchlo opakovaná a postupne sú zaznamenané údaje o absorbcii pri každej vlnovej dĺžke [77,82].



Obrázok 13: Schéma detektora s diodovým poľom (prevzaté z [82])

Ďalším univerzálnym detektorom je ELSD detektor, teda odparovací detektor rozptylu svetla. Patrí do skupiny detektorov pracujúcich na princípe aerosolu. V prvej fáze je eluent jemne zmlžený pomocou prúdu dusíka, za vzniku jemných kvapiek aerosolu. Následne sú tieto kvapky unášané do vyhrievanej časti, umiestnenej pred detekčnou celou, kde dôjde k úplnému odpareniu rozpúšťadla. Nakoniec častica vzorky prechádza prietokovou celou, kde sa zrazí s laserovým lúčom a dochádza k rozptylu svetla, ktorého intenzita je meraná



fotonásobičom. Aby v druhom bode došlo k úplnému vypareniu rozpúšťadla, používajú sa mobilné fázy s prchavými aditívami (octan amonný, kyselina octová). Hlavnou nevýhodou detektorov pracujúcich na princípe aerosolu je závislosť odozvy detektoru na zložení mobilnej fázy [82].

### **2.5.6 Spektrofotometrické stanovenie fenolických látok**

Jednou z najjednoduchších metód na stanovenie celkových fenolických látok je reakcia s Folin-Ciocalteovým činidlom. Metóda má široké využitie, hlavne v oblasti analýzy rastlinných materiálov a nápojov. Hlavnými zložkami tohoto činidla sú fosfowolfrámová ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) a fosfomolybdénová ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) kyselina. Pri reakcii s fenolickými zlúčeninami sa wolfrám a molybdén redukujú a vznikajú ich oxidy ( $W_8O_{23}$  a  $Mo_8O_{23}$ ), ktoré sú modrej farby, pričom intenzita tohoto sfarbenia je priamo úmerná redukčnej sile vzorky a teda aj obsahu fenolických látok. Reakcia prebieha rýchlejšie v bazickom prostredí, pretože dochádza k jednoduchšiemu uvoľneniu elektrónov. Výsledné modré produkty majú maximálnu absorbančiu pri vlnovej dĺžke okolo 760 nm. Obsah fenolických látok sa obyčajne vyjadruje ako ekvivalent kyseliny galovej alebo katechínu [68,69].

## 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

### 3.1 Analyzované vzorky

V tejto diplomovej práci bolo vybraných 20 vzoriek cibule a cesnaku rôzneho geografického pôvodu. Analyzovaných bolo 11 vzoriek čerstvého cesnaku, 5 vzoriek dehydratovaného cesnaku a 4 vzorky sušenej cibule. Prehľad vzoriek je uvedený v Tabuľke 8.

Tabuľka 8: Prehľad vzoriek

Vzorka	Označenie	Názov	Krajina pôvodu
1	CZ1	Cesnak sadbový - Lukan	Česko
2	CZ2	Cesnak sadbový - Bjetin	Česko
3	CZ3	Cesnak sadbový - Havel	Česko
4	CZ4	Cesnak sadbový - Slavin 2	Česko
5	PL1	Cesnak Sztuka	Poľsko
6	FR1	Cesnak Therador	Francúzsko
7	UKR1	Cesnak Ljubaša	Ukrajina
8	UKR2	Cesnak Ljubaša	Ukrajina
9	CZ5	Cesnak Ljubaša	Česko
10	FR2	Cesnak Primor	Francúzsko
11	FR3	Cesnak Sabagold	Francúzsko
12	CHN1	Cesnak prášok 100-120 Krau	Čína
13	IND1	Cesnak sušený, sekaný	India
14	CZ6	Cesnakový granulát G4	Česko
15	IND2	Cesnak sušený, sekaný BA HL	India
16	CZ7	Cesnakový granulát	Česko
17	EG1	Cibuľa sušená, rezaná	Egypt
18	CZ8	Cibuľa sušená, plátky	Česko
19	IND3	Cibuľa prášok Krauter	India
20	IND4	Cibuľa sušená, sekaná	India

### 3.2 Laboratórne vybavenie

#### 3.2.1 Prístroje

- Mineralizačný prístroj KJELDAHLTHERM KT 8s (Gerhardt, Nemecko)
- Automatická destilačná Kjeldahlova jednotka Vapodest 200 (Gerhardt, Nemecko)
- Analytické váhy AND HA-202M (A&D Company, Japonsko)
- Predvážky AND EK-600H (A&D Company, Japonsko)
- Jednotka pre prípravu ultračistej deionizovanej vody ELGA (Veolia Water Systems Ltd., Anglicko)
- Mikrovlnný rozkladný systém MLS 1200 Mega (Milestone, USA)
- Sušiareň Memmert UFE550 (Memmert, Nemecko)

- Kvapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, USA)
- Optický emisný spektrometer s indukčne viazaným plazmatom ULTIMA 2 (Horriba Scientific Jobin Yvon, Francúzsko)
- UV-VIS spektrofotometer Helios Gamma (Spectronic Unicam, USA)

### 3.2.2 Chemikálie

Tabuľka 9: Zoznam použitých chemikálií

Názov	Čistota	Výrobca	Pôvod
Aceton	99,8 %	Fisher Scientific	Anglicko
Etanol	96 %	Lach-Ner	Česko
Uhličitan sodný	99 %	Penta Chemicals	Česko
Kyselina sírová	96 %	Lach-ner	Nemecko
Hydroxid sodný	98 %	Mach chemikálie	Česko
Kyselina dusičná	67 %	Analytika spol.	Česko
Peroxid vodíka	30 %	Analytika spol.	Česko
Kyselina chlorovodíková	35 %	Lach-Ner	Česko
Acetonitril	99,9 %	VWR Chemicals	Francúzsko

Tabuľka 10: Zoznam použitých štandardov

Názov	Čistota	Výrobca	Pôvod
L-alliin	≥ 95 %	Sigma Aldrich	Čína
D(-)-Fruktóza	≥ 99 %	Sigma Aldrich	Francúzsko
D(+)-Glukóza	≥ 99,5 %	Sigma Aldrich	Francúzsko
Fosfor		Analytika spol.	Česko
Sodík		Analytika spol.	Česko
Draslík		Analytika spol.	Česko
Horčík		Analytika spol.	Česko
Vápnik		Analytika spol.	Česko
Železo		Analytika spol.	Česko
Zinok		Analytika spol.	Česko

### 3.2.3 Pomôcky

- Bežné laboratórne sklo a spotrebný materiál
- Mikropipety
- Mineralizačné trubice
- Teflonové mineralizačné nádoby na mikrovlnný rozklad
- Mikrofiltry s celulózovým filtrom o pórovitosti 0,45 µm
- Injekčné striekačky o objeme 10 ml

### 3.3 Stanovenie vybraných parametrov

#### 3.3.1 Stanovenie sušiny

Sušina bola stanovená gravimetricky. Do predom zvážených hliníkových misiek bolo navážených 10 g vzorky (čerstvý cesnak bol roztláčeny a zbavený obalových vrstiev) s presnosťou na 1 mg. Vzorky boli v sušiarňi ponechané cez noc (17 h) pri teplote 105 °C. Po vychladnutí v exikátore boli misky zvážené. Množstvo sušiny vo vzorke bolo vypočítané podľa rovnice:

$$(5) \quad w[\%] = \frac{m_1 - m_2}{m_{\text{vzorka}}} \cdot 100,$$

$m_1$  ... hmotnosť vzorky s miskou a viečkom po vysušení

$m_2$  ... hmotnosť vysušenej misky

$m_{\text{vzorka}}$  ... hmotnosť samotnej vzorky

#### 3.3.2 Stanovenie fenolických látok

Celkové fenolické látky boli stanovené Folin-Ciocalteovou metódou [70], s menšími modifikáciami. Do centrifugačných skúmaviek bolo navážených 10 g zhomogenizovanej vzorky (zbavenej obalových vrstiev) a pridaných 40 ml extrakčnej zmesi aceton:etanol (7:3, v/v). Extrakcia prebiehala po dobu 1 h. Následne bol extrakt zfiltrovaný a zvyšok na filtri prepláchnutý ďalšími 10 ml zmesi aceton:etanol. Extrakt bol kvantitatívne prevedený do 50 ml odmerných baniek a doplnený extrakčnou zmesou po značku.

Celkové fenolické látky boli stanovené za použitia Folin-Ciocalteovho činidla. Do 10 ml skúmavky bolo napipetovaných 7,9 ml destilovanej vody, 0,1 ml extraktu a 0,5 ml Folin-Ciocalteovho činidla. Po 1 minúte intenzívneho miešania bolo pridaných 1,5 ml roztoku uhličitanu sodného ( $1,8 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a skúmavka bola na 2 h umiestnená do tmy. Následne bola zmeraná absorbanca na spektrometri pri 765 nm. Celkový obsah fenolických látok bol vypočítaný ako ekvivalent kyseliny gallovej.

#### 3.3.3 Stanovenie hrubej bielkoviny

Množstvo hrubej bielkoviny bolo stanovené Kjeldahlovou metódou [93]. Do mineralizačných trubíc bol navážený 1 g vzorky s presnosťou na 1 mg. Následne boli pridané 2 g Weinigerovho katalyzátora a 10 ml koncentrovanej kyseliny sírovej. Vzorky boli vložené do mineralizačnej jednotky KT-8s a mineralizované po dobu 3,5 h podľa postupu uvedeného v Tabuľke 11.

Tabuľka 11: Postup mineralizácie

Krok č.	Proces	Čas [h]
1	zahrievanie na 400 °C	1
2	mineralizácia pri 400 °C	1,5
3	chladenie v mineralizátore	0,5
4	chladenie na laboratórnu teplotu mimo prístroja	0,5

Po ochladnutí boli do každej mineralizačnej trubice pridané 3 kvapky fenolftaleínu. Následne boli trubice vložené do automatického destilačného prístroja. Destilačný program prebiehal po dobu 4,5 min. Najprv bolo pridaných 20 ml 30 % roztoku hydroxidu sodného do

zásaditého pH (ružové sfarbenie). Uvolnený amoniak bol predestilovaný s vodnou parou do predlohy obsahujúcej 25 ml štandardizovanej 0,05 mol·l<sup>-1</sup> kyseliny sírovej.

Po ukončení destilácie bola predloha vybratá z prístroja a boli do nej pridané 3 kvapky Tashirovho indikátora. Obsah predlohy bol následne titrovaný štandardizovaným roztokom 0,1 mol·l<sup>-1</sup> hydroxidu sodného do prvého trvalého zeleného sfarbenia. Výsledný obsah dusíka bol stanovený z množstva kyseliny sírovej, ktorá zreagovala s uvoľneným amoniakom. Na výpočet obsahu hrubej bielkoviny bol použitý univerzálny faktor 6,25.

### 3.3.4 Prvková analýza

Na analýzu prvkového zloženia vo vzorkách cesnaku a cibule bola použitá metóda optickej emisnej spektrometrie s indukčne viazaným plazmatom (ICP-OES, [91]). Vzorky na ICP-OES boli rozložené na mokrej ceste s použitím mikrovlnného rozkladného systému. Do teflónovej nádoby bolo navážených 0,25 g vzorky s presnosťou na 1 mg. Následne bolo pridaných 6 ml kyseliny dusičnej a 2 ml peroxidu vodíka. Potom podľa nastaveného programu v mikrovlnnej jednotke prebiehla mineralizácia. Po skončení bol mineralizát kvantitatívne prevedený do 25 ml odmernej banky, ktorá bola po rysku doplnená deionizovanou vodou.

Tabuľka 12: Parametre a nastavenie ICP-OES počas analýzy

Parameter	Mikroprvky	Makroprvky
	Fe, Zn	P, Mg, Ca, Na, K
Názov a typ prístroja	Horiba Ultima 2 (Horiba Scientific)	
Rýchlosť otáčok čerpadla	16 ot/min	
Príkon do plazmatu	1300 W	1100 W
Prietok v zmlžovači	0,84 ml/min	
Tlak na zmlžovači	2,98 bar	
Prietok tieniaceho plynu	0,19 l/min	0,6 l/min
Prietok plazmového plynu	13,5 l/min	
Prietok pomocného plynu	0,19 l/min	
Aktívny zvlhčovač argónu	Áno	
Integračný čas	0,5 s	
Detektor	Fotonásobič	

### 3.3.5 Stanovenie sacharidov

Na analýzu jednoduchých sacharidov vo vzorkách cesnaku a cibule bola použitá metóda vysokoučinnnej kvapalinovej chromatografie s odparovacím detektorom rozptylu svetla (HPLC-ELSD, [92]). Výsledná nameraná koncentrácia glukózy a fruktózy predstavuje celkový obsah jednoduchých sacharidov vo vzorkách po hydrolýze prítomných fruktanov. Je to teda súčet voľných jednoduchých sacharidov a tých, ktoré vznikli rozštiepením väzieb kyselou hydrolýzou.

Do 100 ml odmerných baniek bolo navážených 0,5 g vzorky s presnosťou na 1 mg. Následne bolo pridaných 45 ml kyseliny chlorovodíkovej o koncentrácii 1 % hm. Obsah sa

dôkladne premiešal a banka bola vložená do vriacej vodnej lázne na 20 min. Každé 3 minúty bol obsah banky premiešaný. Po vybratí z vodnej lázne bolo do banky pridaných ďalších 20 ml kyseliny chlorovodíkovej. Po ochladení banky bol obsah vyčerený pridaním 1 ml Carezovho činidla 1 a Carezovho činidla 2. Po vyčerení bola doplnená destilovaná voda po značku, zmes sa dôkladne premiešala a zfiltrovala cez papierový filter. Z takto pripravených vzoriek bol odobratý 1 ml do 10 ml odmerných baniek a objem doplnený ultračistou vodou po značku. Následne boli roztoky zfiltrované cez 0,45  $\mu\text{m}$  filter a vpravené do sklenených vialiek. Koncentrácia glukózy a fruktózy bola vypočítaná zo zmeranej kalibračnej krivky. Kalibračná rada bola zostavená zo štandardov glukózy a fruktózy o koncentrácií 0, 50 a 100  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Tabuľka 13: Parametre a nastavenie HPLC-ELSD počas analýzy

<b>Parameter</b>	
Názov a typ prístroja	HPLC Agilent 1260 Infinity
Objem nástreku	5 $\mu\text{l}$
Prietok mobilnej fázy	1 ml/min
Zloženie mobilnej fázy	Acetonitril, voda (75:25)
Elučný mód	Izokratický
Tlak čerpadla	100 bar
Kolóna	Prevail Carbohydrates ES, 5 $\mu\text{m}$ , 250 mm
Teplota	35 $^{\circ}\text{C}$
Detektor	ELSD 1260 Infinity
Odparovacia teplota na detektore	85 $^{\circ}\text{C}$
Zmlžovacia teplota na detektore	90 $^{\circ}\text{C}$
Prietok dusíka	1,3 ml/min

### 3.3.6 Stanovenie alliinu

Na analýzu alliinu vo vzorkách cesnaku a cibule bola použitá metóda vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie s detektorom diodového poľa. Metóda stanovenia vychádzala z aplikačného listu spoločnosti Phenomenex (HPLC Application, ID No.: 14434).

Do 100 ml kadičiek bolo navážených 10 g vzorky s presnosťou na 1 mg. Následne bolo pridaných 50 ml vriacej destilovanej vody a vzorky boli 15 minút povarené vo vodnej lázni. Potom boli vzorky ochladené, zhomogenizované a prevedené do centrifugačných skúmaviek. Po 5 minútovom intenzívnom miešaní boli vzorky odstredené na centrifuge pri 5000 ot./5 min. Supernatant bol prevedený do 25 ml odmerných baniek a objem bol po rysku doplnený destilovanou vodou. Z takto pripravených roztokov bolo odobratých 0,5 ml do 100 ml odmerných baniek, ktoré boli po značku doplnené zmesou acetonitril:voda (60 : 40, v/v). Následne boli roztoky zfiltrované cez 0,45  $\mu\text{m}$  filter a pomocou injekčnej striekačky vpravené do sklenenej vialky. Kalibračná rada bola pripravená zo štandardu alliinu o koncentrácií 10, 50 a 100  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Tabuľka 14: Parametre a nastavenie HPLC-DAD počas analýzy

<b>Parameter</b>		
Názov a typ prístroja	HPLC Agilent 1260 Infinity	
Objem nástreku	5 $\mu$ l	
Prietok mobilnej fázy	0,5 ml/min	
Eluent A	Voda okyselená kyselinou orto-fosforečnou, pH 2,2	
Eluent B	Acetonitril	
Elučný mód	Gradient	
Tlak čerpadla	100 bar	
Kolóna	Kinetex 2,6 $\mu$ m, Polar C18 100 A, 150 x 3,0 mm	
Teplota	30 °C	
Detektor	DAD	
Sledované vlnové dĺžky	210, 260, 280 nm	
<b>Gradient mobilnej fázy</b>		
Čas [min]	Podiel Eluentu A [%]	Podiel Eluentu B [%]
0 – 2	100	0
2 – 15	20	80
15– 25	100	0

### 3.3.7 Štatistické vyhodnotenie

Všetky namerané dáta boli podrobené štatistickej analýze za použitia programov MS Excel (Microsoft, USA) a Statistica (TIBCO Software, USA).

Dáta boli najskôr rozdelené do skupín podľa ich geografického pôvodu a podrobené testu normality a homogenity rozptylu. Pre parametre, u ktorých bol zistený homogénny rozptyl bola použitá parametrická analýza rozptylu (ANOVA) a Tukeyho porovnávací test. V ostatných prípadoch bol použitý Kruskal-Wallisov test a Dunnov porovnávací test. Na základe týchto testov boli vybraté parametre, pri ktorých sa vzorky štatisticky významne odlišovali. Všetky analýzy boli prevedené na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$ .

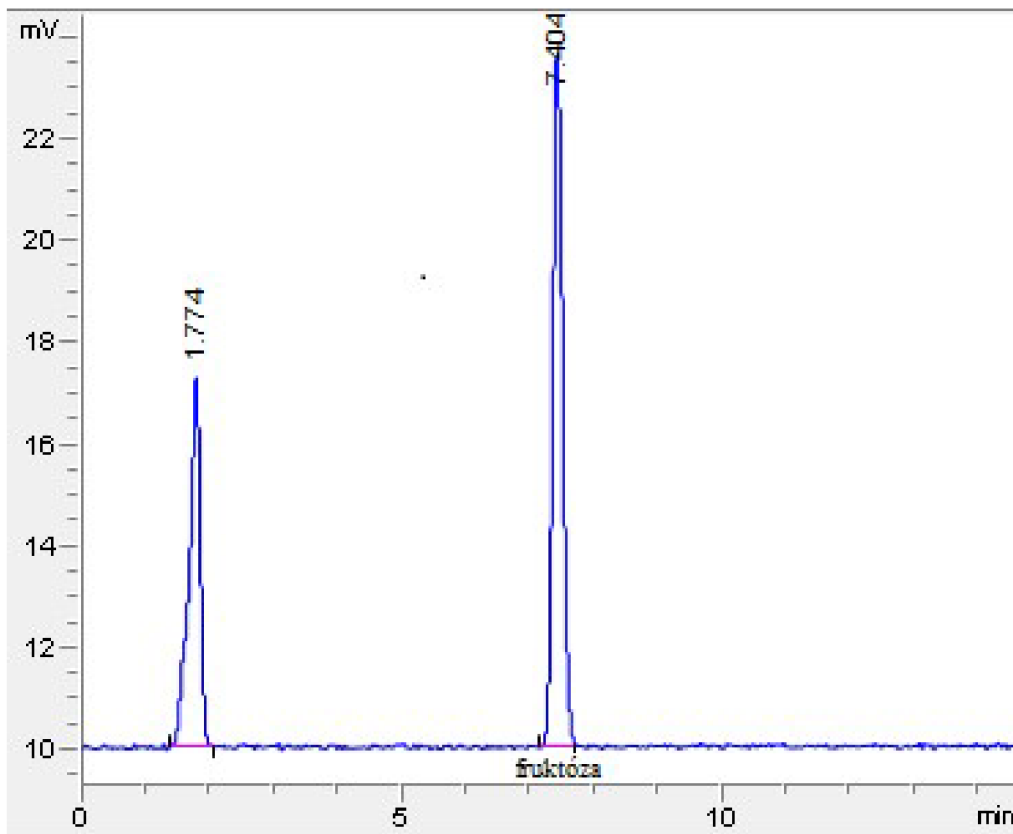
Pre komplexnejší popis vzoriek a nameraných dát boli dáta podrobené analýze hlavných komponent (PCA). Ako vstupné parametre do PCA boli použité len tie parametre, ktoré vykazovali štatisticky významné rozdiely. Pomocou získaných hlavných komponent bola vytvorená planárna 2D projekcia, pre lepšie grafické znázornenie korelácií medzi vstupnými parametrami a vzorkami.



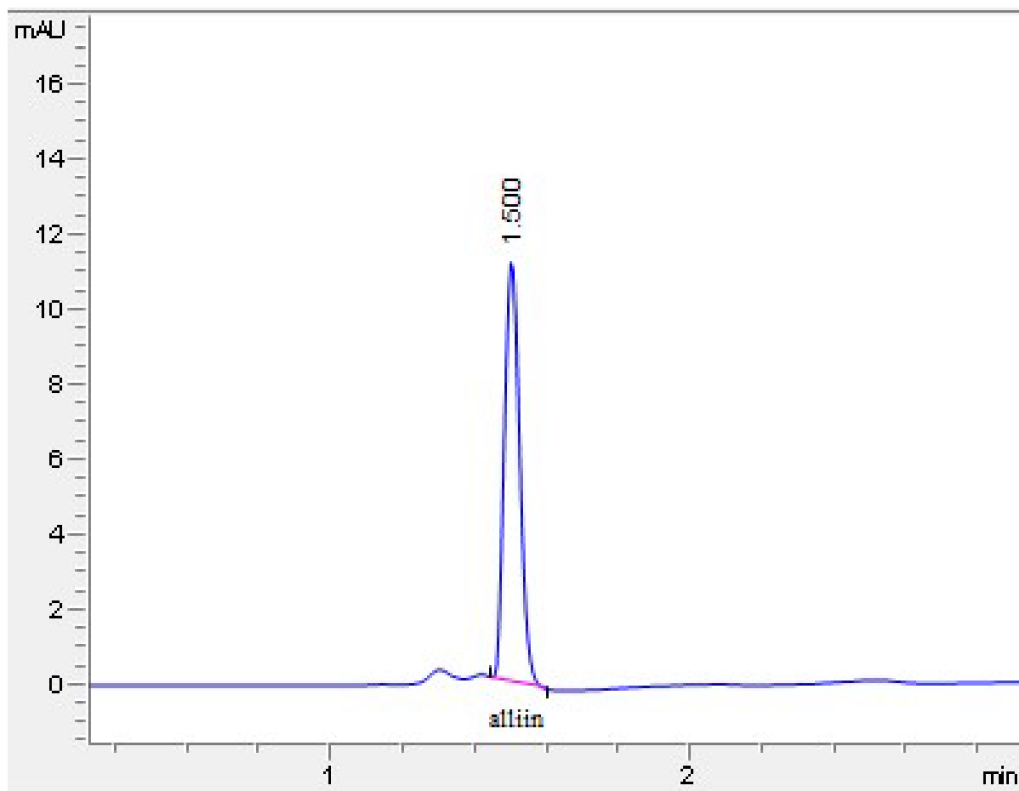








Obrázok 14: Chromatogram reálnej vzorky, získaný analýzou sacharidov na HPLC-ELSD



Obrázok 15: Chromatogram spiku vzorky cibule, získaný analýzou alliinu na HPLC-DAD













Poznámka: Jednotlivé analýzy vzoriek boli prevedené v troch opakovaníach. Vzorky v rovnakom stĺpci označené rôznymi písmenami v hornom indexe sa štatisticky významne odlišujú na hladine významnosti 0,05.

#### 4.7 Analýza hlavných komponent (PCA)

Pre zistenie korelácií medzi vzorkami cesnaku a cibule z rôznych krajín a ich stanovenými parametrami bola použitá metóda analýzy hlavných komponent. Účelom PCA, je zredukovať počet premenných, pri zachovaní väčšiny variability. Pomocou parametrickej analýzy rozptylu (ANOVA) a neparametrického Kruskal-Wallisovho testu bolo vybraných 7 parametrov, ktoré na hladine významnosti 0,05 vykazovali štatisticky významné rozdiely a sú teda pre hľadanie korelácií najvhodnejšie. Vybrané parametre boli: obsah dusíka ( $H = 26,3148, p = 0,0002$ ), fosforu ( $F = 4,6752, p = 0,0015$ ), horčička ( $H = 24,2712, p = 0,0005$ ), vápnika ( $H = 24,1494, p = 0,0007$ ), sodíka ( $H = 21,6698, p = 0,0014$ ), a železa ( $H = 22,3482, p = 0,0010$ ). Koncentrácia draslíka ( $H = 12,3776, p = 0,0541$ ), bola na hranici štatistickej významnosti 0,05.

Z týchto parametrov boli pomocou PCA vytvorené nové premenné, ktoré v sebe viac či menej zahŕňali pôvodnú informáciu. Podiel novej komponenty na celkovej variabilite charakterizuje hodnota eigenvalue. Parametre s eigenvalue nižšou ako 1 boli vyradené, nakoľko množstvo informácie uloženej v takejto komponente odpovedá informácii pôvodného parametru, alebo nižšej. Pre popis nášho datasetu boli teda vybrané hlavné komponenty F1 a F2, ktoré tvorili 77,970 % pôvodnej variability.

Tabuľka 18: Súhrn eigenvalue a variability nových komponent

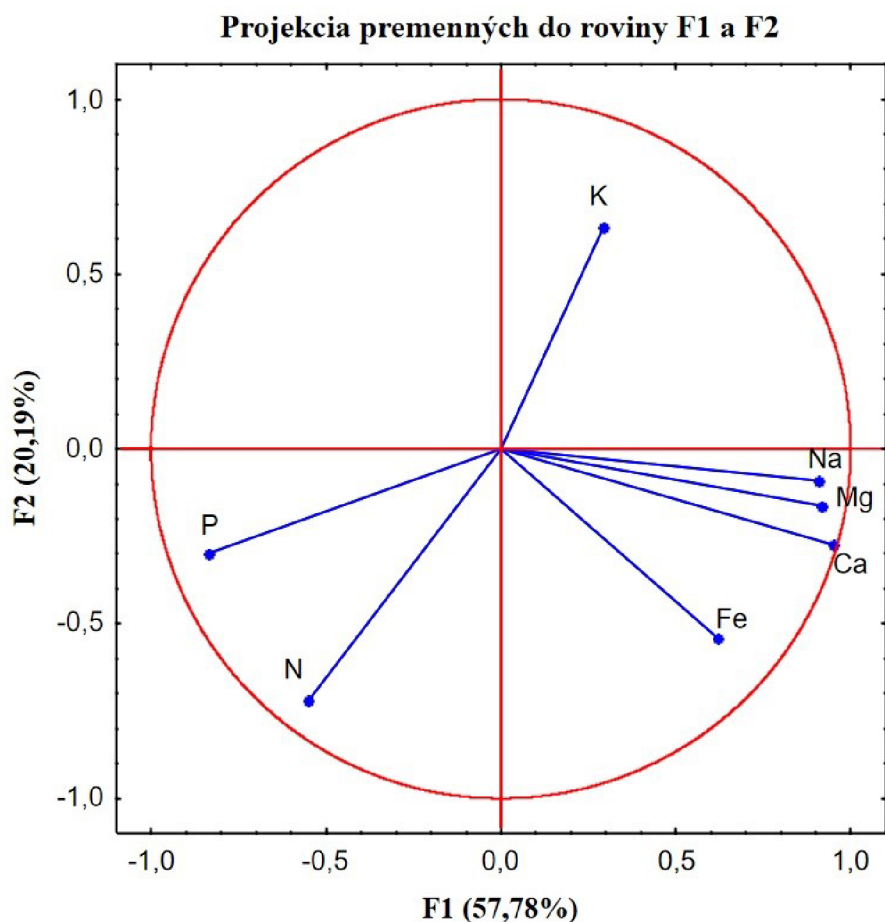
Komponenta	Eigenvalue	Variabilita	Súhrnná variabilita [%]
<b>F1</b>	4,044	57,777	57,777
<b>F2</b>	1,413	20,192	77,970
<b>F3</b>	0,817	11,671	89,641
<b>F4</b>	0,523	7,475	97,116
<b>F5</b>	0,114	1,629	98,745
<b>F6</b>	0,071	1,012	99,757
<b>F7</b>	0,017	0,244	100,000

Premenné do istej miery medzi sebou korelovali (Tabuľka 19). Silná pozitívna korelácia bola pozorovaná medzi koncentráciou dusíka a fosforu, čo je pochopiteľné, vzhľadom na to, že sú to biogénne prvky nachádzajúce sa v hojnej miere vo všetkých živých organizmoch. Silná pozitívna korelácia bola tiež pozorovaná medzi obsahom horčička, sodíka, vápnika a železa. Silná negatívna korelácia bola pozorovaná medzi koncentráciou fosforu a obsahom horčička, vápnika a sodíka. Slabšia negatívna korelácia bola pozorovaná medzi koncentráciou dusíka a obsahom horčička, vápnika, sodíka a draslíka. Slabá negatívna korelácia bola tiež pozorovaná medzi koncentráciou fosforu a železa.

Tabuľka 19: Korelačná matica parametrov, korelácie vyznačené hrubým písmom sú významné na hladine 0,05

	N	P	Mg	Ca	Na	K	Fe
N	1,0000	<b>0,7673</b>	-0,3060	-0,3439	-0,3183	-0,4037	-0,0240
P	<b>0,7673</b>	1,0000	<b>-0,6306</b>	<b>-0,7075</b>	<b>-0,6786</b>	-0,1679	-0,3261
Mg	-0,3060	<b>-0,6306</b>	1,0000	<b>0,9075</b>	<b>0,9021</b>	0,2468	<b>0,5543</b>
Ca	-0,3439	<b>-0,7075</b>	<b>0,9075</b>	1,0000	<b>0,8882</b>	0,0810	<b>0,7283</b>
Na	-0,3183	<b>-0,6786</b>	<b>0,9021</b>	<b>0,8882</b>	1,0000	0,2585	<b>0,4475</b>
K	-0,4037	-0,1679	0,2468	0,0810	0,2585	1,0000	-0,0121
Fe	-0,0240	-0,3261	<b>0,5543</b>	<b>0,7283</b>	<b>0,4475</b>	-0,0121	1,0000

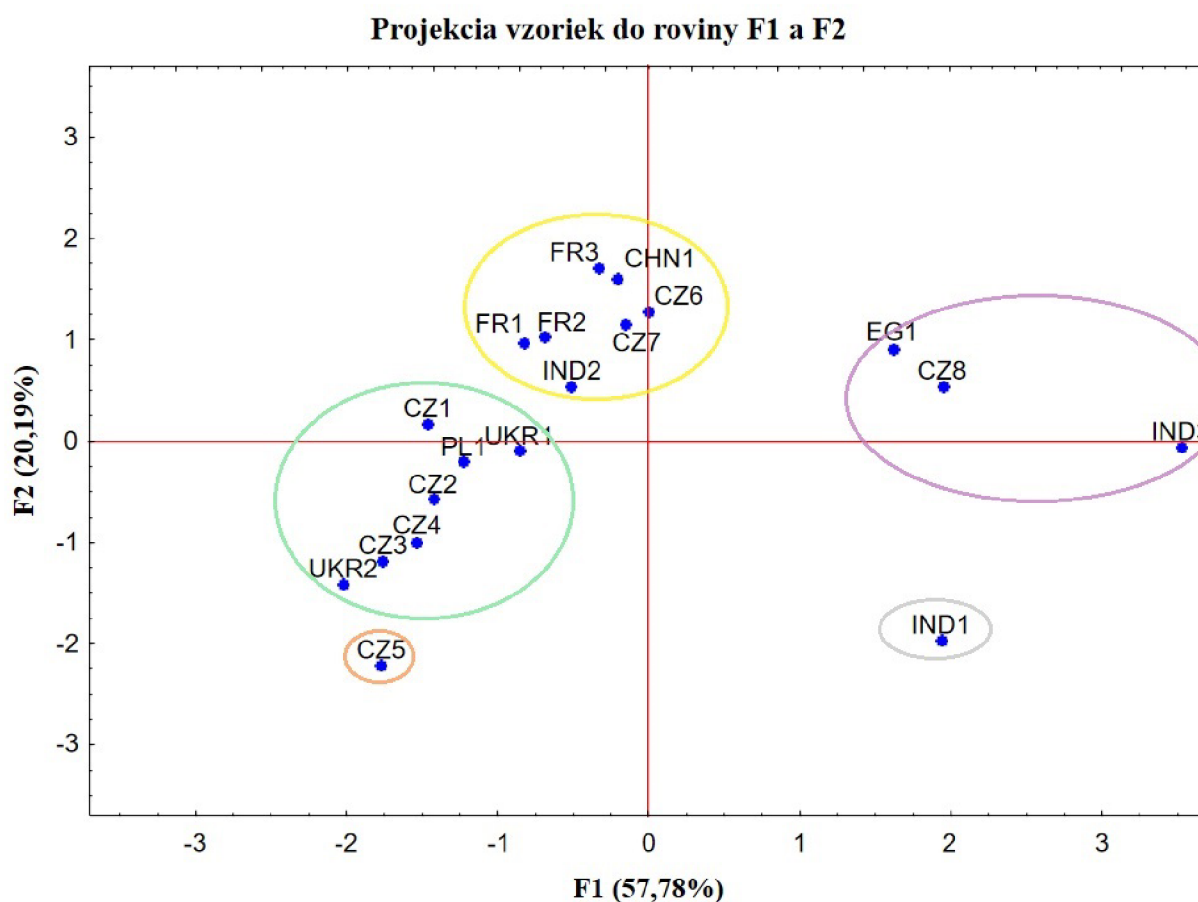
Do vytvorenej 2D faktorovej roviny boli projektované hodnoty premenných a vzoriek, pričom s komponentami určitým spôsobom korelovali. Komponenta F1 vykazovala silnú pozitívnu koreláciu s koncentráciou sodíka, horčíka, vápnika a železa, slabšiu pozitívnu koreláciu s koncentráciou draslíka. Silnú negatívnu koreláciu vykazovala s koncentráciou fosforu a dusíka. Komponenta F2 silno pozitívne korelovala s koncentráciou draslíka, silno negatívne korelovala s koncentráciou dusíka a železa, slabšie negatívne korelovala s koncentráciou fosforu.



Obrázok 16: Projekcia premenných do roviny F1 a F2

Projekcia vzoriek do roviny F1 a F2 vytvorila päť klastrov. Vzorky v prvom klastri (zelená farba) vykazovali vyššiu koncentráciu dusíka a fosforu, naopak nižšiu koncentráciu sodíka, železa, vápnika a horčíka. Vzorky v druhom klastri (žltá farba) vykazovali vyššiu koncentráciu draslíka, nižšiu koncentráciu dusíka a železa. Vzorky v treťom klastri (fialová farba) vykazovali vyššiu koncentráciu sodíka, železa, horčíka a vápnika. Naopak vykazovali nižšiu koncentráciu fosforu a dusíka. Vzorky s označením IND1 (šedá farba) a CZ5 (oranžová farba) vytvorili samostatné klaster v štvrtom a treťom kvadrante.

V prvom klastri sú vzorky cesnaku z Česka, Ukrajiny a Poľska. Tento klaster je situovaný v treťom kvadrante, čo znamená negatívnu koreláciu s komponentou F1 aj s komponentou F2. Druhý klaster obsahoval vzorky cesnaku z Česka, Číny, Indie a všetky vzorky z Francúzska. Klaster je situovaný v prvom kvadrante, čo znamená pozitívnu koreláciu s komponentou F2 a negatívnu koreláciu s komponentou F1. Tretí klaster obsahoval vzorky cibule z Egypta, Česka a Indie. Klaster je situovaný v druhom kvadrante, čo znamená pozitívnu koreláciu s komponentou F1 aj F2. Boli tu situované iba vzorky cibule, čo by mohlo naznačovať že rodové odlišnosti medzi cibuľou a cesnakom majú väčšiu váhu, ako geografické odlišnosti. Posledná vzorka cibule s označením IND4 bola situovaná mimo grafu, pričom silno pozitívne korelovala s komponentou F1 (5,7). Geografická podobnosť vzoriek bola potvrdená iba v prvom klastri, čo sa dá vysvetliť blízkosťou krajín, z ktorých vzorky pochádzali. Čiastočne bola tiež potvrdená v druhom klastri, kde došlo k vyprofilovaniu všetkých vzoriek z Francúzska.



Obrázok 17: Projekcia vzoriek do roviny F1 a F2

## 5 ZÁVER

Cieľom tejto diplomovej práce bola analýza a porovnanie vybraných vzoriek cesnaku a cibule rôzneho geografického pôvodu. Celkovo bolo analyzovaných 11 vzoriek čerstvého cesnaku, 5 vzoriek dehydratovaného cesnaku a 4 vzorky sušenej cibule. Vzorky pochádzali z Česka, Poľska, Francúzska, Ukrajiny, Číny, Indie a Egypta.

Sledovaných bolo dvanásť parametrov. Celková sušina bola stanovená gravimetricky. Obsah bielkovinného dusíka bol stanovený Kjeldahlovou metódou. Koncentrácia fenolických látok bola stanovená spektrofotometricky s Folin-Ciocalteuovým činidlom. Obsah sacharidov po hydrolýze bol stanovený metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s odparovacím detektorom rozptylu svetla. Koncentrácia alliinu bola stanovená vysokoúčinnnou kvapalinovou chromatografiou s detektorom diódového poľa. Obsah vybraných makro (P, Mg, Ca, Na, K) a mikroprvkov (Fe, Zn) bol stanovený metódou optickej emisnej spektrometrie s indukčne viazaným plazmatom. Výsledky boli porovnané s dostupnou literatúrou. Dáta získané analýzami boli následne podrobené štatistickej analýze. Tukeyho porovnávací test a Dunnov test rozdelil vzorky do štatisticky odlišných skupín. Pre grafické zobrazenie podobností a odlišností medzi vzorkami bola použitá metóda analýzy hlavných komponent (PCA).

Najvyšší obsah sušiny u čerstvých vzoriek bol nameraný u vzorky Ljubaša vz. 2 z Ukrajiny a to  $39,70 \pm 0,50 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , najnižší obsah bol nameraný u vzorky 9, Ljubaša, z Česka,  $33,13 \pm 0,05 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Zo sušených vzoriek mala najvyšší obsah sušiny vzorka 15, cesnak sušený, sekáný BA HL z Indie a to  $94,27 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , najnižší obsah sušiny mala vzorka 17, cibuľa sušená, rezaná z Egypta a to  $86,64 \pm 0,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Pri stanovení celkových fenolických látok bol najvyšší obsah stanovený u vzorky 1, cesnak sadbový – Lukan z Česka a to  $0,4339 \pm 0,0276 \text{ GAE g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . U vzorky 14, cesnakový granulát G4 z Česka bol nameraný najnižší obsah fenolických látok a to  $0,0123 \pm 0,0012 \text{ GAE g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Koncentrácia hrubej bielkoviny bola vypočítaná na základe bielkovinného dusíka. Najvyšší obsah hrubej bielkoviny bol stanovený u vzorky 9, cesnak Ljubaša z Česka a to  $43,40 \pm 0,91 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Najnižší obsah bol stanovený u vzorky 11, cesnak Sabagold z Francúzska a to  $9,25 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Najvyšší obsah sacharidov v hydrolyzáte bol stanovený u vzorky 12, cesnak prášok 100-120 Krau z Číny a to  $69,122 \pm 0,144 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Najnižší obsah bol stanovený u vzorky 8, cesnak Ljubaša vz. 2 z Ukrajiny a to  $36,023 \pm 0,919 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . U vzoriek cesnaku bola nameraná len fruktóza, u vzoriek cibule aj glukóza.

Najvyšší obsah alliinu bol stanovený u vzorky 9, cesnak Ljubaša z Česka a to  $7,884 \pm 0,762 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . U vzorky 16, cesnakový granulát z Česka bol nameraný najnižší obsah alliinu a to  $0,862 \pm 0,185 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Prvkovou analýzou bolo zistené, že najviac zastúpenými prvkami boli draslík a fosfor, ich priemerný obsah bol  $7,49 \pm 0,41 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  a  $2,15 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Najmenej zastúpeným prvkom bol zinok, ktorého priemerný obsah bol  $8,15 \pm 3,33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

Na základe analýzy hlavných komponent boli nájdené korelácie medzi parametrami a vzorkami. Vzorky z Ukrajiny, Česka a Poľska vykazovali vyššiu koncentráciu dusíka a fosforu, naopak vykazovali nízku koncentráciu horčíka, vápnika a sodíka. Na odlišenie

vzoriek z týchto krajín sa teda javia ako najvhodnejšie parametre koncentrácia dusíka a fosforu. Došlo tiež k rozlíšeniu vzoriek z Francúzska, nie je však jasné, ktoré parametre na to mali najväčší vplyv. U vzoriek sušenej cibule boli namerané nízke koncentrácie fosforu a dusíka, naopak vysoké koncentrácie horčíka, sodíka a vápnika. Tieto parametre sa teda javia ako najvhodnejšie, pokiaľ by našim zámerom bolo od seba odlíšiť vzorky cesnaku a cibule.

Štatistická analýza potvrdila, že najlepšimi parametrami na odlíšenie vzoriek rôzneho geografického pôvodu je prvková analýza a obsah bielkovinného dusíka. Pre lepšie rozlíšenie vzoriek by bolo potrebné urobiť komplexnejšiu analýzu za použitia ďalších analytických metód a získanie väčšieho množstva dát analýzou viacerých vzoriek rôzneho geografického pôvodu.

## 6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] KONVIČKA, Oldřich. *Česnek: (Allium sativum L.) : základy biologie a pěstování, obsahové látky a léčivé účinky*. Olomouc: O. Konvička, 1998. ISBN 80-238-1928-3.
- [2] MALÝ, Ivan. *Pěstujeme cibuli, česnek, hrách a další cibulové a luskové zeleniny*. Praha: Grada, 2003. Česká zahrada. ISBN 8024706350.
- [3] Ing. Jan Kozák – šlechtění česnekové sadby [online]. Holice: Kozák, 2018 [cit. 2020-02-19]. Dostupné z: <https://cesnek.cz/popis-cesneku>
- [4] SANTHOSHA, S.G., Prakash JAMUNA a S.N. PRABHAVATHI. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience* [online]. 2013, 3, 59-74 [cit. 2020-01-30]. DOI: 10.1016/j.fbio.2013.07.001. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429213000473>
- [5] LAWANDE, K.E. *Onion. Handbook of Herbs and Spices* [online]. Elsevier, 2012, 2012, s. 417-429 [cit. 2020-02-02]. DOI: 10.1533/9780857095671.417. ISBN 9780857090393. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857090393500232>
- [6] USDA: *National Nutrient Database for Standard Reference* [databáza online]. Beltsville: United States Department of Agriculture, 2018. Dostupné z URL <https://fdc.nal.usda.gov/>.
- [7] LANZOTTI, Virginia. The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, 1112(1-2), 3-22 [cit. 2020-01-30]. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.12.016. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967305024064>
- [8] LEE, Hyun Jung, Hyung Joo SUH, Sung Hee HAN, Jungil HONG a Hyeon-Son CHOI. Optimization of Extraction of Cycloalliin from Garlic (*Allium sativum* L.) by Using Principal Components Analysis. *Preventive Nutrition and Food Science* [online]. 2016, 21(2), 138-146 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.3746/pnf.2016.21.2.138. ISSN 2287-1098. Dostupné z: <http://www.dbpia.co.kr/Journal/ArticleDetail/NODE06703665>
- [9] GRUHLKE, Martin C.H. a Alan J. SLUSARENKO. The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiology and Biochemistry* [online]. 2012, 59, 98-107 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1016/j.plaphy.2012.03.016. ISSN 09819428. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0981942812000733>
- [10] BORLINGHAUS, Jan, Frank ALBRECHT, Martin GRUHLKE, Ifeanyi NWACHUKWU a Alan SLUSARENKO. Allicin: Chemistry and Biological Properties. *Molecules* [online]. 2014, 19(8), 12591-12618 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.3390/molecules190812591. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/8/12591>
- [11] CURTIS, Hannah, Ulrike NOLL, Judith STÖRMANN a Alan J. SLUSARENKO. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* [online]. 2004, 65(2), 79-89 [cit. 2020-02-09]. DOI:

10.1016/j.pmpp.2004.11.006. ISSN 08855765. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0885576504001377>

- [12] CUTLER, R.R. a P. WILSON. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *British Journal of Biomedical Science* [online]. 2018, 61(2), 71-74 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1080/09674845.2004.11732646. ISSN 0967-4845. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09674845.2004.11732646>
- [13] BORLINGHAUS, Jan, Frank ALBRECHT, Martin GRUHLKE, Ifeanyi NWACHUKWU a Alan SLUSARENKO. Allicin: Chemistry and Biological Properties. *Molecules* [online]. 2014, 19(8), 12591-12618 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.3390/molecules190812591. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/8/12591>
- [14] ZOCCALI, C., C. CATALANO a S. RASTELLI. Blood pressure control: hydrogen sulfide, a new gasotransmitter, takes stage. *Nephrology Dialysis Transplantation* [online]. 2009, 24(5), 1394-1396 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1093/ndt/gfp053. ISSN 0931-0509. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfp053>
- [15] RAHMAN, Khalid a Gordon M. LOWE. Garlic and Cardiovascular Disease: A Critical Review. *The Journal of Nutrition* [online]. 2006, 136(3), 736S-740S [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1093/jn/136.3.736S. ISSN 0022-3166. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jn/article/136/3/736S/4664300>
- [16] BREU, W. *Allium cepa* L. (Onion) Part 1: Chemistry and analysis. *Phytomedicine* [online]. 1996, 3(3), 293-306 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/S0944-7113(96)80069-9. ISSN 09447113. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711396800699>
- [17] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-2-9.
- [18] SENDL, A. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. *Phytomedicine* [online]. 1995, 1(4), 323-339 [cit. 2020-02-17]. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80011-5. ISSN 09447113. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711311800115>
- [19] KEOPHIPHATH, Mayoura, Fabian PRIEM, Ingrid JACQUEMOND-COLLET, Karine CLÉMENT a Danièle LACASA. 1,2-Vinyldithiin from Garlic Inhibits Differentiation and Inflammation of Human Preadipocytes. *The Journal of Nutrition* [online]. 2009, 139(11), 2055-2060 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.3945/jn.109.105452. ISSN 0022-3166. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jn/article/139/11/2055/4751045>
- [20] DIRSCH, Verena M, Alexandra K KIEMER, Hildebert WAGNER a Angelika M VOLLMAR. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. *Atherosclerosis* [online]. 1998, 139(2), 333-339 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/S0021-9150(98)00094-X. ISSN 00219150. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002191509800094X>
- [21] WANG, Jing, Yanping CAO, Baoguo SUN, Chengtao WANG a Yingjie MO. Effect of ultrasound on the activity of alliinase from fresh garlic. *Ultrasonics*

- Sonochemistry* [online]. 2011, 18(2), 534-540 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2010.09.008. ISSN 13504177. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417710001823>
- [22] CHHABRIA, Sagar a Krutika DESAI. Purification and characterisation of alliinase produced by *Cupriavidus necator* and its application for generation of cytotoxic agent: Allicin. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. 2018, 25(7), 1429-1438 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.01.003. ISSN 1319562X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319562X1600005X>
- [23] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-2-9.
- [24] SHOAI, Muhammad, Aamir SHEHZAD, Mukama OMAR, et al. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2016, 147, 444-454 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.020. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716303812>
- [25] SUNGSOO CHO, Susan, SAMUEL, Priscilla: *Fiber Ingredients: Food Applications and Health Benefits*. New York: S.Sungsoo Cho, 2009. ISBN 978-1-4200-4384-6.
- [26] GHARIBZAHEDI, Seyed Mohammad Taghi a Seid Mahdi JAFARI. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2017, 62, 119-132 [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.02.017. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224416306203>
- [27] WHO, *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. 2nd ed. Rome: FAO, c2004. ISBN 9241546123.
- [28] PU, Fan, Ning CHEN a Shenghui XUE. Calcium intake, calcium homeostasis and health. *Food Science and Human Wellness* [online]. 2016, 5(1), 8-16 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1016/j.fshw.2016.01.001. ISSN 22134530. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213453016000021>
- [29] CONWAY, Deirdre a Mark A. HENDERSON. Iron metabolism. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* [online]. 2019, 20(3), 175-177 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1016/j.mpaic.2019.01.003. ISSN 14720299. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472029919300037>
- [30] TANGVORAPHONKCHAI, Kamonwan a Andrew DAVENPORT. Magnesium and Cardiovascular Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease* [online]. 2018, 25(3), 251-260 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1053/j.ackd.2018.02.010. ISSN 15485595. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1548559518300405>
- [31] AARON, Kristal J. a Paul W. SANDERS. Role of Dietary Salt and Potassium Intake in Cardiovascular Health and Disease: A Review of the Evidence. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2013, 88(9), 987-995 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.06.005. ISSN 00256196. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619613004631>



- [32] WHO, *Guideline: Sodium intake for adults and children*. Geneva: World Health Organization (WHO), 2012. ISBN 9789241504836.
- [33] WHO, *Guideline: Potassium intake for adults and children*. Geneva: World Health Organization (WHO), 2012. ISBN 9789241504829.
- [34] SHAHIDI, Fereidoon a Priyatharini AMBIGAIPALAN. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, 18, 820-897 [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.018. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464615003023>
- [35] PUTNIK, Predrag, Domagoj GABRIĆ, Shahin ROOHINEJAD, Francisco J. BARBA, Daniel GRANATO, Kumar MALLIKARJUNAN, José M. LORENZO a Danijela BURSAC KOVAČEVIĆ. An overview of organosulfur compounds from *Allium* spp: From processing and preservation to evaluation of their bioavailability, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. *Food Chemistry* [online]. 2019, 276, 680-691 [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.10.068. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618318430>
- [36] MIEAN, Koo Hui a Suhaila MOHAMED. Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2001, 49(6), 3106-3112 [cit. 2020-01-30]. DOI: 10.1021/jf000892m. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf000892m>
- [37] SLIMESTAD, Rune, Torgils FOSSEN a Ingunn Molund VÅGEN. Onions: A Source of Unique Dietary Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2007, 55(25), 10067-10080 [cit. 2020-02-01]. DOI: 10.1021/jf0712503. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0712503>
- [38] CARUSO, Gianluca, Stefano CONTI, Gerardo VILLARI, Carlo BORRELLI, Giuseppe MELCHIONNA, Maria MINUTOLO, Giuseppe RUSSO a Carmine AMALFITANO. Effects of transplanting time and plant density on yield, quality and antioxidant content of onion (*Allium cepa* L.) in southern Italy. *Scientia Horticulturae* [online]. 2014, 166, 111-120 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.12.019. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442381300647X>
- [39] BEATO, Victor Manuel, Francisco ORGAZ, Francisco MANSILLA a Alfredo MONTAÑO. Changes in Phenolic Compounds in Garlic (*Allium sativum* L.) Owing to the Cultivar and Location of Growth. *Plant Foods for Human Nutrition* [online]. 2011, 66(3), 218-223 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.1007/s11130-011-0236-2. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-011-0236-2>
- [40] HIRATA, Sho, Mostafa ABDELRAHMAN, Naoki YAMAUCHI a Masayoshi SHIGYO. Characteristics of chemical components in genetic resources of garlic *Allium sativum* collected from all over the world. *Genetic Resources and Crop Evolution* [online].

- 2016, 63(1), 35-45 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.1007/s10722-015-0233-7. ISSN 0925-9864. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10722-015-0233-7>
- [41] MARTINS, Natália, Spyridon PETROPOULOS a Isabel C.F.R. FERREIRA. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry* [online]. 2016, 211, 41-50 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.05.029. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616307099>
- [42] CSISZÁR, J., E. LANTOS, I. TARI, et al. Antioxidant enzyme activities in *Allium* species and their cultivars under water stress. *Plant, Soil and Environment* [online]. 2008, 53(12), 517-523 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.17221/2192-PSE. ISSN 12141178. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/web/pse.htm?volume=53&firstPage=517&type=publishedArticle>
- [43] HUCHETTE, O., I. ARNAULT, J. AUGER, C. BELLAMY, L. TRUEMAN, B. THOMAS, S.J. OCHATT a R. KAHANE. Genotype, nitrogen fertility and sulphur availability interact to affect flavour in garlic (*Allium sativum* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* [online]. 2015, 82(1), 79-88 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.1080/14620316.2007.11512202. ISSN 1462-0316. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14620316.2007.11512202>
- [44] DIRIBA-SHIFERAW, G., R. NIGUSSIE-DECHASSA, Woldetsadik KEBEDE, J. Sharma J. a Tabor GETACHEW. Bulb quality of Garlic (*Allium sativum* L.) as influenced by the application of inorganic fertilizers. *African Journal of Agricultural Research* [online]. 2014, 9(8), 784-796 [cit. 2020-01-19]. DOI: 10.5897/AJAR2013.7723. ISSN 1991-637X. Dostupné z: <http://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/1D7C61043116>
- [45] HE, Yi, Gong-Jian FAN, Cai-E WU, Xiaohong KOU, Ting-Ting LI, Fang TIAN a Hao GONG. Influence of packaging materials on postharvest physiology and texture of garlic cloves during refrigeration storage. *Food Chemistry* [online]. 2019, 298 [cit. 2019-12-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125019. ISSN 03088146.
- [46] HAN, Cong, Yue JI, Meilin LI, Xiaoan LI, Peng JIN a Yonghua ZHENG. Influence of wounding intensity and storage temperature on quality and antioxidant activity of fresh-cut Welsh onions. *Scientia Horticulturae* [online]. 2016, 212, 203-209 [cit. 2019-12-23]. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.10.004. ISSN 03044238.
- [47] YOO, Kil Sun, Eun Jin LEE a Bhimanagouda S. PATIL. Changes in quercetin glucoside concentrations of onion bulbs by scales, during storage, and in sprouting leaves exposed to UV. *Postharvest Biology and Technology* [online]. 2013, 83, 65-71 [cit. 2020-02-01]. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.03.016. ISSN 09255214. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925521413000902>

- [48] LAWANDE, K.E. *Onion. Handbook of Herbs and Spices* [online]. Elsevier, 2012, 2012, s. 417-429 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1533/9780857095671.417. ISBN 9780857090393. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857090393500232>
- [49] SHARMA, G.P., R.C. VERMA a P.B. PATHARE. Thin-layer infrared radiation drying of onion slices. *Journal of Food Engineering* [online]. 2005, 67(3), 361-366 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.05.002. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404002158>
- [50] PRASAD, Kailash, VictorA. LAXDAL, Ming YU a BarbaraL. RANEY. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging property of garlic. *Molecular and Cellular Biochemistry* [online]. 1996, 154(1) [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1007/BF00248461. ISSN 0300-8177. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00248461>
- [51] GUO, Qiushan, Da-Wen SUN, Jun-Hu CHENG a Zhong HAN. Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2017, 67, 236-247 [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.07.007. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224417302200>
- [52] PANDEY, U.B. *Garlic. Handbook of Herbs and Spices* [online]. Elsevier, 2012, 2012, s. 299-318 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1533/9780857095671.299. ISBN 9780857090393. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857090393500177>
- [53] PURANIK, Vinita, Puja SRIVASTAVA, Vandana MISHRA a D.C. SAXENA. Effect of Different Drying Techniques on the Quality of Garlic: A Comparative Study. *American Journal of Food Technology* [online]. 2012, 7(5), 311-319 [cit. 2020-02-19]. DOI: 10.3923/ajft.2012.311.319. ISSN 15574571. Dostupné z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=ajft.2012.311.319>
- [54] SHAFIUR RAHMAN, Mohammad, Houd IBRAHIM AL-SHEIBANI, Mohd HAMAD AL-RIZIQI, Ann MOTHERSHAW, Nejib GUIZANI a Gunnar BENGTTSSON. Assessment of the Anti-Microbial Activity of Dried Garlic Powders Produced by Different Methods of Drying. *International Journal of Food Properties* [online]. 2006, 9(3), 503-513 [cit. 2020-02-19]. DOI: 10.1080/10942910600596480. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942910600596480>
- [55] LI, Yu, Shi-Ying XU a Da-Wen SUN. Preparation of garlic powder with high allicin content by using combined microwave–vacuum and vacuum drying as well as microencapsulation. *Journal of Food Engineering* [online]. 2007, 83(1), 76-83 [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.02.057. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877407001537>
- [56] ČÍŽKOVÁ, Helena. *Falšování potravin*. Praha: Verlag Dashöfer, [2019]. ISBN 9788087963883.
- [57] ČÍŽKOVÁ, Helena, ed. *Metody a kritéria [sic] pro ověřování autenticity potravin a potravinářských surovin*. Ostrava: Key Publishing, 2011. ISBN 9788074181245.

- [58] GALVIN-KING, Pamela, Simon A. HAUGHEY a Christopher T. ELLIOTT. Herb and spice fraud; the drivers, challenges and detection. *Food Control* [online]. 2018, 88, 85-97 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.12.031. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713517306102>
- [59] REID, Linda M., Colm P. O'DONNELL a Gerard DOWNEY. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2006, 17(7), 344-353 [cit. 2020-02-17]. DOI: 10.1016/j.tifs.2006.01.006. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224406000112>
- [60] LOHUMI, Santosh, Sangdae LEE a Byoung-Kwan CHO. Optimal variable selection for Fourier transform infrared spectroscopic analysis of starch-adulterated garlic powder. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2015, 216, 622-628 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.snb.2015.04.060. ISSN 09254005. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400515005122>
- [61] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.
- [62] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 9788024605531.
- [63] SÁEZ-PLAZA, Purificación, Tadeusz MICHAŁOWSKI, María José NAVAS, Agustín García ASUERO a Sławomir WYBRANIEC. An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2013, 43(4), 178-223 [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1080/10408347.2012.751786. ISSN 1040-8347. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408347.2012.751786>
- [64] SWADESH, Joel. *HPLC: practical and industrial applications*. 2nd ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, c2001. Analytical chemistry series (CRC Press). ISBN 0-8493-0003-7.
- [65] LACOURSE, Margaret E. a William R. LACOURSE. General instrumentation in HPLC \*. *Liquid Chromatography* [online]. 2nd edition. Amsterdam: Elsevier, 2017, 2017, s. 417-429 [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1016/B978-0-12-805393-5.00017-8. ISBN 9780128053935. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128053935000178>
- [66] LAJUNEN, Lauri H.J. *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992. ISBN 0-85186-873-8.
- [67] MÖHWALD, Michael, Shashank Reddy PINNAPIREDDY, Bodo WONNENBERG, et al. Aspherical, Nanostructured Microparticles for Targeted Gene Delivery to Alveolar Macrophages. *Advanced Healthcare Materials* [online]. 2017, 6(20) [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1002/adhm.201700478. ISSN 21922640. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adhm.201700478>
- [68] A AGBOR, Gabriel, Joe A VINSON a Patrick E. DONNELLY. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and*

- Dietetics* [online]. 2014, , 147-156 [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.19070/2326-3350-1400028. ISSN 23263350. Dostupné z: <https://scidoc.org/articlepdfs/IJFS/IJFS-2326-3350-03-801.pdf>
- [69] GALILI, Shmuel a Ran HOVAV. Determination of Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in Dry Seeds. *Polyphenols in Plants* [online]. Elsevier, 2014, 2014, s. 305-323 [cit. 2020-03-14]. DOI: 10.1016/B978-0-12-397934-6.00016-4. ISBN 9780123979346. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123979346000164>
- [70] NAHEED, Zobia, Zhihui CHENG, Cuinan WU, Yanbin WEN a Haiyan DING. Total polyphenols, total flavonoids, allicin and antioxidant capacities in garlic scape cultivars during controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* [online]. 2017, 131, 39-45 [cit. 2020-03-18]. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2017.05.002. ISSN 09255214. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925521417301503>
- [71] Centrum pro databázi složení potravin: *Databáze složení potravin ČR, verze 8.20* [databáza online]. Praha: Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 2020. Dostupné z: <http://www.nutridatabaze.cz/>
- [72] MOUSTAFA, Yasser, Gamal ABDEL-NAEM, Seifel-Nasr GADEL-HAK a Ismail ABDEL-WAHAB. Studying Different Quantitative and Qualitative Traits of Some White- and Colored- Bulb Garlic Genotypes Grown under a Drip Irrigation System. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2011, (5), 1415-1427. ISSN 1991-8178.
- [73] NUUTILA, Anna Maria, Riitta PUUPPONEN-PIMIÄ, Marjukka AARNI a Kirsi-Marja OKSMAN-CALDENTY. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry* [online]. 2003, 81(4), 485-493 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00476-4. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814602004764>
- [74] PRAKASH, Dhan, Brahma N. SINGH a Garima UPADHYAY. Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). *Food Chemistry* [online]. 2007, 102(4), 1389-1393 [cit. 2020-03-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.06.063. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606006005>
- [75] WONGSA, P., W. SPREER, P. SRUAMSIRI a J. MÜLLER. Allicin and total phenolic content and antioxidant activity in conventional and organic garlic. *Acta Horticulturae* [online]. 2016, (1125), 129-136 [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1125.16. ISSN 0567-7572. Dostupné z: [https://www.actahort.org/books/1125/1125\\_16.htm](https://www.actahort.org/books/1125/1125_16.htm)

- [76] HACISEFEROĞULLARI, Haydar, Musa ÖZCAN, Fikret DEMİR a Sedat ÇALIŞIR. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering* [online]. 2005, 68(4), 463-469 [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.06.024. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404003073>
- [77] VOLKA, Karel. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-7080-227-8.
- [78] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0776-x.
- [79] SOMMER, Lumír. *Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech*. Praha: Academia, 1992. Pokroky chemie. ISBN 80-200-0215-4.
- [80] PERTILE, Eva a Vladimír ČABLÍK. *Instrumentální metody analýzy*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2006. ISBN 80-248-1049-2.
- [81] *Kurz ICP spektrometrie*. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2009. ISBN 978-80-903732-8-0.
- [82] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4243-3.
- [83] PERTILE, Eva. *Instrumental methods of analysis*. Ostrava: VŠB - Technical University of Ostrava, 2017. ISBN 978-80-248-4124-3.
- [84] SAJID, Marina, Masood Sadiq BUTT, A. SHEHZAD a S. TANWEER. Chemical and mineral analysis of garlic: a golden herb. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 2014, 24(2), 108-110. ISSN 2226-5899.
- [85] LISCIANI, Silvia, Loretta GAMBELLI, Alessandra DURAZZO, et al. Carbohydrates Components of Some Italian Local Landraces: Garlic (*Allium sativum* L.). *Sustainability* [online]. 2017, 9(10) [cit. 2020-06-23]. DOI: 10.3390/su9101922. ISSN 2071-1050. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2071-1050/9/10/1922>
- [86] Institute of Medicine. 1997, *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, DC: The National Academies Press, 1997. ISBN 978-0-309-06403-3
- [87] SIDDIQUI, Nasir A., Ramzi A. MOTHANA a Perwez ALAM. Quantitative determination of alliin in dried garlic cloves and products by high-performance thin-layer chromatography. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* [online]. 2016, 15(8), 1759-1765 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.4314/tjpr.v15i8.23. ISSN 1596-9827. Dostupné z: <http://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/143356>
- [88] HORIE, Hideki a Ken-ichiro YAMASHITA. Non-derivatized analysis of methiin and alliin in vegetables by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, 1132(1-2), 337-339 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.09.018. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730601750X>

- [89] ICHIKAWA, Makoto, Nagatoshi IDE, Jiro YOSHIDA, Hiroyuki YAMAGUCHI a Kazuhisa ONO. Determination of Seven Organosulfur Compounds in Garlic by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, 54(5), 1535-1540 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1021/jf051742k. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf051742k>
- [90] ARNAULT, I, J.P CHRISTIDÈS, N MANDON, T HAFFNER, R KAHANE a J AUGER. High-performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. *Journal of Chromatography A* [online]. 2003, 991(1), 69-75 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)00214-0. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967303002140>
- [91] DIVIŠ, Pavel, Milena VESPALCOVÁ, Jaromír POŘÍZKA, Aleš MATĚJÍČEK a Jiří KAPLAN. Elemental composition of fruits from different Black elder (*Sambucus nigra* L.) cultivars grown in the Czech Republic. *Journal of Elementology* [online]. 2012, (3/2015) [cit. 2020-07-10]. DOI: 10.5601/jelem.2015.20.1.758. ISSN 16442296. Dostupné z: <http://jsite.uwm.edu.pl/articles/view/758/>
- [92] Pavel DIVIŠ, ŠTURSA Václav a Jaromír POŘÍZKA. Characteristics of Paprika samples of different geographical origin. *Potravinarstvo* [online]. 2018, 12(1), 254-261 [cit. 2020-07-10]. DOI: 10.5219/902. ISSN 1337-0960. Dostupné z: <http://www.potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/902>
- [93] ČSN ISO 1871: 2009. Potraviny a krmiva – Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla. Praha: Český normalizační institut, 2009

## 7 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

AAS	Atómová absorpčná spektrometria
AKP	Aluminizovaný sulfátový papier
ATP	Adenosintrifosfát
CHOP	Chránené označenie pôvodu
CHZO	Chránené zemepisné označenie
DAD	Detektor diodového poľa
ELSD	Odparovací detektor rozptylu svetla
ES	Európska smernica
FAO	Food and Agriculture Organization
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
HPLC	Vysoko účinná kvapalinová chromatografia
ICP	Indukčne viazaná plazma
iNOS	Syntáza oxidu dusnatého
LDL	Nízkohustotný lipoproteín
MF	Mobilná fáza
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamidadenindinukleotid
NAD(P)H	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NMR	Nukleárna magnetická rezonancia
NP-HPLC	Vysoko účinná kvapalinová chromatografia s normálnymi fázami
OES	Optická emisná spektrometria
PAL	Fenylalanin amoniak-lyáza
PCA	Analýza hlavných komponent
PCR	Polymerázová reťazová reakcia
PE	Polyethylén
PET	Polyethylentereftalát
RP-HPLC	Vysoko účinná kvapalinová chromatografia s obrátenými fázami
SF	Stacionárna fáza
SKP	Jednovrstvový sulfátový papier
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organization
ZTS	Zaručená tradičná špecialita