



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

PŘÍPRAVA PŘÍRODNÍCH DOPLŇKŮ STRAVY PRO DĚTSKOU VÝŽIVU

PREPARATION OF NATURAL FOOD SUPPLEMENTS FOR CHILDREN'S NUTRITION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Petra Kubisová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1555/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Petra Kubisová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Petra Matoušková, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Příprava přírodních doplňků stravy pro dětskou výživu

Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí cíle:

- 1) Zpracování rešerše na dané téma
- 2) Výběr, charakterizace a izolace přírodních aktivních látek
- 3) Návrh optimálního složení přírodního doplňku stravy
- 4) Vyhodnocení výsledků a diskuse

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

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

Bc. Petra Kubisová
student(ka)

Ing. Petra Matoušková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Predložená diplomová práca je zameraná na komplexnú charakterizáciu vybraných superpotravín a následné zostavenie návrhu prírodného doplnku stravy vhodného pre detskú výživu. Pre analýzy boli zvolené superpotraviny: zelený jačmeň (*Hordeum vulgare*), mladá pšenica (*Triticum aestivum*), moringa olejodarná (*Moringa oleifera*), čaj matcha (*Camellia sinensis*), mikroriasa chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*), spirulina (*Arthrospira platensis*), semienka ľanu siateho (*Linum usitatissimum*) a semienka sezamu indického (*Sesamum indicum*).

Teoretická časť je zameraná na problematiku detskej výživy a najbežnejších potravinových alergií a intolerancií. Ďalej sa v tejto časti nachádza legislatíva zaoberajúca sa potravinovými produktmi pre deti a popis jednotlivých vzoriek.

V experimentálnej časti boli na začiatku stanovené makroživiny, a teda sacharidy, lipidy a bielkoviny. Vo vzorkách bola taktiež stanovená vláknina, fruktány a β -glukány, ktoré majú výrazný vplyv na črevný mikrobióm a celý tráviaci proces. Pri týchto parametroch bola najlepšie hodnotená vzorka zeleného jačmeňa, ktorá obsahovala 205,5 mg/g nerozpustnej vlákniny; 152,57 mg/g fruktánov a 18,76 mg/g β -glukánov. Napokon, pre utvorenie celkového nutričného profilu, boli analyzované aj pigmenty.

Pri experimentoch boli využité spektrofotometrické techniky, HPLC chromatografia, plynová chromatografia a ďalšie analytické metódy.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

detská výživa, nutričný profil, trávenie, alternatívne zdroje živín

ABSTRACT

The presented diploma thesis is focused on complex characterization of chosen superfoods and subsequent composition of supplement suitable for children's nutrition. Different kinds of superfoods were chosen for analyses, such as: barley grass (*Hordeum vulgare*), wheat grass (*Triticum aestivum*), moringa (*Moringa oleifera*), matcha tea (*Camellia sinensis*), microalgae chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*), spirulina (*Arthrospira platensis*), flax seeds (*Linum usitatissimum*) and sesame seeds (*Sesamum indicum*).

The theoretical part is focused on children's nutrition issue and the most common food allergies and intolerances. Also, children food products legislation and characterization of chosen samples are included in theoretical part.

Main macronutrients, such as saccharides, lipids and proteins, were analysed in the very beginning of experimental part. Fibre, fructan and β -glucan, which have a high impact on intestinal microbiome and whole process of digestion, were analysed as well. However, barley grass was the best evaluated sample by containing 205,5 mg/g of insoluble fibre; 152,57 mg/g of fructans and 18,76 mg/g of β -glucans. Finally, for complex nutritional profile, also samples pigments were analysed.

Spectrophotometry, HPLC chromatography, gas chromatography and other analytical techniques were performed for experiments.

KEYWORDS

children's nutrition, nutritional profile, digestion, alternative sources of nutrients

KUBISOVÁ, Petra. *Příprava přírodních doplňků stravy pro dětskou výživu*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131447>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Petra Matoušková.

PREHLÁSENIE

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

podpis študenta

Pod'akovanie

Touto cestou by som sa chcela poďakovať vedúcej mojej diplomovej práce Ing. Petre Matouš kovej, Ph.D., a to nielen za jej odborné rady, ale tiež trpezlivosť, ochotu a ľudský prístup. Moja vďaka taktiež patrí Ing. Julii Hoovej, za pomoc, ktorú mi poskytla pri práci v laboratóriách, a to vždy s dobrou náladou a úsmevom. Obrovské ďakujem posielam mojej rodine, ktorá mi poskytla možnosť študovať, nielen počas štúdia ma podporovala vo všetkých smeroch a trpezlivo prežívala všetky ťažkosti a radosti so mnou, na čo nikdy nezabudnem. A v neposlednom rade sa chcem poďakovať mojim priateľom, s ktorými sme zdieľali radosti a strasti vysokoškolského štúdia, za to, že stáli pri mne za každých okolností.

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 TEORETICKÁ ČASŤ	10
2.1 Výživa detí	10
2.1.1 Výživové požiadavky	10
2.1.2 Výživové štádiá dieťaťa.....	10
2.1.2.1 Novorodenci, dojčatá a batoláta	10
2.1.2.2 Deti predškolského veku.....	12
2.1.2.3 Deti v školskom veku a adolescenti	12
2.2 Význam sacharidov a vlákniny v potrave	13
2.3 Lipidy, lipofilné farbivá a ich význam v potrave	13
2.4 Potravinové intolerancie, alergie a poruchy	14
2.4.1 Intolerancia laktózy	15
2.4.2 Alergia na bielkovinu kravského mlieka	15
2.4.3 Celiakia	16
2.4.4 Alergia na vaječnú bielkovinu	16
2.4.5 Alergia na arašidy	16
2.5 Doplnky stravy pre deti	17
2.6 Legislatíva	18
2.7 Charakteristika vybraných vzoriek potravín	18
2.7.1 Zelená pšenica	18
2.7.2 Zelený jačmeň	19
2.7.3 Chlorella.....	20
2.7.4 Spirulina.....	20
2.7.5 Čaj matcha	21
2.7.6 Moringa olejodarná	21
2.7.7 Sezamové semienka.....	22
2.7.8 Ľanové semienka	23
2.8 Princípy použitých techník	23
2.8.1 UV-VIS Spektrofotometria	23
2.8.2 Plynová chromatografia	24
2.8.3 Vysokoučinná kvapalinová chromatografia (HPLC)	24

3	CIELE PRÁCE	25
4	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	26
4.1	Použité prístroje, pomôcky a chemikálie	26
4.1.1	Použité chemikálie	26
4.1.2	Použité prístroje a pomôcky.....	27
4.2	Použité vzorky	27
4.3	Príprava extraktov.....	28
4.4	Analýza sacharidov.....	28
4.4.1	Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboisa.....	28
4.4.2	Stanovenie redukujúcich cukrov podľa Somogyi-Nelsona	28
4.4.3	Stanovenie jednotlivých cukrov pomocou HPLC.....	29
4.4.4	Stanovenie vlákniny podľa Henneberga a Stohmanna.....	30
4.4.5	Stanovenie fruktánov	30
4.4.6	Stanovenie β -glukánov	32
4.5	Analýza lipidov.....	34
4.5.1	Extrakcia lipidov	34
4.5.2	Transesterifikácia lipidov	35
4.5.3	Stanovenie profilu mastných kyselín pomocou plynovej chromatografie	35
4.6	Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla	35
4.7	Analýza pigmentov pomocou HPLC	36
4.8	Enkapsulácia.....	37
4.8.1	Príprava lipozómových častíc	37
4.8.2	Príprava alginátových častíc	37
5	VÝSLEDKY A DISKUSIA	38
5.1	Analýza sacharidov.....	38
5.1.1	Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboisa.....	38
5.1.2	Stanovenie redukujúcich cukrov podľa Somogyi-Nelsona	38
5.1.3	Analýza jednotlivých cukrov pomocou HPLC	39
5.1.4	Stanovenie nerozpustnej vlákniny podľa Henneberga a Stohmanna	41
5.1.5	Stanovenie fruktánov.....	43
5.1.6	Stanovenie beta-glukánov.....	44
5.2	Analýza lipidov.....	45
5.2.1	Gravimetrické stanovenie celkového obsahu lipidov.....	45

5.2.2	Obsah mastných kyselín podľa nasýtenosti	46
5.2.3	Stanovenie profilu mastných kyselín.....	48
5.3	Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla	51
5.4	Analýza obsahu pigmentov pomocou HPLC	52
5.5	Návrh optimálneho zloženia prírodného doplnku stravy	55
6	ZÁVER	57
7	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	59
8	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	64
9	PRÍLOHY.....	65

1 ÚVOD

Výživa, ako taká, je každodennou súčasťou života každého jedného človeka. Obdobie, kedy je zvlášť potrebné klásť dôraz na vyvážený príjem živín z kvalitných zdrojov je detstvo. Potrava, ktorá je deťmi prijatá, vplýva na ich správny telesný, ale aj duševný vývoj. Okrem základných makronutrientov ako sú sacharidy, lipidy a proteíny, je pre detský organizmus potrebné prijímať aj vitamíny, minerálne látky, vlákninu a iné zložky výživy.

V súčasnosti čoraz častejšie, napriek dostupnosti pestrej škály potravín, vzniká u detí deficit dôležitých látok potrebných pre rast a správne fungovanie organizmu. Do úvahy tiež treba vziať fakt, že narastajúci trend potravinových alergií a intolerancií v populácii taktiež obmedzuje výber vhodných potravinových zdrojov nutrientov. Nielen u detí je často potrebné suplementovať masné kyseliny, vitamíny či minerálne látky. Problémom tiež bývajú tráviace ťažkosti, ktoré vznikajú v dôsledku nedostatku, či prípadnej nedostatočnej diverzity probiotických baktérií v organizme. Túto situáciu do istej miery rieši dostupnosť potravinových doplnkov rôznych druhov. Suplementy možno nájsť v kategóriách ako probiotiká, omega-3 masných kyseliny, vitamíny, ale tiež produkty so zvýšeným obsahom vlákniny či beta-glukánov.

Diplomová práca sa zameriava na analýzu potravín, ktoré môžu byť novými potenciálnymi zdrojmi potrebných bioaktívnych látok. Stanovené boli sacharidy, lipidy, proteíny, vláknina, beta-glukány, fruktány a pigmenty. Analyzované parametre mali napomôcť k návrhu doplnku stravy vhodného pre detskú výživu. Vybrané použité potraviny by tak slúžili, či už k príprave nového suplementu alebo na fortifikáciu bežných potravín, čím by bol zabezpečený zvýšený príjem dôležitých látok do organizmu.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Výživa detí

Správna výživa je jedným z najdôležitejších faktorov ovplyvňujúcich zdravie a celkovú kvalitu života. Zvlášť v období detstva tvorí základný stavebný kameň pre správny telesný rast a tiež psychosociálny vývoj dieťaťa. Zanedbanie tejto oblasti a nekvalitná strava môže viesť k narušeniu rastu a vývoju detského organizmu, čo môže dospieť až do štádia podvýživy (malnutrie). Opačným extrémom nastávajúcim pri prekračovaní energetickej potreby dieťaťa vedie ku vzniku nadváhy až obezity [1].

2.1.1 Výživové požiadavky

Každé dieťa ako individuálny jedinec má na svoju výživu rôzne požiadavky. Hoci vo všeobecnosti možno určiť aké živiny a v akom pomere dieťa potrebuje, existuje niekoľko faktorov, ktoré tieto parametre ovplyvňujú (viď Tabuľka 1) [1].

Tabuľka 1 – Faktory ovplyvňujúce výživové požiadavky detí [1]

Geneticky podmienené faktory	Faktory životného prostredia
<ul style="list-style-type: none">• vek• pohlavie• vrodené reakcie na základné chute• účinnosť a aktivita metabolických procesov• vrodené ochorenia	<ul style="list-style-type: none">• životný štýl• kultúrne zvyky• náboženské vyznanie• ekonomická situácia rodiny• reklama• prírodné prostredie (zemepisné pásmo)• užívanie liekov (nechutenstvo a pod.)

2.1.2 Výživové štádiá dieťaťa

Medzi deťmi v rozličnom veku sú podstatné rozdiely, a to v oblasti fyzického aj psychického vývoja. Preto sú dôležité aj rozličné výživové požiadavky podľa veku (viď Tabuľka 2).

Tabuľka 2 – Rozdelenie detského veku [2]

Vývojová fáza dieťaťa	Časové ohraňenie
Prenatálne obdobie	Plod v maternici (9 mesiacov)
Novorodenecké obdobie	28 dní (po narodení)
Dojčenské obdobie	do konca 12. mesiaca života
Batolivé obdobie	1 až 3 roky
Predškolské obdobie	3 až 6 rokov
Školské obdobie	6 až 15 rokov
Adolescencia	15 až 18 rokov

2.1.2.1 Novorodenci, dojčatá a batol'atá

Deti do troch rokov prechádzajú tromi výživovými štádiami. Prvé je obdobie výhradne mliečnej výživy. Toto trvá od narodenia do konca 6. mesiaca života dieťaťa. Počas tohto štádia dieťa konzumuje materské mlieko a v prípade dokrmovania aj detské umelé mlieko.

Materské mlieko svojim zložením zodpovedá fyziologickým potrebám novorodenca a dojčaťa. Medzi jeho pozitíva patrí obsah prebiotckej vlákniny, ktorá napomáha udržaniu optimálneho pH v črevách. Deti, ktoré sú dojčené, menej často trpia alergiami a inými imunitne sprostredkovanými ochoreniami. Množstvo vypitých tekutín by sa v tomto výživovom štádiu malo pohybovať v rozmedzí 125–150 ml/kg/24 hod [3].

Druhým obdobím je obdobie prechodné, ktoré trvá od 6. mesiaca až do 12. mesiaca. Ak je dieťa dojčené, malo by sa aj v tomto období v dojení pokračovať. Avšak po 6. mesiaci je už výhradne mliečna výživa nedostatočná z hľadiska príjmu energie a nutričných potrieb dojčaťa. Ako prvé príkrmy sú vhodné pyré z jedného druhu zeleniny (mrkva, zemiaky, cuketa). Tieto pokrmy sú vhodné ako náhrada obednej dávky mlieka a nemali by byť solené a sladené. Zavedenie príkrmov musí byť postupné, každým dňom sa pridáva väčšie množstvo až je nahradená celá dávka mlieka. Ďalej sú do stravy postupne pridávané pyré z kombinácie zeleniny, varené mäso či varený žltok. Nasledovne už môže byť zaradené aj ovocie a kaše (kukurica, ryžová a neskôr aj pšeničná a žitná) [3].

Tretím výživovým obdobím u dojčaťa je obdobie zmiešanej stravy. Toto trvá od jedného do troch rokov. Ide o upravenú rodinnú stravu. Dieťa je v tomto období schopné prijímať stravu obsahujúcu hrubšie kúsky. Pokrmy by mali byť bohaté na prísun vápnika. Je vhodné sa vyhnúť soleniu a prisladzovaniu potravín. Do tohto jedálnička už môžu byť zaradené mliečne výrobky, mäso, vajcia, strukoviny, ovocie, zelenina a cereálie. Správna výživa batoliat je kľúčová pre zaistenie rastu a vývoja dieťaťa a mal by ňou byť, okrem iného, zabezpečený aj prísun železa, zinku, jódu a vitamínu D [3].

Časový postup zavádzania príkrmov do stravy zobrazuje Tabuľka 3.

Tabuľka 3 – Časový postup zavádzania rôznych druhov príkrmov [2]

Vek	Potrava	Poznámka
0-4. mesiac	Materské mlieko Mliečna formula (ak matka nemôže dojčiť)	Je dostatočné na krytie nutričných potrieb do 6. mesiaca života.
4.–7. mesiac	Zeleninové pyré	„Žltá“ zelenina v prvom rade, „zelená“ zelenina až neskôr. Začať podávať zeleninu pred zavedením ovocia.
6.–9. mesiac	Ovocné pyré a ovocná šťava	Vyhýbať sa dezertom a zmiešanému ovociu.
	Mäsové, rybie a hydinové pyré, žltok	Vaječný bielok sa nepodáva pred ukončeným 12. mesiacom (riziko alergie)
	Cereálie obohatené železom	Ako prvé cereálie na báze ryže, gluten (pšenica, raž, jačmeň) nepodávať do ukončenia 6. mesiaca.
	Potraviny v kúskoch („finger food“), ošúpané ovocie, varená zelenina, syry	Bez pridávania cukrov, tukov, solí a korenín. Zavádzať stravu rôznej konzistencie v záujem stimulácie žuvania.

2.1.2.2 Deti predškolského veku

Predškolské obdobie trvá od 3 do 6 rokov. Tempo rastu je oproti batolivému obdobiu pomalšie. V tejto súvislosti často u dieťaťa nastáva zníženie chuti do jedla [2].

Deti v tomto vývojovom štádiu majú malú kapacitu žalúdka. Preto sa odporúča jesť v menších porciách niekoľkokrát denne. Optimálny počet jedál je 5 a v tomto prípade desiata a olovrant tvoria rovnako významnú časť jedálničku ako hlavné jedlá. Strava by mala v dostatočnom množstve obsahovať vlákninu (rozpustnú aj nerozpustnú). U dieťaťa vo veku 6 rokov je odporúčané množstvo vlákniny 11 g/deň. Mäso sa odporúča podávať maximálne trikrát za týždeň, pričom prednosť má chudé mäso pred údeninami. Ďalej má pozitívny vplyv zaradenie rýb pre ich obsah omega-3 mastných kyselín, zeleniny bohatej na kyselinu listovú (hrášok, karfiol, brokolica, špenát) a tiež celozrnného pečiva, strukovín, ovocia a orechov. Dôležitý je tiež pitný režim, kde sa odporúča preferencia čistej vody, prípadne nesladených čajov, menej už ovocné šťavy a džúsy [4].

2.1.2.3 Deti v školskom veku a adolescenti

Deti v školskom období života môžeme rozdeliť na deti mladšieho školského veku (6-10 rokov) a deti staršieho školského veku (10–14 rokov). V mladšom školskom veku má na stravovanie detí vplyv nový denný režim spojený s nástupom do školy, záujmovými krúžkami a tiež tu možno pozorovať vplyv kamarátov a spolužiakov. V tomto veku je nutné venovať pozornosť extrémom, ktoré môžu nastať v hmotnosti. A to nadváhe na jednej strane alebo neprimerane nízkej hmotnosti na strane druhej, ktoré sa v tomto období dajú riešiť ľahšie ako neskôr. Raňajky by mali pokryť 20–25 % z celkového denného príjmu energie. Ďalšou dôležitou súčasťou je desiata, ktorej energetická hodnota by mala byť 10–15 % denného príjmu. Z nutričného hľadiska je odporúčaná konzumácia obilnín v 3 až 4 porciách, mlieka a mliečnych výrobkov v 2 až 3 porciách, ovocia v 2 porciách a zeleninu ku každému hlavnému jedlu. Príjem mäsa by mal byť 60 až 90 g/deň. Toto obdobie je charakteristické tým, že sa môže prejaviť nedostatok vitamínu C, vápniku, železa a jódu. Preto by tieto mikroživiny nemali v strave chýbať [5].

V staršom školskom veku sa rýchlosť rastu opäť zvyšuje, nastáva počiatok puberty. Začínajú sa vo väčšej miere prejavovať rozdiely v nárokoch na výživu medzi chlapcami a dievčatami [6].

Dôležitou súčasťou stravy by mali byť potraviny bohaté na vápnik kvôli prevencii vzniku osteoporózy v neskoršom veku. Ďalej sú dôležité fosfor s horčík. Dievčatá by mali dbať na zvýšený príjem železa v súvislosti s nástupom menštruácie. U chlapcov je v dôsledku rastu svalovej hmoty zvýšiť príjem vitamínov skupiny B. V kontexte zvýšenej tvorby hormónov je dôležitý aj príjem tukov. Väčšiu úlohu by mali zohrávať rastlinné tuky oproti živočíšnym, vhodná je aj konzumácia rýb [5].

Charakter stravovania je v staršom školskom veku taktiež do veľkej miery ovplyvnený spoločnosťou módou a aktuálnymi trendami. Atraktívnymi sa stávajú rôzne alternatívne druhy stravovania ako vegetariánstvo, vegánstvo či delená strava. Tieto druhy výživy môžu mať pri nedostatočnom doplnení potrebných živín negatívny vplyv na detský organizmus [5][6].

U adolescentov je potrebné znovu prihliadať na rýchly rozvoj svalovej hmoty a s ním potrebný dostatočný prísun bielkovín ale aj ďalších makro a mikronutrientov. V tomto je potrebné dbať najmä na správne stravovacie návyky a pestrosť a vyváženosť stravy [5][6].

2.2 Význam sacharidov a vlákniny v potrave

V bežnom stravovacom režime sacharidy tvoria hlavný zdroj energie. Ide o rozmanitú škálu zlúčenín s rôznym významom pre ľudskú výživu. Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) delí sacharidy z nutričného hľadiska na glykemické, ktoré sú trávené a vstrebávané v tenkom čreve a sú zdrojom energie. Ďalšou skupinou sú nestráviteľné sacharidy, a teda vláknina. Tieto prechádzajú do hrubého čreva, kde sú spracované črevnými mikroorganizmami [7].

Počas prvých 6 mesiacov života sú zdrojom sacharidov laktóza a oligosacharidy obsiahnuté v materskom mlieku. Zavedenie príkrmov do stravy portfólia prijatých sacharidov výrazne rozširuje až by mali pokrývať 45-60 % celkového príjmu energie. Prijímané by mali byť najmä zo zeleniny, ovocia a obilnín. Tvoria teda nezastupiteľnú zložku ľudského jedálnička. U detí, ale aj u dospelých treba však dbať na vyváženú výživu aj z hľadiska sacharidov. Zvýšené množstvo konzumácie voľných cukrov (najmä pridávaných do spracovaných potravín a nápojov) vedie k vyššiemu riziku obezity, zubného kazu prípadne ďalších ochorení [7].

Vláknina je definovaná ako jedlá časť rastlinných materiálov, ktorá nemôže byť rozložená tráviacimi enzýmami. Delí sa na rozpustnú a nerozpustnú vo vode. Vláknina zásadným spôsobom ovplyvňuje črevnú mikroflóru. Rozpustná slúži ako substrát pre probiotické baktérie nachádzajúce sa v hrubom čreve. Zvyšuje počet kmeňov a produkty po jej fermentácii taktiež zvyšujú proliferáciu epitelu hrubého čreva. Nerozpustná vláknina nemôže byť metabolizovaná ale zvyšuje objem stolice a tak napomáha vylučovaniu [8].

Časť rozpustnej vlákniny tvorí skupina polysacharidov s názvom β -glukány. Obsiahnuté môžu byť v obilninách, riasach, hubách či droždí. Čo sa týka účinkov na organizmus, ide o silné imunitné stimulanty. Pomáhajú znižovať hladinu cholesterolu a triglyceridov, udržiavajú homeostázu glukózy v krvi. Okrem týchto vlastností majú aj významný vplyv na tráviaci trakt, kde pôsobia ako prebiotikum. Ako rozpustná vláknina sú fermentované črevnými baktériami. Dokážu na seba naviazať značné množstvo vody a v takomto stave sa vyznačujú vysokou viskozitou [9].

Ďalšou zaujímavou podskupinou sacharidov sú fruktány. Sú to polyméry a oligoméry fruktózy. Patrí sem inulín a fruktooligosacharidy (ďalej FOS). Tieto zlúčeniny majú niekoľko pozitívnych účinkov na ľudský organizmus. Fruktány pôsobia ako prebiotiká a ovplyvňujú absorpciu minerálnych látok, čo je nielen v detskom veku dôležité. FOS nie sú v ľudskom organizme hydrolyzované enzýmami v tenkom čreve, ale sú fermentované mikrobiómom v hrubom čreve, čím vplývajú na rast a metabolickú aktivitu probiotických baktérií. Prítomnosť fermentovateľných sacharidov, ako sú fruktány, môže stimulovať bakteriálnu proliferáciu v slepom čreve a uľahčiť absorpciu minerálnych látok ako vápnik a horčík [10].

2.3 Lipidy, lipofilné farbivá a ich význam v potrave

Lipidy patria k základným živinám. Sú najvýdatnejším zdrojom energie v potrave (9 kcal/1 g), nositeľmi esenciálnych mastných kyselín, vitamínov rozpustných v tukoch, sterolov a nemenej podstatne sú zodpovedné za charakteristickú chuť pokrmov. Ako veľmi energeticky bohatú zložku potravy však treba príjem tukov a ich zloženie sledovať. Vplyv

zloženia mastných kyselín prijatého tuku na zdravie človeka je signifikantný a to okrem iného aj z hľadiska prevencie kardiovaskulárnych ochorení [11].

Nasýtené mastné kyseliny prijaté v potrave sú významne spojené s hladinou LDL cholesterolu. Zredukovanie ich príjmu a nahradenie polynenasýtenými mastnými kyselinami podporuje zníženie rizika srdcovo cievnych ochorení. Hoci tieto choroby sú zväčša spájané s vyšším vekom pacienta už kvalita výživy v detstve ovplyvňuje pravdepodobnosť ich vzniku [12].

Polynenasýtené mastné kyseliny ovplyvňujú množstvo fyziologických procesov. Medzi významné zdroje týchto živín patria ryby a morské plody, orechy, rastlinné semenka, ale tiež čoraz vo vyššej miere riasy. Profil mastných kyselín u rias sa medzi jednotlivými druhmi líši, čo z nich robí zaujímavý zdroj pre nenasýtené mastné kyseliny [13].

Ďalšou zaujímavou zložkou potravy, ktorá má lipidický charakter sú lipofilné farbivá. Predstavujú každodennú súčasť ľudskej stravy, kde sú prijímané z ovocia, zeleniny či z moderných výživových doplnkov ako sú riasy. Jedným z najrozšírenejších farbív je chlorofyl, ktorý má v rastlinnej ríši nenahraditeľnú pozíciu. Medzi benefity na ľudský organizmus patria podpora trávenia, využíva sa na prevenciu rakoviny hrubého čreva, má antioxidantné a protizápalové účinky a vysoký podiel horčíku [14].

2.4 Potravinové intolerancie, alergie a poruchy

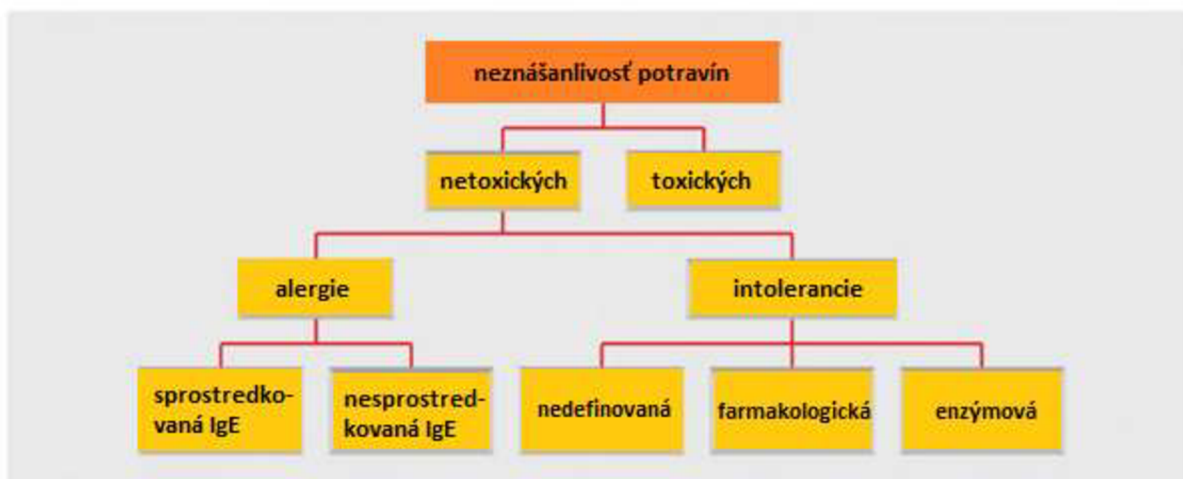
Zdravý organizmus je schopný riadne a bez problémov tráviť potravu a resorbovať živiny, transportovať živiny, podľa potreby metabolizovať živiny a získavať energiu a škodlivé metabolity vylúčiť. Pri tom všetkom sa pôsobením rôznych regulačných mechanizmov udržiava telesná hmotnosť a zloženie krvi a tkanivových tekutín [15].

Niektoré ochorenia tráviaceho traktu sa dajú prísunom jednej zložky potravy vyvolať a jej elimináciou zmierniť. Pri týchto gastrointestinálnych ochoreniach príznaky úplne zmiznú po vylúčení určitej látky z konzumovanej potravy. Ochorenie vyvolané určitou zložkou potravy nazývame špecifická intolerancia potravín. Patrí sem napríklad neznášanlivosť laktózy [15].

Oproti nej tiež existuje nešpecifická intolerancia potravín. Takto sú označované neurčité, premenné ťažkosti vyskytujúce sa pri rôznych ochoreniach a ich príčinná súvislosť s určitými zložkami potravy je ťažko dokázateľná [15].

Intolerancie predstavujú súčasť veľkej skupiny neznášanlivosti potravín. Ďalej sa do tejto veľkej skupiny zaraďujú alergie. Rozdelenie neznášanlivosti potravín zobrazuje Obrázok 1 [15].

V ekonomicky vyspelejších zemiach sa z 90 % na detských potravinových alergiách podieľa sedem základných druhov potravín. Patria sem kravské mlieko, vaječný bielok, sója, lepkové cereálie, arašidy, stromové orechy a ryby [4].



Obrázok 1 – Rozdelenie neznášanlivosti potravín [15]

2.4.1 Intolerancia laktózy

Laktóza (mliečny cukor) je disacharid vzniknutý spojením glukózy a galaktózy. V materskom mlieku je prítomných 6,8–7,2 g laktózy v 100 g mlieka. Kravské a kozie mlieko obsahujú 4,3–4,6 g laktózy v 100 g mlieka. Za normálnych okolností je laktóza štiepená enzýmom laktáza v tenkom čreve. Galaktóza sa podieľa na vývoji centrálnej nervovej sústavy (mozgové galaktolipidy) a tiež je súčasťou galaktoproteínov [16].

Intolerancia laktózy je jednou z najbežnejších gastrointestinálnych porúch. V rôznych stupňoch ňou trpí až 70 % dospelé ľudskej populácie. Táto intolerancia je spôsobená nedostatkom enzýmu laktáza (β -galaktozidáza) a sprevádzaná rôznymi tráviacimi ťažkosťami (bolesť brucha, nafukovanie, hnačka) po požití potraviny obsahujúcej laktózu. Laktózovú intoleranciu možno diagnostikovať niekoľkými metódami. Priamou (invazívnou) metódou je meraná aktivita laktázy v biptickej vzorke z tenkého čreva. Ďalšou možnosťou je nepriama (neinvazívna) metóda, pri ktorej sa vykoná výdychový test so stanovením vodíka vo vydychovanom vzduchu. Možnosťou liečby tejto neznášanlivosti je redukcia potravín s obsahom laktózy alebo užitie kvapiek s obsahom enzýmu laktáza pred jedlom. Vzhľadom na fakt, že mliečne výrobky sú primárnym zdrojom vápnika, môže pri tejto diéte dôjsť k jeho nedostatku, a preto je potrebné vápnik dopĺňať z iných zdrojov, aby nebola ovplyvnená denzita kostí [17].

2.4.2 Alergia na bielkovinu kravského mlieka

Alergia na bielkovinu kravského mlieka (ďalej BKM) sa vyskytuje u približne 2–3 % detí v prvom a druhom roku života. Najčastejšie ide o citlivosť na β -laktoglobulín alebo kazeín. Po konzumácii mlieka dochádza k vyplaveniu histamínu a ďalších látok zodpovedných za symptómy. Alergia môže mať niekoľko rôznych prejavov. Najčastejšie ide o okamžité reakcie sprostredkované IgE vo forme kožných a slizničných prejavov ako sú urtikária (žihľavka), zvracanie a respiračné ťažkosti (až anafylaktický šok). Neskôr sa môžu dostaviť oddialené prejavy ako ekzémy či hnačka. Približne 10 % detí vykazuje aj neurologické poruchy ako nepokojný spánok či zvýšená citlivosť. Podozrenie sa stanoví po vymiznutí príznakov pri vylúčení BKM zo stravy. Skutočná diagnóza je stanovená až po reexpozícii BKM, kedy sa znovu prejaví symptómy. Pomocnými metódami sú kožné testy s alergénom alebo

stanovenie protilátok proti jednotlivým bielkovinovým zložkám. Liečbou je len eliminačná diéta, kedy je zo stravy potrebné vylúčiť všetky druhy mlieka [18].

2.4.3 Celiakia

Celiakia je celoživotné autoimunitné ochorenie, ktoré postihuje ako deti tak aj dospelých. Môže viesť až k malabsopčnému syndrómu, ktorý vzniká v dôsledku toxického účinku lepku (gluténu). Lepok je komplex bielkovín nachádzajúci sa v obilných zrnách pšenice, žita, jačmeňa a ovsa a to v ich povrchovej časti. Imunitná reakcia vzniká pri charakteristickej poruche sliznice tenkého čreva a vedie k malabsorpcii živín, čo môže spôsobiť až výraznú malnutríciu. Dievčatá bývajú postihnuté dvakrát až trikrát častejšie než chlapci. Významný faktom je, že počet nerozpoznaných prípadov prevyšuje počet diagnostikovaných a to až v pomere 4:1 [19].

Celiakia je doživotné ochorenie a neexistuje pre ňu priama liečba. Jedinou možnosťou je vynechanie potravín obsahujúcich lepok zo stravy. Nedodržovanie bezlepkovej diéty môže mať vážne následky ako zápal črevnej steny, ktorý vedie k vyhladeniu klkov v čreve. Ďalej môže porušovanie tejto diéty viesť aj k nádoru čreva a tiež môže mať negatívny vplyv na plodnosť [20].

Príznaky tohto ochorenia závisia na stupni poškodenia čreva zápalom. Odvíjajú sa od nedostatku jednotlivých živín a minerálov. Jedným z častých dôsledkov je nedostatok vápnika. Približne 50 % celiatikov zaznamenalo črevné a žalúdočné problémy. Asi 15x častejšie sú ťažkosti mimo tráviacej sústavy a to práve tým viac čím je človek v čase vzniku celiakie starší. Diagnostika prebieha pomocou fibroskopie a krvných testov, kde sa zisťujú protilátky [20].

2.4.4 Alergia na vaječnú bielkovinu

Alergia na vaječnú bielkovinu je jedna z najčastejších alergií u malých detí. Väčšinou nie je život ohrozujúca a liečba zahŕňa vylúčenie vaječnej bielkoviny z potravy a pravidelné lekárske kontroly. Vysoké percento detí z alergie vyrastie do školského veku [21].

Prevalencia tejto alergie je 0,5–3,5 %. Vystavenie dieťaťa malému množstvu spracovanej vaječnej bielkoviny (napr. pečené produkty) je väčšinou dobre znášaná a prispieva k vytvoreniu tolerancie v neskoršom veku [22].

Vo vaječnom bielku sa nachádza niekoľko alergénnych proteínov. Patria sem ovomucoid, ovalbumín, conalbumín, ovotransferín, lyzozým. Deti, u ktorých alergia pretrvá a nevyrastú z nej, vykazujú vyššiu hladinu špecifických IgE na ovomucoid a ovalbumín. Hlavným alergénom vaječného žltka je slepačí sérový albumín. Jeho prejavy zahŕňajú neznášanlivosť hydínového mäsa, ale môžu sa tiež vyskytnúť respiračné problémy pri kontakte s perím [22].

Alergia na vaječnú bielkovinu sa prejavuje najčastejšie kožnými reakciami, a to už po 30 minútach od zjedenia vajíčka. Tiež sa môžu vyskytnúť gastrointestinálne ťažkosti prípadne problémy s respiračným systémom. Je nutné vylúčiť aj vajíčka inej hydiny ako sú husacie, kačacie, prepeličie či pštrosie [22].

2.4.5 Alergia na arašidy

Arašidy sú jedlé semená rastliny podzemnica olejná (*Arachis hypogea*) z čeľade bôbovité. Sú dôležitou potravinárskou plodinou známou pre svoj vysoký obsah proteínov, vlákniny

a najmä olejov. Tieto oleje sú výborným zdrojom mono a polynenasýtených mastných kyselín. Konzumácia arašidov na dennej báze je spojená s redukciou mortality až o 20 % [23].

Na druhej strane, okrem pozitív spojených s konzumáciou arašidov, sú tieto semená jedným z najčastejších alergénov. Pre väčšinu pacientov sa jedná o celoživotný stav, ktorý môže byť príčinou až život ohrozujúcich stavov. Najdôležitejšia je presná diagnóza a striktné vyhýbanie sa arašidom spolu s rýchlym prístupom k liekom pri náhodnom požití, keďže arašidy môžu byť obsiahnuté v rôznych potravinách. Arašidy a orechy sú bohatým zdrojom nenasýtených mastných kyselín a pri ich vynechaní zo stravy je potrebné tieto dopĺňovať z iných zdrojov [24].

Priemerný vek objavenia sa alergie na arašidy je 18 mesiacov, avšak táto porucha sa môže prejaviť aj neskôr v detstve prípadne až v dospelosti. Výskyt tejto alergie u detí je približne 1,4–5 % a variabilita súvisí aj s geografiou. Nerovnomernosť rozloženia a tiež jeden z dôvodov nízkej prevalencie môže súvisieť so skorým zavádzaním arašidov do stravy (Izrael). Avšak na strane druhej, na svete sa vyskytujú oblasti (Sibír), kde je prevalencia tejto alergie nízka aj keď arašidy nie sú zavádzané do stravy detí v skorom veku. Tieto pozorovania naznačujú, že hoci je načasovanie zavedenia rôznych potravín do stravy dôležité, nie je to jediný faktor ovplyvňujúci potravinové alergie [24].

Arašidy obsahujú 24–29 % proteínov. Doposiaľ bolo identifikovaných 17 arašidových alergénov. Alergenicitá môže byť ovplyvnená aj spôsobom spracovania. Medzi symptómy tejto alergie patria urtikária, bolesť brucha, zvracanie, ťažkosti s dýchaním, zvieranie hrude až anafylaktický šok. Arašidy a stromové orechy sú spoločne zodpovedné za 55–87 % prípadov fatálnych anafylaxií spôsobených jedlom. Alergia na arašidy býva diagnostikovaná pomocou kožných testov alebo krvných testov na zistenie protilátok [24].

2.5 Doplnky stravy pre deti

Z hľadiska zdravého vývoja v období rastu a dospievania je potrebné, aby strava pokrývala všetky nároky organizmu na makronutrienty ale tiež mikronutrienty. Pri rôznych detských potravinových intoleranciách a alergiách je častokrát nutné tieto živiny dodávať vo forme doplnkov stravy. Taktiež aj pri zdravých deťoch strava nie vždy pokryje všetky nutričné nároky organizmu. Samozrejme je dôležité, aby boli tieto doplnky podávané veku primerane, vo vhodnej dávke, pokiaľ možno v čo najprírodnejšej forme a taktiež je tu snaha, aby boli pre deti či už vizuálne ale aj chuťovo atraktívne [25].

Medzi užitočné doplnky patria bioflavonoidy, ktoré pôsobia protizápalovo a do tejto skupiny látok patrí aj napr. kvercetín vyskytujúci sa v ovocí a zelenine. Čo sa týka minerálnych látok pri alergiách je potrebné dopĺňovať najmä vápnik a horčík. Na podráždené mukózne membrány priaznivo pôsobia karotenoidy. V neposlednom rade netreba zabudnúť na esenciálne mastné kyseliny, či vitamín C, vitamín D a vitamíny skupiny B. Tieto doplnky by však určite nemali nahrádzať pestrú a vyváženú stravu a mali by pôsobiť len ako pomocné mechanizmy pri doplnení prechodného nedostatku, prípadne trvalého v prípade intolerancií a alergií niektorých potravín [25].

2.6 Legislatíva

Požiadavky na potraviny pre zvláštnu výživu, kam patrí aj detská výživa, upravuje nariadenie (EU) č. 609/2013 o potravinách určených pre dojčatá a malé deti, potravinách pre zvláštnu lekárske účely a náhrade celodennej stravy pre reguláciu hmotnosti. V tomto nariadení sú zahrnuté potraviny, ktoré sú určené pre tzv. zraniteľné skupiny obyvateľov [26].

V súčasnosti platí novelizovaná vyhláška č. 54/2004 Sb., ktorá bola upravená vyhláškou č. 39/2018 Sb. (celkom 72 novelizačných bodov). Účelom nového znenia vyhlášky č. 54/2004 Sb. je zapracovať príslušné predpisy Európskej únie. Na rozdiel od nariadenia (EU) č. 609/2013 sú uvedené a doplnené aj niektoré druhy potravín, ktoré sa v nariadení nenachádzajú. Pre účely tejto novelizovanej vyhlášky sa rozlišujú nasledujúce kategórie potravín:

- a) počiatočná a pokračovacia dojčenská výživa a výživa malých detí,
- b) obilné príkrmy a potraviny pre malé deti,
- c) náhrady celodennej stravy pre reguláciu hmotnosti,
- d) potraviny pre zvláštnu lekárske účely,
- e) potraviny s nízkym obsahom laktózy alebo bezlaktózové [26].

Čo sa týka prvej kategórie, a teda počiatočnej a pokračovacej dojčenskej výživy a výživy malých detí, tak vyhláška upravuje zloženie, obsah bielkovín, vitamínov, minerálnych látok a ich pôvod. Tieto výživy musia byť zdravotne nezávadné a musia spĺňať mikrobiologické požiadavky stanovené Európskou úniou, nesmú obsahovať rezíduá pesticídov v množstve prekračujúcom 0,01 mg/kg výrobku. Vo vyhláške je upravené aj označenie výrobku, ktoré musí byť zrozumiteľné, aby bolo vylúčené riziko zámeny. Ďalej musí obal obsahovať energetickú hodnotu, zloženie a spôsob prípravy [26].

Obilné príkrmy a potraviny pre malé deti majú legislatívne stanovené podobné požiadavky ako dojčenská výživa. Ďalej tu musí byť uvedený vek, ktorý nesmie byť nižší než ukončený štvrtý mesiac [26].

2.7 Charakteristika vybraných vzoriek potravín

Pre analýzy bolo vybraných osem vzoriek potravín. Zastúpenie tu majú obilniny, riasy, sinice, čaj, zelené rastliny a olejnaté semená. Ide o zelenú pšenicu, zelený jačmeň, chlorellu, spirulinu, matchu, moringu, sezamové semienka a ľanové semienka.

2.7.1 Zelená pšenica

Zelená pšenica je nezrelá tráva pšenice *Triticum aestivum*, ktorá rastie v miernych pásmach Európy a Ameriky. Ide o bohatý zdroj aminokyselín, vitamínov A, C, E a minerálnych látok ako železo, vápnik, horčík. Tiež obsahuje polyfenoly ako kyselina ferulová. Má antikarcinogénne a antibakteriálne účinky. Vykazuje tiež antioxidačnú aktivitu [27].

Zelená pšenica pozitívne vplýva na zvýšenie hladiny hemoglobínu v krvi a prevencii bakteriálnych ochorení. Jej pravidelná konzumácia môže napomôcť pri ochoreniach ako bronchitída, reumatická bolesť, zápaly v ústach a krku. Posilňuje imunitný systém. Pozitívne vplýva pri odstraňovaní toxínov z pečene rovnako ako ťažkých kovov a voľných radikálov v organizme. Pozitívom je vysoký obsah chlorofylu. Keďže lepok je obsiahnutý len v zrnách a v tráve rastliny sa nenachádza, je zelená pšenica vhodná aj do bezlepkovej diéty [28].

Pomocou LC-MS techniky bolo v zelenej pšenici identifikovaných 297 rôznych proteínov. Z čoho vyplýva, že je aj výborným zdrojom bielkovín. Patria sem enzýmy ako oxidoreduktázy, amyláza, peroxidáza či glutenín. Obsah jednotlivých proteínov závisí na veku rastliny [28].

Rastlina a jej jednotlivé časti je zobrazená na Obrázok 2.



Obrázok 2 – Pšenica siata [29]

2.7.2 Zelený jačmeň

Ide o niekoľkodňové zelené výhonky rastliny jačmeň siaty (*Hordeum vulgare*) (Obrázok 3). Ľahko sa dá vypestovať aj doma. Má podobné vlastnosti ako zelená pšenica, v obsahu minerálnych látok ju dokonca prekonáva. Má vysoký podiel bielkovín a vlákniny. Pre svoj obsah chlorofylu pozitívne ovplyvňuje krvotvorbu a najmä hladinu hemoglobínu v krvi, čo môže pomôcť pri výskyte anémie. Z minerálnych látok obsahuje železo, vápnik, draslík, kobalt, horčík a zinok. Medzi ďalšie mikronutrienty na ktoré je bohatý patria β -karotén, folát, kyselinu pantoténovú a ďalšie vitamíny skupiny B a tiež vitamín C [30].

Z bioflavonoidov je v mladom jačmeni obsiahnutý lutoharín a saponarín, ktoré zohrávajú úlohu pri odstraňovaní reaktívnych kyslíkových spécií. Navyše bolo preukázané, že mladý jačmeň má vplyv na gastrointestinálny systém, kde pôsobí alkalizujúco a podporuje detoxikáciu organizmu. Znižuje riziko kardiovaskulárnych ochorení a hladinu cholesterolu. Taktiež sa vyznačuje antioxidačnou aktivitou [27].

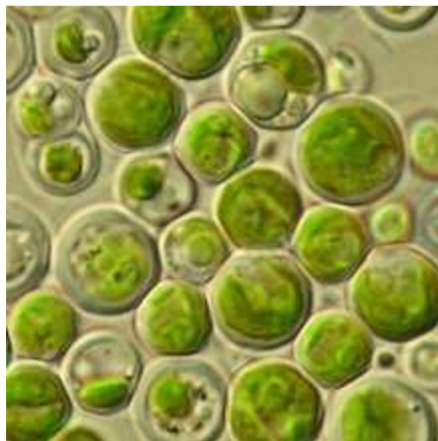


Obrázok 3 – Jačmeň siaty [31]

2.7.3 Chlorella

Chlorella je tmavozelená jednobunková sladkovodná riasa (vid' Obrázok 4). Bohatá je najmä na proteíny, ďalej obsahuje esenciálne aminokyseliny, nenasýtené mastné kyseliny, vitamíny, minerálne látky, karotenoidy a vlákninu [32].

Ako už naznačuje farba a názov chlorelly, táto riasa je mimoriadne bohatá na chlorofyl. Ide tiež o vzácny rastlinný zdroj vitamínu B12, ktorý je nenahraditeľný pri krvotvorbe a funkcii CNS. Často je preto využívaná vo vegánskej a vegetariánskej strave. Chlorella dopomáha k zníženiu oxidačného stresu, pozitívne vplýva na trávenie vďaka svojmu obsahu vlákniny. Sú jej pripisované tiež antikarcinogénne vlastnosti [33].



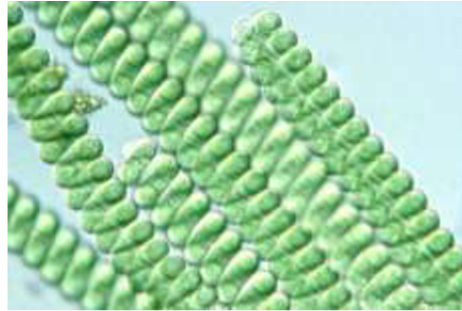
Obrázok 4 – Chlorella pyrenoidosa [34]

2.7.4 Spirulina

Spirulina (*Arthrospira platensis*) je modrozelená sladkovodná sinica (vid' Obrázok 5). Má veľmi dlhú históriu, bola využívaná už Aztékmi. Dnes je dokonca pridávaná do jedla NASA kozmonautom. Predstavuje významný zdroj proteínov (70 %) a taktiež vitamínov. Podobne ako chlorella je taktiež zdrojom vitamínu B12. Obsahuje β -karotén, minerálne látky, vo

vysokej miere železo, mangán, meď a zinok. Spirulina je bohatá na fenolické látky, tokoferol (vitamín E) a tiež kyselinu γ -linolénovú [35].

Spirulina má protizápalové účinky a podporuje imunitný systém. Pomáha znižovať hladinu LDL cholesterolu a triglyceridov a má antioxidačné účinky. Pozitívne vplýva na krvotvorbu vďaka obsahu železa a kyseliny listovej [35].



Obrázok 5 – Spirulina [36]

2.7.5 Čaj matcha

Ide o sušenú dužinu najmladších lístkov čajovníku čínskeho (*Camellia sinensis*) rozomletých na jemný prášok. Pri jeho výrobe nedochádza k fermentácii. Vo svete za niekoľko posledných rokov stúpla jeho popularita. Pre svoj obsah L-theanínu, epigalokatechín galátu a kofeínu ovplyvňuje náladu a kognitívne schopnosti [37].

Zelený čaj vo svojich sušených lístkoch okrem iného obsahuje 15 % proteínov, 26 % vlákniny a 7 % lipidov. Konzumácia zeleného čaju pozitívne vplýva pri ochoreniach pečene a srdca. Tak isto pomáha pri liečbe metabolického syndrómu, ktorý zahŕňa obezitu, diabetes II. typu a zvýšené riziko kardiovaskulárnych ochorení. Známe sú tiež protizápalové, antibakteriálne a antioxidačné účinky. Prospešnosť zeleného čaju na zdravie je založená na vysokom obsahu polyfenolov, ktoré predstavujú až 30 % hmotnosti vysušených čajových lístkov. Rastlina je zobrazená vid' Obrázok 6 [38].



Obrázok 6 – Čajovník čínsky [39]

2.7.6 Moringa olejodarná

Moringa olejodarná (*Moringa oleifera*), (vid' Obrázok 7) je strom, ktorý pôvodne pochádza z Indie. V súčasnosti sa pestuje po celom svete v tropických a subtropických oblastiach. Strom rastie veľmi rýchlo do výšky 10 až 12 metrov. Štúdie ukazujú, že všetky časti stromu

vrátane kôry môžu byť v potravinárstve a medicíne využívané. Avšak najbežnejšie sa pre tieto účely spracúvajú listy. Medzi nutričné benefity moringy patrí vysoký obsah vitamínov, minerálnych látok a esenciálnych aminokyselín. Listy vykazujú pozitívne účinky na organizmus, medzi ktoré patria antioxidantné, protizápalové, antimikrobiálne, neuroprotektívne a hepatoprotektívne účinky [40].

Moringa olejodarná je rastlina, ktorá je vďaka svojmu obsahu nutrične hodnotných látok využívaná v boji s podvýživou v rozvojových krajinách. Obsahuje sedemkrát viac vitamínu C ako pomaranč, 25-krát viac železa než špenát, 17-krát viac vápniku než mlieko, ďalej tiež vitamín A, draslík a vysoký podiel proteínov [41].



Obrázok 7 – Listy moringy olejodarnej [42]

2.7.7 Sezamové semienka

Sezam indický (*Sesamum indicum*) je rastlina (viď Obrázok 8) bežne rastúca v tropických a subtropických regiónoch sveta najmä v Barme, Indii, Číne a Sudáne. Sezamové semienka sa väčšinou využívajú v pečive a pochutinách a pre organizmus sú zdrojom olejov, najmä nenasýtených mastných kyselín, proteínov, sacharidov a minerálnych látok. V tradičnej čínskej medicíne sú využívané pri problémoch s pečeňou a obličkami. Fytochemické zlúčeniny v sezame ako sezamín a sezamol majú antioxidantné účinky. Sezamín a sezamolín vykazujú protizápalový, antikarcinogénny efekt a pozitívny vplyv na vysoký krvný tlak [43].

Sezamín chráni pečeň pred poškodením oxidáciou. Sezamové semienka vykazujú aj antibakteriálny efekt proti bežným kožným patogénom *Staphylococcus* a *Streptococcus spp.*. Rovnako majú tiež antifungálny účinok [44].



Obrázok 8 – Sezam indický [45]

2.7.8 Ľanové semenka

Ľan siaty (*Linum usitatissimum*) je jednoročná bylina, ktorá pochádza z Blízkeho východu. Využívaná je na technické účely, ale tiež vo výžive. Rastlina a jej časti sú zobrazené na Obrázok 9. Ľanové semená sú ploché, tmavohnedé a lesklé. Obsahujú vysoké množstvo makronutrientov aj mikronutrientov. Ľanové semenka obsahujú 40 % tukov, pričom najvyššie zastúpenie má kyselina α -linolénová. Podiel proteínov a sacharidov je zhodne približne po 30 %. Čo sa týka vitamínov a minerálnych látok sú ľanové semenka bohatým zdrojom kyseliny listovej, niacínu, vitamínu E, draslíka, fosforu, horčíka a vápnika [46].

Ľanové semenka priaznivo pôsobia pri prevencii a liečbe aterosklerózy, pomáhajú pri znížení hladiny cholesterolu a vysokého krvného tlaku. Pozitívne pôsobia na imunitný systém a tiež tráviaci systém, kde sú užitočné pre svoj vysoký obsah vlákniny a vplyv na metabolizmus žlčových kyselín [46].



Obrázok 9 – Ľan siaty [47]

2.8 Princípy použitých techník

2.8.1 UV-VIS Spektrofotometria

Ultrafialová viditeľná spektrofotometria je primárne kvantitatívna analytická technika založená na absorpcii UV (180–390 nm) alebo viditeľného (390–780 nm) žiarenia chemickou spéciou pri prechode vzorkou. Pri absorpcii žiarenia dochádza ku zmene rotačne vibračných energetických stavov molekuly. Pri kontrolovaných experimentálnych podmienkach je podľa množstvo absorbovaného žiarenia priamo úmerné koncentrácii analytu v roztoku. Technika je široko používaná pri kvantifikácii organických aj anorganických molekúl [48].

Inštrumentácia prístroja začína zdrojom žiarenia, kde môže byť využitá volfrámová žiarovka alebo vodíková výbojka. Žiarenie ďalej prechádza monochromátorom, ktorý zahrňuje optický prvok (hranol, mriežka), kde je vybratá len požadovaná vlnová dĺžka žiarenia. Nasleduje kyveta so vzorkou. Pre analýzy v UV oblasti sa využíva kremenná kyveta, pre analýzy vo viditeľnej oblasti postačuje kyveta zo skla. Po prechode vzorkou je žiarenie detekované na detektore, čo môže byť fotonásobič alebo diódové pole [49].

V tejto diplomovej práci bola UV-VIS spektrofotometria využitá pri stanovení celkových sacharidov, redukujúcich cukrov, fruktánov a β -glukánov.

2.8.2 Plynová chromatografia

Plynová chromatografia je separačná analytická metóda založená na rozdeľovaní zložiek medzi dve fázy, a to stacionárnu a mobilnú fázu, na základe afinity k jednotlivým fázam. Mobilnou fázou je plyn, ktorý sa nazýva aj nosný plyn, najčastejšie ide o dusík, vodík, hélium alebo argón. Stacionárna fáza je umiestnená v chromatografickej kolóne a môže sa jednať o silikagél, aktívne uhlie, polymérne sorbenty apod. [49].

Priebeh analýzy je nasledovný. Vzorka sa vnesie do vyhrievaného injektora, kde sa odparí. Vo forme pár je následne unášaná nosným plynom do kolóny. Nosný plyn postupne unáša vzorky cez kolónu, kde sa sorbujú a desorbujú v závislosti od afinity k fázam. Každá vzorka postupuje kolónou v závislosti na distribučnej konštante. Jednotlivé látky kolónu opúšťajú vo vzostupnom poradí podľa hodnôt ich distribučnej konštanty a vstupujú do detektoru. Detektor indikuje koncentráciu separovanej látky. Výstupom analýzy je chromatogram obsahujúci krivky nazývané píky. Podľa polohy píku je možné určiť o akú látku ide a podľa jeho plochy, prípadne výšky, je stanovená koncentrácia danej látky [49][50].

Medzi základné časti plynového chromatografu patrí zásobník nosného plynu, injektor, termostat, regulátor prietoku, chromatografická kolóna a detektor, najčastejšie plameňovo ionizačný FID, ale často sa tiež využíva MS detekcia. Koncovou súčasťou je neodmysliteľne počítač, ktorý poskytuje výstup analýzy [50].

Podmienkou pre vzorky podrobené tejto analýze je, že musia byť prchavé. Všetky látky vstupujúce do deliaceho systému musia byť v plynnej fáze. Používa sa rovnako pre analýzu stopových množstiev ako pre stanovenie hlavných zložiek. Vo všeobecnosti možno plynovou chromatografiou analyzovať látky do bodu varu 800 °C a relatívnej molekulovej hmotnosti menšej ako 1 600 [51].

Tento druh analytickej techniky bol v práci využitý pri stanovení profilu mastných kyselín vzoriek.

2.8.3 Vysokoučinná kvapalinová chromatografia (HPLC)

HPLC chromatografia je analytická separačná technika založená na separácii látok na základe ich interakcie s mobilnou a stacionárnou fázou. Mobilnou fázou je v tomto prípade kvapalina. Táto technika môže byť použitá pri analýze látok s rôznymi parametrami od nízkomolekulárnych až po vysokomolekulárne. HPLC technika zahŕňa prechod vzorky rozpustenej v mobilnej fáze cez stacionárnu fázu. Fázy sú vzájomne nemiešateľné. Následne sa vzorka v kolóne separuje a separované zložky prechádzajú na detektor. Výstupom je chromatogram s píkmami. HPLC poskytuje ako kvantitatívnu, tak aj kvalitatívnu informáciu o vzorke [52].

Inštrumentácia moderného HPLC systému obsahuje dávkovač mobilnej fázy, pumpu, injektor, kolónu, detektor a počítač. Kolóna má priemer 2–5 mm a dĺžku 10–30 cm. Náplňou, a teda stacionárnou fázou, je väčšinou silikagél. V HPLC sa ako detektor využíva refraktometrický, UV-VIS, vodivostný, fluorescenčný ale tiež MS detektor [52].

Výhodou HPLC je široká škála jej využitia. Pomocou tejto techniky môžu byť analyzované ióny, polárne i nepolárne látky, látky málo prchavé, tepelne nestabilné aj vysokomolekulárne. Separáciu je možné ovplyvniť zložením mobilnej fázy [53].

Pomocou HPLC techniky boli v diplomovej práci stanovené cukry a tiež farbivá v analyzovaných vzorkách.

3 CIELE PRÁCE

Cieľom práce je vývoj a charakterizácia moderných doplnkov stravy s obsahom vybraných aktívnych látok pre detskú výživu. V rámci práce boli riešené nasledujúce úlohy:

1. Spracovanie rešerše na danú tému
2. Výber, charakterizácia a izolácia prírodných aktívnych látok
3. Návrh optimálneho zloženia prírodného doplnku stravy
4. Vyhodnotenie výsledkov a diskusia

4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1 Použité prístroje, pomôcky a chemikálie

4.1.1 Použité chemikálie

Acetonitril pre HPLC, Roth (SRN)
Albumín, Sigma-Aldrich (SRN)
Alginát sodný, Sigma-Aldrich (SRN)
Azid sodný, Lachema (ČR)
Borohydrid sodný, Sigma-Aldrich (SRN)
Citronan sodný, Lachema (ČR)
Dextróza, Sigma-Aldrich (SRN)
Dihydrogenfosforečnan draselný dihydrát, Lach-Ner (ČR)
Dihydrogenfosforečnan sodný dihydrát, Lach-Ner (ČR)
Etanol, Lach-Ner (ČR)
Etylester kyseliny octovej pre HPLC, Roth (SRN)
Fenol, Lach-Ner (ČR)
Folin-Ciocalteuovo činidlo, Penta (ČR)
Fosfatidylcholín, Sigma-Aldrich (SRN)
Fruktóza, Sigma-Aldrich (SRN)
Glukóza, Sigma-Aldrich (SRN)
Hexakynoželeznan draselný, Lach-Ner (ČR)
Hexán pre HPLC, Roth (SRN)
Hydrogenhličitán sodný, Penta (ČR)
Hydroxid sodný, Lach-Ner (ČR)
Chlorid vápenatý dihydrát, Lachema (ČR)
Chloroform pre HPLC, Roth (SRN)
Cholesterol, Sigma-Aldrich (SRN)
Kyselina chlorovodíková 35%, Lach-Ner (ČR)
Kyselina maleínová, Sigma-Aldrich (SRN)
Kyselina octová 99,8%, Lach-Ner (ČR)
Kyselina sírová 96%, Lach-Ner (ČR)
Kyselina šťaveľová dihydrát, Penta (ČR)
Maltóza, Lach-Ner (ČR)
Metanol pre HPLC, Roth (SRN)
p-hydroxybenzhydrazid, Sigma-Aldrich (SRN)
Ramnóza, Sigma-Aldrich (SRN)
Sacharóza, Penta (ČR)
Síran meďnatý pentahydrát, Lachema (ČR)
Síran sodný, Lach-Ner (ČR)
Síran zinočnatý, Penta (ČR)
Vínan sodno-draselný, Lachema (ČR)
Xylóza, Sigma-Aldrich (SRN)

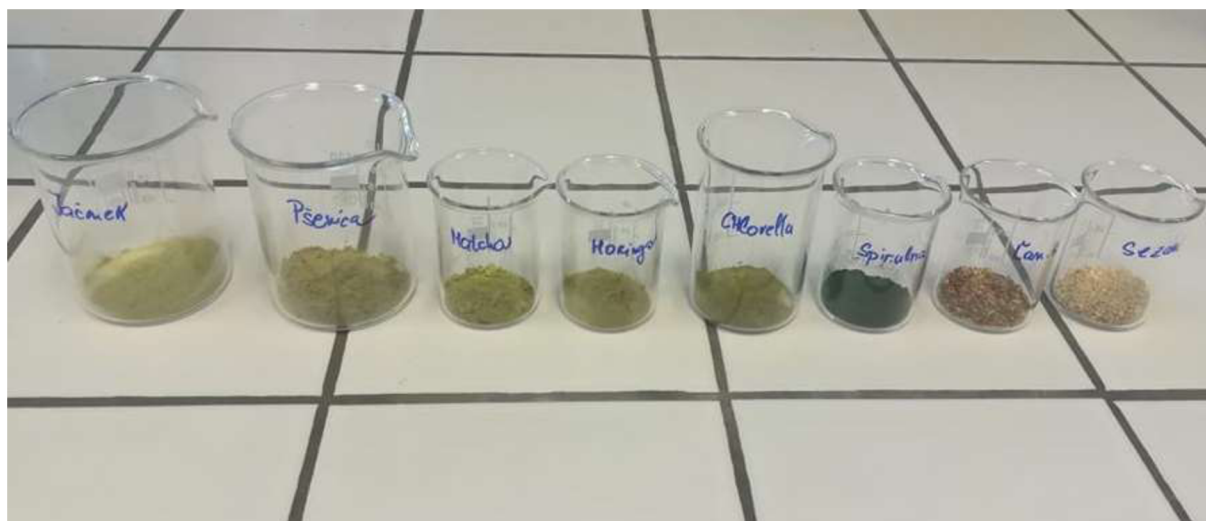
4.1.2 Použité prístroje a pomôcky

Analytické váhy, Boeco (SRN)
Automatické pipety rôzneho objemového rozsahu
Centrifúga, Sartorius, Biotech (ČR)
Elektrický varič, ETA (ČR)
Enkapsulátor Büchi B-395 Pro (Švajčiarsko)
Extraktor SOXTHERM, Gerhardt (SRN)
HPLC zostava, Thermo Fisher Scientific (USA)
Kjeldatherm KT-L - mineralizačné bloky, Gerhardt (SRN)
Magnetická miešačka s ohrevom, Lavat, Verkon (ČR)
Mikrocentrifúga Mikro 120, Hettich Zentrifugen (SRN)
Nanophotometer UV/VIS Spectrophotometer, IMPLEN (SRN)
Nylonové filtre 13 mm, veľkosť pórov 0,45 μm , Chromservis (ČR)
pH meter, Hanna Instruments (USA)
Plynový chromatograf TRACETM 1300, Thermo Fisher Scientific (IT)
Predvážky, Kern & Sohn GmbH (SRN)
Spektrofotometer, Helios γ , Unicam (UK)
Súprava pre stanovenie fruktánov – Fructan Assay Kit, Megazyme (USA)
Súprava pre stanovenie β -glukánov – Beta-Glucan Assay Kit, Megazyme (USA)
Temperovaná trepačka, Heidolph Inkubator 1000 (SRN)
Termoblok, SBH200D, Stuart (UK)
Ultrazvukový kúpeľ PS0200 (ČR)
Vákuová rotačná odparka Werke RV06-ML: IKA (SRN)
Vapodest - destilačný systém, Gerhardt (SRN)
Vortex, TK3S, Kartell spa (USA)
Vykurovacie hniezdo pre banky, Brněnská Drutěva (ČR)

4.2 Použité vzorky

V experimentálnej časti tejto diplomovej práce bolo pre analýzy využívaných osem rôznych druhov vzoriek (viď Obrázok 10). Konkrétne to boli:

- Zelený jačmeň prášok Bio, Les fruits du paradise, Covitar s.r.o.
- Mladá pšenica prášok Bio, Les fruits du paradise, Covitar s.r.o.
- Moringa BIO prášok, Zdravý den, Aspen team s.r.o.
- Bio čaj matcha, CHEF, Kyosun s.r.o.
- Chlorella BIO prášok, Natu s.r.o.
- Spirulina BIO prášok, Natu s.r.o.
- Lanové semienko hnedé, Zdraví z přírody s.r.o.
- Sezam natural nelúpaný - olejnaté semeno, Vega Provita s.r.o.



Obrázok 10 – Použité vzorky

4.3 Príprava extraktov

Pre prípravu vodných extraktov bola použitá navážka 1 g vzorky a 10 ml destilovanej vody. Zmes vzorky a vody bola 24 h trepaná pri teplote 37 °C. Následne boli skúmavky scentrifugované pri 7 500 rpm 5 minút. Supernatant bol používaný pri ďalších analýzach. Zelený jačmeň, mladá pšenica, moringa, matcha, chlorella a spirulina boli dostupné vo forme jemného prášku. Lanové a sezamové semienka boli ešte pred navážením rozdrvené v trecej miske a následne použité.

4.4 Analýza sacharidov

4.4.1 Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboisa

Celkové sacharidy boli stanovené spektrofotometricky metódou podľa Duboisa. Kalibračná závislosť pre túto analýzu bola zostrojená pomocou štandardného vodného roztoku glukózy o koncentrácii 0,1 mg/ml. Následným riedením boli merané koncentrácie v rozsahu 0,02–0,1 mg/ml. Absorbancia pre kalibračnú závislosť bola meraná pri vlnovej dĺžke 490 nm.

Pre analýzu bol použitý 1 ml vodného extraktu vzorky, ktorý bol napipetovaný do skúmavky. Následne bol pridaný 1 ml 5% fenolu a 5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej. Táto zmes bola pretrepaná a ponechaná pri laboratórnej teplote 30 minút. Absorbancia bola zmeraná oproti slepej vzorke pri vlnovej dĺžke 490 nm.

4.4.2 Stanovenie redukujúcich cukrov podľa Somogyi-Nelsona

Pre stanovenie redukujúcich cukrov bola zostavená kalibračná závislosť, pre ktorú bol použitý štandardný vodný roztok glukózy o koncentrácii 0,1 mg/ml. Kalibračná závislosť bola zmeraná v rozsahu 0,002–0,01 mg/ml pri vlnovej dĺžke 720 nm.

Na analýzu podľa Somogyi-Nelsona boli použité 3 činidlá, ktorých zloženie je uvedené vid' Tabuľka 4.

Tabuľka 4 – Zloženie činidiel potrebných pre stanovenie redukujúcich cukrov

Somogyiho činidlo I	Somogyiho činidlo II	Somogyiho činidlo III
24 g Na ₂ CO ₃ bezvodý	4 g síran meďnatý	25 g molybdénan amónny
16 g NaHCO ₃	24 g síran sodný	21 ml koncentrovaná H ₂ SO ₄
14 g vínan sodno-draselný	200 ml destilovaná voda	3 g Na ₂ HAsO ₄ · 7 H ₂ O
12 g síran sodno-draselný		475 ml destilovaná voda
800 ml destilovaná voda		

Do skúmavky bol napipetovaný 1 ml vodného extraktu vzorky. K nemu bol pridaný 1 ml zmesi Somogyiho činidla I a II. Zmes bola umiestnená do vriaceho vodného kúpeľa, kde bola ponechaná 15 minút a následne ochladená na laboratórnu teplotu. K ochladenému roztoku bolo pridané 0,5 ml Somogyiho činidla III. Obsah skúmavky bol premiešaný na vortexe a doplnený destilovanou vodou na 10 ml. Napokon bola zmeraná absorbanca pri 720 nm oproti slepej vzorke.

4.4.3 Stanovenie jednotlivých cukrov pomocou HPLC

Na zostavenie kalibračných závislostí boli použité štandardné roztoky glukózy, sacharózy, maltózy, xylózy a arabinózy v deionizovanej vode o koncentráciách 10 mg/ml. Jednotlivé body kalibračných závislostí boli v koncentráciách 0,5; 1; 2; 3; 4 a 5 mg/ml. Riedenia sa prevádzali pomocou deionizovanej vody. Po nariadení boli roztoky prefiltrované cez 0,45 µm nylonové filtre. Do vialky pre HPLC analýzu bolo napipetovaných 250 µl prefiltrovaných vodných roztokov a k tomu bolo pridaných 750 µl acetonitrilu pre HPLC. Takto pripravené roztoky pre kalibráciu boli analyzované pomocou HPLC.

Vzorky boli pripravené podľa postupu udaného výrobcom kolóny, ktorý je dostupný na <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/c5307b71-fdb1-48b6-900a-636b2d6f7756.pdf>

Do kadičky boli navážené 3 g vzorky, ku ktorým sa pridalo 50 ml destilovanej vody a kadička bola následne zahrievaná na 50 °C za stáleho miešania po dobu 30 minút. Potom bolo pridaných 50 ml chloroformu a zmes bola opäť miešaná pri teplote 50 °C 15 minút. Roztok bol následne ochladený na laboratórnu teplotu do vytvorenia dvojfázového rozhrania. Horná vodná fáza bola odobratá a scentrifugovaná pri 6 000 rpm. Následne bola prefiltrovaná pomocou 0,45 µm nylonových filtrov. V sklenenej vialke bolo zmiešaných 250 µl prefiltrovaného vodného roztoku vzorky so 750 µl acetonitrilu pre HPLC. Vialka bola uzavretá a analyzovaná pomocou HPLC s refraktometrickým detektorom. Parametre sú uvedené vid' Tabuľka 5.

Tabuľka 5 – Parametre analýzy cukrov pomocou HPLC

Kolóna	Luna Omega 3 µm, 200
Termostat	30 °C
Mobilná fáza	Acetonitril:deionizovaná H ₂ O v pomere 3:1
Prietok mobilnej fázy	1 ml/min
Detektor	RI, 35 °C, 10 Hz
Doba analýzy	15 min

4.4.4 Stanovenie vlákniny podľa Henneberga a Stohmanna

Pre stanovenie vlákniny bolo do 500 ml destilačnej banky navážených 2,5 g vzorky. Následne bolo pridaných 200 ml 5 % kyseliny sírovej. Banka bola umiestnená do vykurovacieho hniezda, kde sa obsah pod spätným chladičom varil 30 minút. Po ukončení varu bol roztok ešte za horúca prefiltrovaný cez filtračný téglík s fritou a premytý horúcou vodou. Zbytok z filtračného téglíku bol kvantitatívne prevedený do destilačnej banky, kde bol následne pridaný 5% hydroxid sodný o objeme 200 ml. Obsah banky bol znovu umiestnený do vykurovacieho hniezda a podrobený varu pod spätným chladičom po dobu 30 minút. Po skončení varu bol roztok sfiltrovaný cez suchý a vopred zvážený filtračný téglík s fritou a premytý horúcou vodou a etanolom. Obsah filtračného téglíka bol vysušený pri teplote 105 °C a po vychladnutí bol téglík opäť zvážený. Napokon bol filtračný téglík vložený do muflovej pece, kde bol jeho obsah spálený pri teplote 650 °C a po vychladnutí bol opätovne zvážený.

4.4.5 Stanovenie fruktánov

Stanovenie prebiehalo pomocou súpravy pre stanovenie fruktánov – Fructan Assay Kit, Megazyme (USA). Táto súprava obsahovala enzýmy sacharázu, fruktanázu a tiež kontrolné vzorky inulín, sacharózu a fruktózu. Zloženie a príprava potrebných roztokov je uvedená vid' Tabuľka 6.

Tabuľka 6 – Zloženie a príprava roztokov potrebných pre stanovenie fruktánov

Pufor I	1,16 g kyseliny maleínovej bolo rozpustených v 90 ml destilovanej vody následne bolo pomocou 2 M hydroxidu sodného upravené pH na 6,5 a celkový objem bol destilovanou vodou doplnený na 100 ml.
Pufor II	0,58 ml ľadovej kyseliny octovej bolo pridaných ku 90 ml destilovanej vody. pH roztoku bolo upravené na 4,5 s použitím 1 M hydroxidu sodného a celkový objem bol doplnený na 100 ml.
Enzým I (sacharáza)	Sacharáza dostupná v súprave bola rozpustená v 22 ml roztoku pripraveného zmiešaním 50 ml puforu I a 25 mg albumínu. Enzýmový roztok bol následne rozdelený na alikvotne podiely a je stabilný viac ako 5 rokov pri teplote nižšej ako -10 °C.
Enzým II (fruktanáza)	Fruktanáza dostupná v súprave bola rozpustená v 22 ml puforu II. Tento roztok bol rozdelený na alikvotne podiely a je stabilný viac ako 5 rokov pri teplote nižšej ako -10 °C.
Reagent A	5 g p-hydroxybenzhydrazidu bolo rozpustených v 30 ml destilovanej vody za stáleho miešania. Následne bolo pridaných 5 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Objem bol doplnený destilovanou vodou na 100 ml.
Reagent B	2,49 g citronanu sodného bolo rozpustených v 50 ml destilovanej vody, potom bolo pridaných 0,22 g dihydrátu chloridu vápenatého. Po rozpustení boli pridané 4 g NaOH. Napokon bol celkový objem roztoku doplnený destilovanou vodou na 200 ml.
PAHBAH reagent	Tento roztok bol pripravený až tesne pred použitím a to zmiešaním 20 ml reagentu A so 180 ml reagentu B.

Roztok I (50 mM NaOH)	0,4 g NaOH bolo rozpustených v 150 ml destilovanej vody a následne bol doplnený objem destilovanou vodou na 200 ml.
Roztok II (alkalický borohydrid)	50 mg borohydridu sodného bolo rozpustených v 5 ml roztoku I (50 mM NaOH) tesne pred použitím.
Roztok III (200 mM kyselina octová)	2,3 ml ľadovej kyseliny octovej bolo rozpustených v 150 ml destilovanej vody a objem bol následne doplnený na 200 ml destilovanou vodou.

Pri stanovení fruktánov bolo nutné, aby pri samotnom stanovení prebiehala kontrola pomocou zo súpravy dostupnej fruktózy. Taktiež bola pripravená reakčná slepá vzorka, oproti ktorej prebiehalo konečné meranie. Reakčná slepá vzorka pozostávala z 0,3 ml pufru II. Kontrola pomocou fruktózy bola pripravená pridaním 0,2 ml štandardného roztoku fruktózy, dostupnej v súprave, do 0,9 ml pufru II. Z tohto roztoku bolo po zamiešaní do štyroch skúmaviek napipetovaných po 0,2 ml a do každej bol pridaný ešte pufr II o objeme 0,1 ml.

400 mg vzorky bolo navážených do uzatvárateľnej sklenenej skúmavky a k nej bolo pridaných 25 ml destilovanej vody. Skúmavky boli umiestnené do vriacej vody a varené 10 minút s občasným premiešaním. Po ukončení varu boli skúmavky ochladené na laboratórnu teplotu a ich obsah bol scentrifugovaný pri 13 000 rpm 5 minút. Zo supernatantu bolo do čistej skúmavky odpipetovaných 0,2 ml a k nim bolo pridaných 0,2 ml enzýmového roztoku I (sacharáza). Zmes bola inkubovaná 30 min pri 30 °C. Následne bolo do zmesi napipetovaných 0,2 ml roztoku II (alkalický borohydrid). Obsah bol premiešaný a skúmavky boli uzavreté parafilmom a inkubované 30 min pri 40 °C. Po ukončení inkubácie bolo k zmesi pridaných 0,5 ml roztoku III (200 mM kyselina octová) a roztok bol zamiešaný na vortexe.

Po zamiešaní bolo do troch skúmaviek odpipetovaných po 0,2 ml vzniknutého roztoku. Z toho do dvoch z nich bolo následne pridaných 0,1 ml enzýmového roztoku II (fruktanáza). Do tretej skúmavky bolo napipetovaných 0,1 ml pufru II, obsah tejto skúmavky bol použitý ako slepá vzorka. Všetky skúmavky boli uzavreté parafilmom a inkubované pri 40 °C po dobu 30 minút. Po ukončení inkubácie bolo do všetkých skúmaviek s reakčnou slepou vzorkou, fruktózovou kontrolou, vzorkami a slepými vzorkami pridaných po 5 ml PAHBAH reagentu. Všetky skúmavky boli inkubované vo vriacom vodnom kúpeli po dobu presne 6 minút. Následne boli skúmavky ochladené v studenej vode a ihneď bola zmeraná absorbanca oproti reakčnej slepej vzorke pri vlnovej dĺžke 410 nm. Pre výpočet obsahu fruktánov bol využitý vzťah (4.1) udaný výrobcom súpravy. Schéma priebehu stanovenia je ilustrovaná viď Obrázok 11.

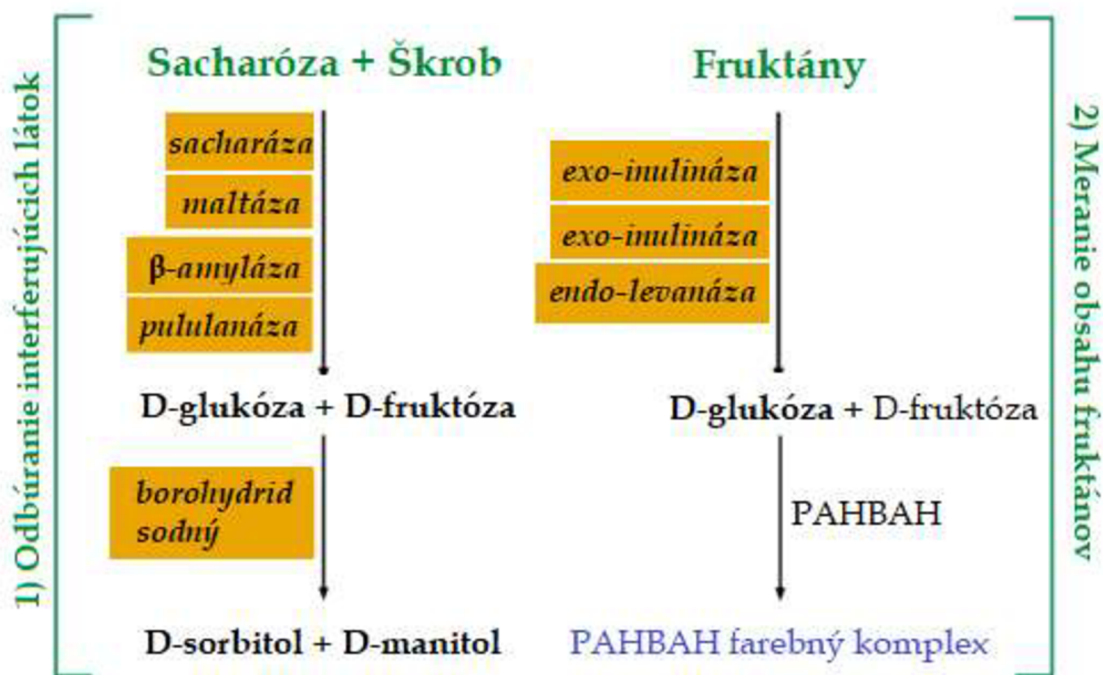
$$\% w/w = \Delta A \cdot \frac{F}{W} \cdot D \cdot 61,9 \quad (4.1)$$

ΔA – rozdiel absorbancie vzorky a slepej vzorky (merané oproti reakčnej slepej vzorke)

F – podiel 54,5 μ g D-fruktózy a absorbancie fruktózovej kontroly

W – navážka vzorky (mg)

D – riedenie vzorky



Obrázok 11 – Schéma priebehu stanovenia fruktánov [54]

4.4.6 Stanovenie β-glukánov

Stanovenie prebiehalo pomocou súpravy pre stanovenie β-glukánov – Beta-glucan Assay Kit, Megazyme (USA). Súčasťou tejto súpravy boli enzýmy lichenáza, β-glukozidáza, štandardný roztok glukózy a ďalej GOPOD reagent. Pre stanovenie bola potrebná príprava roztokov, ktorých zloženie je uvedené vid' Tabuľka 7.

Tabuľka 7 – Zloženie a príprava roztokov potrebných pre stanovenie β-glukánov

Pufor I (20 mM fosfát sodný)	0,62 g NaH ₂ PO ₄ ·2 H ₂ O bolo rozpustených v 180 ml destilovanej vody a potom bolo upravené pH roztoku na 6,5 pomocou 0,1 M NaOH. Následne bolo pridaných 0,04 g azidu sodného a objem bol doplnený destilovanou vodou na 200 ml.
Pufor II (50 mM octan sodný)	0,58 ml ľadovej kyseliny octovej bolo zmiešaných so 180 ml destilovanej vody. Pomocou 1 M NaOH bolo pH upravené na 4,0 potom bolo pridaných 0,04 g azidu sodného a objem bol doplnený destilovanou vodou na 200 ml.
Pufor III (200 mM octan sodný)	3,48 ml ľadovej kyseliny octovej bolo zmiešaných s 270 ml destilovanej vody. Pomocou 1 M NaOH bolo pH upravené na 4,0 potom bolo pridaných 0,06 g azidu sodného a objem bol doplnený destilovanou vodou na 300 ml.
Enzým I (lichenáza)	Lichenáza, dostupná v súprave, bola rozpustená v 20 ml pufru I. Zmes bola rozdelená na alikvotne podiely uchovávané pri -20 °C.
Enzým II (β-glukozidáza)	β-glukozidáza, dostupná v súprave, bola rozpustená v 20 ml pufru II. Zmes bola rozdelená na alikvotne podiely uchovávané pri -20 °C.
Etanol (50% v/v)	52 ml 96% roztoku etanolu bolo destilovanou vodou doplnených do 100 ml



Obrázok 12 – Vzorky v uzatvárateľných skúmavkách pripravené pre stanovenie beta-glukánov

Stanovenie β -glukánov bolo sprevádzané kontrolou prebiehajúcou pomocou zo súpravy dostupnej glukózy. Taktiež bola pripravená reakčná slepá vzorka, oproti ktorej bola meraná absorbanca. Reakčná slepá vzorka obsahovala 0,1 ml destilovanej vody a 0,1 ml pufru II. Glukózová kontrola bola pripravená pridaním 0,1 ml štandardného roztoku glukózy, dostupnej v súprave, do 0,1 ml pufru II.

Roztoky vzoriek boli pripravené navážením 80-120 mg práškovej vzorky do skúmavky. Potom bolo do skúmavky pridaných 0,2 ml roztoku etanolu (50 % v/v) a 4 ml pufru I. Obsah bol zamiešaný a skúmavky boli umiestnené do vriaceho vodného kúpeľa na 1 min. Následne boli skúmavky zamiešané a opäť vloženy do vriaceho vodného kúpeľa na 2 min. Potom bol obsah skúmaviek inkubovaný 5 minút pri 50 °C. K obsahu bolo pridaných 0,2 ml enzýmu I (lichenáza), skúmavky boli uzavreté parafilmom a inkubované pri 50 °C ešte 60 minút s pravidelným premiešaním. Po ukončení inkubácie bol do skúmavky pridaný pufr III o objeme 5 ml a obsah bol premiešaný na vortexe. Skúmavky boli ochladené na laboratórnu teplotu a ich obsah scentrifugovaný pri 8 000 rpm po dobu 6 min.

Zo supernatantu bolo do troch čistých skúmaviek odpipetovaných po 0,1 ml vzorky. Do dvoch z nich bolo pridaných po 0,1 ml enzýmu II (β -glukozidáza), do tretej skúmavky bol pridaný pufr II o objeme 0,1 ml. Všetky skúmavky boli inkubované pri teplote 50 °C po dobu 10 min.

Po ukončení inkubácie boli do každej skúmavky (reakčná slepá vzorka, glukózová kontrola, roztoky vzoriek a ich slepé vzorky) pridané po 3 ml GOPOD reagentu. Všetky skúmavky boli inkubované pri 50 °C po dobu 20 min. Následne bola zmeraná absorbanca oproti reakčnej slepej vzorke pri vlnovej dĺžke 510 nm. Pre výpočet obsahu beta-glukánov bol využitý vzťah (4.2) udaný výrobcom súpravy. Schéma jednotlivých krokov stanovenia beta-glukánov je ilustrovaná vid' Obrázok 13.

$$\% w/w = \Delta A \cdot \frac{F}{W} \cdot FV \cdot D \cdot 0,9 \quad (4.2)$$

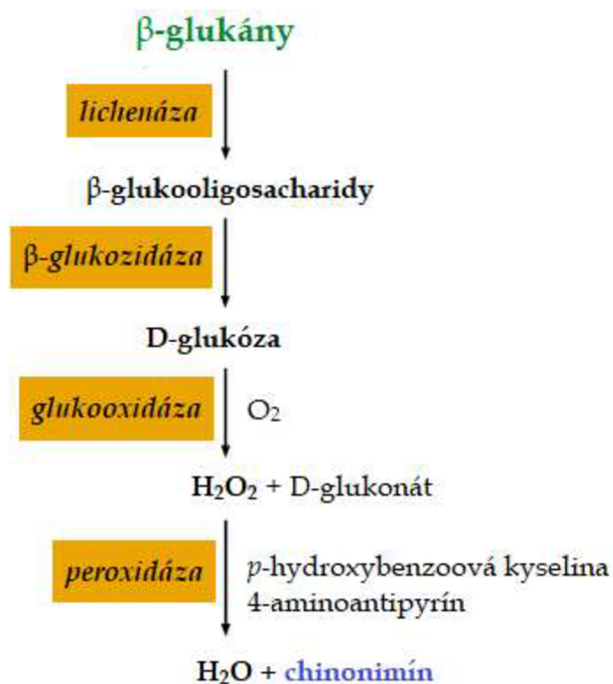
ΔA – rozdiel absorbancie vzorky a slepej vzorky (merané oproti reakčnej slepej vzorke)

F – podiel 54,5 μ g D-fruktózy a absorbancie fruktózovej kontroly

W – navážka vzorky (mg)

FV – konečný objem (9,4 ml)

D – riedenie vzorky



Obrázok 13 – Schéma stanovenia β -glukánov [55]

4.5 Analýza lipidov

4.5.1 Extrakcia lipidov

Extrakcia lipidov bola uskutočnená pomocou prístroja SOXTHERM (Gerhardt). Ako rozpúšťadlo bol použitý hexán. Extrakcia prebiehala za nasledovných parametrov:

- maximálna teplota: 300 °C
- teplota extrakcie: 170 °C
- redukčný interval: 3 min 30 s
- redukčný pulz: 3 s
- horúca extrakcia: 1 h 30 min
- evaporácia A: 5-krát interval
- extrakčný čas: 1 h
- evaporácia B: 2-krát interval
- evaporácia C: 10 min
- dĺžka programu: 3 h 4 min

Do extrakčnej patróny bolo navážených 10 g vzorky. Patróna bola vložená do extrakčnej banky a následne bolo pridaných 150 ml hexánu. Banky boli vložené do prístroja a extrakcia bola spustená.

Po ukončení programu extrakcie bol obsah banky kvantitatívne prevedený do slzičkovej banky, ktorá bola vopred zvážená. Slzičková banka bola umiestnená na vákuovú odparku, kde bolo odparené rozpúšťadlo. Odparok bol po ochladení zvážený. Následne bol rozpustený v chloroforme pre HPLC, prevedený do uzatvárateľnej skúmavky. Chloroform bol odparený a odparok bol uchovaný pre ďalšiu analýzu.

4.5.2 Transesterifikácia lipidov

Pre transesterifikáciu boli použité ako pôvodné práškové vzorky tak aj lipidy vyextrahované pomocou prístroja SOTHERM. Navážka pri práškových vzorkách bola 15 mg a pri extrahovaných lipidoch 10 mg.

Do krymplovacích vialiek bolo navážené potrebné množstvo podľa charakteru vzorky. K vzorkám bol napipetovaný 1,8 ml transesterifikačnej zmesi. Transesterifikačná zmes obsahovala 15 % (v/v) koncentrovanej kyseliny sírovej v metanole pre HPLC a 0,5 mg/ml interného štandardu kyseliny heptadekánovej. Vialky boli následne zakrymplované a inkubované v termobloku po dobu 120 minút pri 85 °C.

Do 4 ml vialiek bol napipetovaný 0,5 ml 0,05 M NaOH. K nemu bol pridaný celý obsah vychladnutých vialiek po transesterifikácii a 1 ml hexánu pre HPLC. Vialky boli pretrepané na multipozičnom vortexe 5 minút. Po oddelení fáz bolo z hornej hexánovej fázy odobratých 0,1 ml a prevedených do čistých vialiek pre GC analýzu. Následne bolo pridaných ešte 0,9 ml čistého hexánu pre HPLC a vialky boli uzavreté. Takto pripravené vzorky boli analyzované pomocou plynovej chromatografie.

4.5.3 Stanovenie profilu mastných kyselín pomocou plynovej chromatografie

Vzorky po transesterifikácii boli analyzované s použitím plynového chromatografu TRACE™ 1300 Gas Chromatograph (Thermo Fisher Scientific) a automatického dávkovača AI 1310 Autosampler (Thermo Fisher Scientific). Detekcia prebiehala plameňovo ionizačným detektorom (FID). Jednotlivé chromatogramy boli spracované pomocou softvéru Chromeleon. Parametre analýzy a nastavenia prístroja sú zhrnuté vid' Tabuľka 8.

Tabuľka 8 – Parametre analýzy lipidov pomocou plynového chromatografu

Teplota injektora	250 °C, pomer deliča toku 10
Nosný plyn	vodík s prietokom 1 ml/min
Kolóna	Zebron ZB-FAME, 30 m x 0,25 mm x 0,20 µm (kód kolóny 7HG-G033-10)
Detektor	teplota 260 °C, prietok vzduchu 350 ml/min, dusík 30 ml/min, vodík 35 ml/min
Doba analýzy	25,5 min

4.6 Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla

Samotnému stanoveniu celkového dusíku predchádzala mineralizácia vzoriek. Do mineralizačných trubíc bol navážený 1 g vzoriek. Ku každej vzorke bola pridaná koncentrovaná kyselina sírová o objeme 10 ml a tiež 2 g Weiningerovho katalyzátoru. Vzorky boli mineralizované pomocou prístroja Kjeldatherm KT-L (Gerhardt) pri teplote 410 °C po dobu 2 h 30 min.

Mineralizáty vzoriek boli po ochladení rozpustené v malom množstve destilovanej vody. Následne bolo k mineralizátom pridaných niekoľko kvapiek fenolftaleínu a pomocou prístroja Vapodest (Gerhardt) boli vzorky zdestilované do predlohy, ktorá obsahovala 25 ml štandardizovanej kyseliny sírovej o koncentrácii 0,05 mol·dm⁻³. Po ukončení destilácie bolo do predlohy pridaných niekoľko kvapiek Tashirovho indikátoru a roztok bol titrovaný štandardizovaným roztokom hydroxidu sodného o koncentrácii 0,1 mol·dm⁻³ (vid' Obrázok 14).



Obrázok 14 – Farebný prechod pri titrácii na Tashirov indikátor

4.7 Analýza pigmentov pomocou HPLC

Pre extrakciu pigmentov zo vzoriek boli využité rôzne druhy rozpúšťadiel. Prvé extrakty boli pripravené metódou podľa Folcha, kde boli ako rozpúšťadlá použité metanol a chloroform. Ďalej boli pripravené extrakty s GRAS rozpúšťadlami a to hexánové a etanolové. Postup prípravy sa vo všetkých prípadoch zhodoval.

Do skúmavky Eppendorf bolo navážených 10 až 20 mg vzorky. Ku vzorkám bol napipetovaný 1 ml destilovanej vody a po premiešaní boli vzorky rehydratované 30 min. Následne bol obsah scentrifugovaný pri 14 000 rpm po dobu 3 min a supernatant bol odstránený. K usadenine boli do skúmavky pridané sklenené guľičky do asi 0,5 cm výšky nad usadeninou a tiež 1 ml metanolu (hexán, etanol). Skúmavky boli umiestnené na multipozičný vortex, kde boli pretrepávané 15 minút. Potom bol do 15 ml centrifugačnej skúmavky prevedený obsah malej Eppendorf skúmavky a k tomu boli pridané 2 ml chloroformu (hexán, etanol). Skúmavky boli opäť pretrepané na multipozičnom vortexe po dobu 10 min. K obsahu bol pridaný 1 ml destilovanej vody a skúmavky boli pretrepané. Následne bola zmes scentrifugovaná pri 3 000 rpm po dobu 1 min.

Do sklenenej skúmavky bola odpipetovaná chloroformová, hexánová alebo etanolová fáza a rozpúšťadlo bolo následne odparené v termobloku pri teplote 45 °C za prístupu dusíku. K odparok bol pridaný 1 ml zmesi acetonitrilu s etylacetátom HPLC kvality v pomere 2:1 a odparok so zmesou bol prefiltrovaný cez 0,45 µm nylonový filter do vialky pre HPLC. Takto pripravené vzorky boli analyzované pomocou chromatografickej zostavy Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific) v gradientovej elúcii. Parametre analýzy sú uvedené viď Tabuľka 9, Tabuľka 10 a Tabuľka 11.

Tabuľka 9 – Parametre chromatografickej zostavy

Kolóna	Kinetex EVO C18 (150x4,6x2,6 mm)
Teplota separácie	25 °C
Prietok mobilnej fázy	1,2 ml/min
Detektor	DAD rady Vanquish, vlnová dĺžka 435 nm
Doba analýzy	25 min

Tabuľka 10 – Zloženie mobilných fáz

Mobilná fáza			
A	% (obj)	B	% (obj)
Acetonitril	84	Metanol	60
TrisHCl pH 8	14	Etylacetát	40
Metanol	2		

Tabuľka 11 – Gradientová elúcia

Retenčný čas [min]	Mobilná fáza A [%]	Mobilná fáza B [%]
0	100	0
13	0	100
19	0	100
20	100	0
25	100	0

4.8 Enkapsulácia

4.8.1 Príprava lipozómových častíc

Lipozómové častice boli pripravené navážením 100 mg zo vzoriek extrahovaných lipidov, ku ktorým bolo pridaných 90 mg sójového lecitínu a 10 mg cholesterolu. Ku zmesi bol napipetovaný 1 ml chloroformu a zmes bola pretrepaná a pridaná do 10 ml destilovanej vody. Potom bola zmes ultrazvukovaná za súčasného chladenia. Následne, po odparení chloroformu, bol pripravený roztok použitý na enkapsuláciu do alginátových častíc.

4.8.2 Príprava alginátových častíc

Častice s enkapsulovanými pripravenými lipozómami boli pripravené za pomoci enkapsulátoru Büchi B-395 Pro s veľkosťou trysky 450 μm . Použitý bol roztok alginátu sodného o koncentrácii 1 %. Častice boli následne ponechané vo vytvrdzovacom roztoku chloridu vápenatého o koncentrácii 1,5 %. Enkapsulované častice sú zobrazené vid' Obrázok 15.



Obrázok 15 – Enkapsulované alginátové častice obsahujúce lipozómy

5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Predložená diplomová práca sa zameriava na komplexnú charakteristiku vybraných vzoriek potravín využívaných v moderných doplnkoch stravy. Pri charakterizácii je dôraz kladený najmä na nutričné hľadisko, ktoré zohráva kľúčovú rolu pri príprave výživových doplnkov.

5.1 Analýza sacharidov

5.1.1 Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboisa

Celkové množstvo sacharidov vo vzorkách bolo zistené prostredníctvom metódy podľa Duboisa pomocou UV-VIS spektrofotometrie. Úplný postup je uvedený v kapitole 4.4.1. Pre kalibračnú závislosť bol využitý roztok glukózy a rovnica lineárnej regresie kalibračnej závislosti bola $y = 9,041x$. Všetky vzorky boli premerané trikrát a zo získaných hodnôt bol vypočítaný priemer a smerodajná odchýlka. Zastúpenie celkových sacharidov vo vzorkách zobrazuje Tabuľka 12.

Tabuľka 12 – Výsledky stanovenia obsahu celkových sacharidov podľa Duboisa

Vzorka	Obsah celkových sacharidov [mg/g]
Zelený jačmeň	3,06 ± 0,16
Mladá pšenica	1,42 ± 0,23
Moringa	2,27 ± 0,55
Matcha	1,85 ± 0,15
Chlorella	5,55 ± 0,24
Spirulina	18,72 ± 0,27
Ľanové semienka	5,21 ± 0,24
Sezamové semienka	1,98 ± 0,11

Pri celkových sacharidov bol nameraný najvyšší obsah pri vzorke spiruliny, a to $18,72 \pm 0,27$ mg/g. Najmenšia hodnota sa naopak objavila pri mladej pšenici, kde dosahovala $1,42 \pm 0,23$ mg/g.

Vyššie hodnoty boli očakávané pri vzorkách zeleného jačmeňa a tiež mladej pšenice. V oboch vzorkách je hlavným polysacharidom škrob. V zelenom jačmeni dokonca s podielom 47,9-79,0 % z celkového množstva sacharidov. V tomto jačmennom škrobe je amylopektín zastúpený v obsahu až 74-78 %. [56].

Referenčné hodnoty obsahu sacharidov uvádzané výrobcom na obale nekorešponujú so stanovenými hodnotami. Na analýzu boli použité vodné extrakty vzoriek. Vzhľadom na to, že škrob vo vode nie je rozpustný, jeho pravdepodobná absencia vo vodných extraktoch výrazne ovplyvnila celkové stanovené množstvo sacharidov. Metóda podľa Duboisa je taktiež extrémne citlivá. Ovplyvnená môže byť rôznymi faktormi, či už dĺžkou inkubácie, vekom použitých chemikálií, či prípadnými nečistotami v nich obsiahnutými.

5.1.2 Stanovenie redukujúcich cukrov podľa Somogyi-Nelsona

Redukujúce sacharidy boli vo vzorkách stanovené metódou podľa Somogyi-Nelsona pomocou UV-VIS spektrofotometrie. Úplný postup je uvedený v kapitole 4.4.2. Pre kalibračnú závislosť bol využitý roztok glukózy a rovnica lineárnej regresie kalibračnej

závislosti bola $y = 21,565x$. Všetky vzorky boli premerané trikrát a zo získaných hodnôt bol vypočítaný priemer a smerodajná odchýlka. Zastúpenie redukujúcich cukrov vo vzorkách je uvedené vid' Tabuľka 13.

Tabuľka 13 – Výsledky stanovenia obsahu celkových sacharidov podľa Somogyi-Nelsona

Vzorka	Obsah redukujúcich cukrov [mg/g]
Zelený jačmeň	$3,97 \pm 0,02$
Mladá pšenica	$1,90 \pm 0,07$
Moringa	$7,96 \pm 0,19$
Matcha	$3,43 \pm 0,14$
Chlorella	$4,08 \pm 0,11$
Spirulina	$1,65 \pm 0,02$
Ľanové semienka	$0,11 \pm 0,01$
Sezamové semienka	$0,09 \pm 0,02$

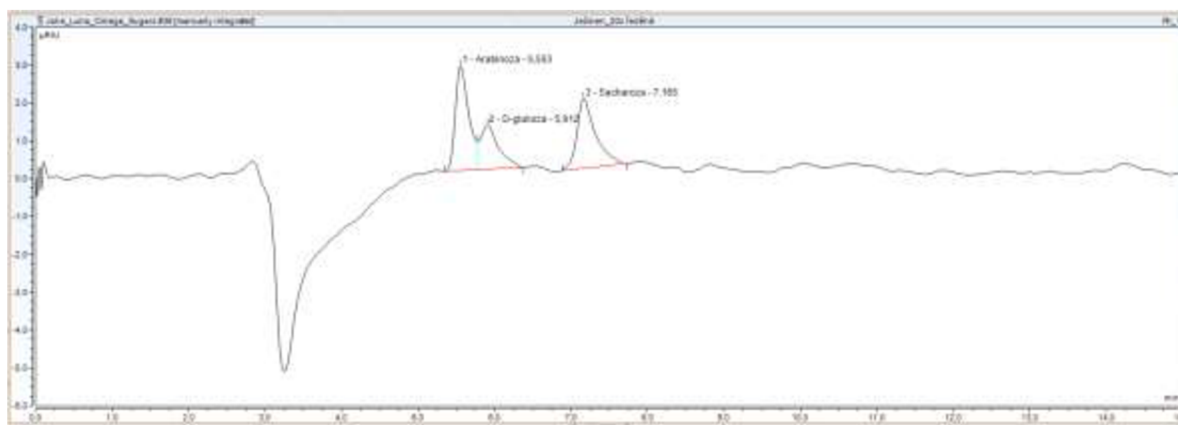
Najvyšší obsah redukujúcich cukrov bol nameraný pri vzorke moringy, a to $7,96 \pm 0,19$ mg/g. Naopak najnižšie množstvo bolo stanovené v sezamových semienkach, kde hodnota dosahovala $0,09 \pm 0,02$ mg/g. Vzorky semienok, ktoré obsahujú najmä lipidické zložky, v oboch prípadoch podľa očakávania obsahovali nízke hodnoty cukrov. Vzorky zeleného jačmeňa ($3,97 \pm 0,02$ mg/g) a tiež mladej pšenice ($1,90 \pm 0,07$ mg/g) obsahujú pomerne tak isto nízke hodnoty.

Pri vzorke chlorelly dosiahlo množstvo stanovených redukujúcich cukrov $4,08 \pm 0,11$ mg/g. Mikroriasy typicky obsahujú vysoký podiel sacharidov, a to najmä polysacharidy z bunkovej steny. V tomto prípade nutričné zloženie výrazne ovplyvňuje vek, kultivácia a úprava riasy [57].

Všetky hodnoty stanovených redukujúcich cukrov sú pomerne nízke. Hlavným dôvodom môže byť fakt, že sa jedná o rastlinné vzorky, a teda obsahujú najmä intracelulárny škrob a štruktúrne polysacharidy. Cieľom stanovenia bolo zistiť, koľko cukrov sa pri vodných extraktoch dostane do výluhu. Zo stanovení podľa Duboisa a podľa Somogyi-Nelsona vyplýva, že medzi potravinárskym využitím vodných extraktov a priamou konzumáciou vzoriek by bol rozdiel v samotnom množstve a profile prijatých sacharidov.

5.1.3 Analýza jednotlivých cukrov pomocou HPLC

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza jednotlivých cukrov bola prevedená pomocou HPLC chromatografie. Celý postup je uvedený v kapitole 4.4.3. Ako štandardy boli využité mono a disacharidy D-glukóza, D-xylóza, arabinóza, sacharóza a maltóza. Pomocou nich boli zostavené jednotlivé kalibračné závislosti. Pri analýze bol využitý refraktometrický detektor a chromatogramy boli vyhodnotené pomocou softvéru Chromeleon. Ukážku chromatogramu pre vzorku zeleného jačmeňa zobrazuje Obrázok 16. Výsledky stanovenia možno vidieť vid' Tabuľka 14.



Obrázok 16 – Chromatogram vzorky zeleného jačmeňa pri stanovení cukrov pomocou HPLC

Tabuľka 14 – Zastúpenie cukrov stanovených HPLC vo vzorkách

Vzorka	Arabinóza [mg/g]	Glukóza + fruktóza [mg/g]	Sacharóza [mg/g]	Maltóza [mg/g]
Zelený jačmeň	36,04 ± 1,80	24,69 ± 1,23	38,78 ± 1,94	-
Mladá pšenica	7,51 ± 0,38	15,19 ± 0,76	45,44 ± 2,27	-
Moringa	20,85 ± 1,04	32,56 ± 1,63	20,09 ± 1,00	-
Matcha	22,79 ± 1,14	21,29 ± 1,06	33,00 ± 1,65	-
Chlorella	12,16 ± 0,61	7,69 ± 0,38	8,32 ± 0,42	-
Spirulina	-	90,01 ± 4,50	-	-
Ľanové semienka	1,65 ± 0,08	1,81 ± 0,09	9,33 ± 0,47	10,13 ± 0,51
Sezamové semienka	1,48 ± 0,07	2,31 ± 0,12	0,97 ± 0,05	4,69 ± 0,23

Ako možno vidieť na výsledkoch, vo vzorkách sa z kalibrovaných cukrov nachádza vo väčšine prípadov arabinóza, zmes glukózy a fruktózy, a tiež sacharóza. Olejnaté semienka ľanové a sezamové obsahujú ešte aj maltózu. Naopak vo vzorke spiruliny bola detekovaná len zmes glukózy a fruktózy ($90,01 \pm 4,50$ mg/g). Najviac stanovených cukrov obsahuje vzorka zeleného jačmeňa a najmenej sezamové semienka.

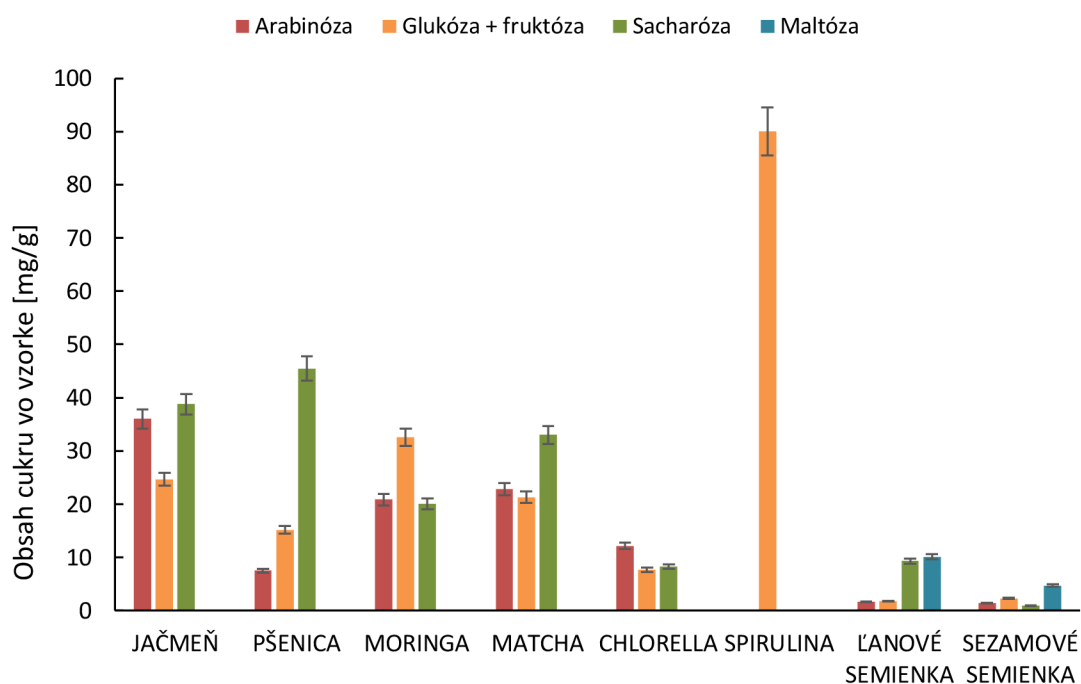
Zelený jačmeň a mladá pšenica majú v oboch prípadoch vysoký podiel sacharózy. Pri mladej pšenici je to najviac, a to $45,44 \pm 2,27$ mg/g, zelený jačmeň obsahuje $38,78 \pm 1,94$ mg/g sacharózy. Pomerne vysokú hodnotu dosahuje aj matcha, kde je sacharóza na úrovni $33,00 \pm 1,65$ mg/g vzorky. Disacharid sacharóza je zároveň najviac zastúpeným cukrom v týchto vzorkách. Počas prípravy vzorky, či prípadne analýzy však mohla byť čiastočne štiepená na glukózu a fruktózu, čo mohlo ovplyvniť stanovenie.

Čo sa týka arabinózy opäť bolo najvyššie množstvo stanovené v zelenom jačmeni ($36,04 \pm 1,80$ mg/g). Vysoké hodnoty taktiež dosahujú moringa ($20,85 \pm 1,04$ mg/g) a matcha ($22,79 \pm 1,14$ mg/g). Arabinóza, ktorá môže byť získavaná z hemicelulózy obsiahnutej v rastlinných materiáloch, čo vysvetľuje prítomnosť arabinózy vo väčšine vzoriek. Niektoré štúdie ukazujú, že konzumácia 2-3 g arabinózy spoločne s 40-75 g sacharózy redukuje hladinu krvného cukru a ovplyvňuje inzulínovú odpoveď [58].

Monosacharidy glukóza a fruktóza boli detekované vzorkách spoločne, pretože ich píky v chromatogramoch boli čiastočne prekryté. Najviac sú zastúpené vo vzorke spiruliny, kde toto množstvo tvorí až $90,01 \pm 4,50$ mg/g vzorky. Z ostatných vzoriek sú zastúpené vo

vysokej miere v moringe ($32,56 \pm 1,63$ mg/g). Podobne ako pri sacharóze, množstvo glukózy a fruktózy mohlo byť poznačené možným štiepením sacharózy počas analýzy a tiež prekryvom píkov.

Ľanové a sezamové semienka ako olejnaté semená obsahovali podľa očakávaní najmenšie množstvo stanovovaných cukrov. Na rozdiel od ostatných vzoriek v nich bola detekovaná aj maltóza. Pri ľanových semienkach bola maltóza stanovená na $10,13 \pm 0,51$ mg/g. Sezamové semienka obsahovali $4,69 \pm 0,23$ mg/g. Maltóza, nazývaná tiež sladový cukor, je získavaná zo sladu. V tomto prípade mohla byť v semienkach detekovaná v dôsledku štiepenia prítomných polysacharidov za podmienok analýzy. Graficky je obsah stanovovaných cukrov premietnutý vid' Obrázok 17.

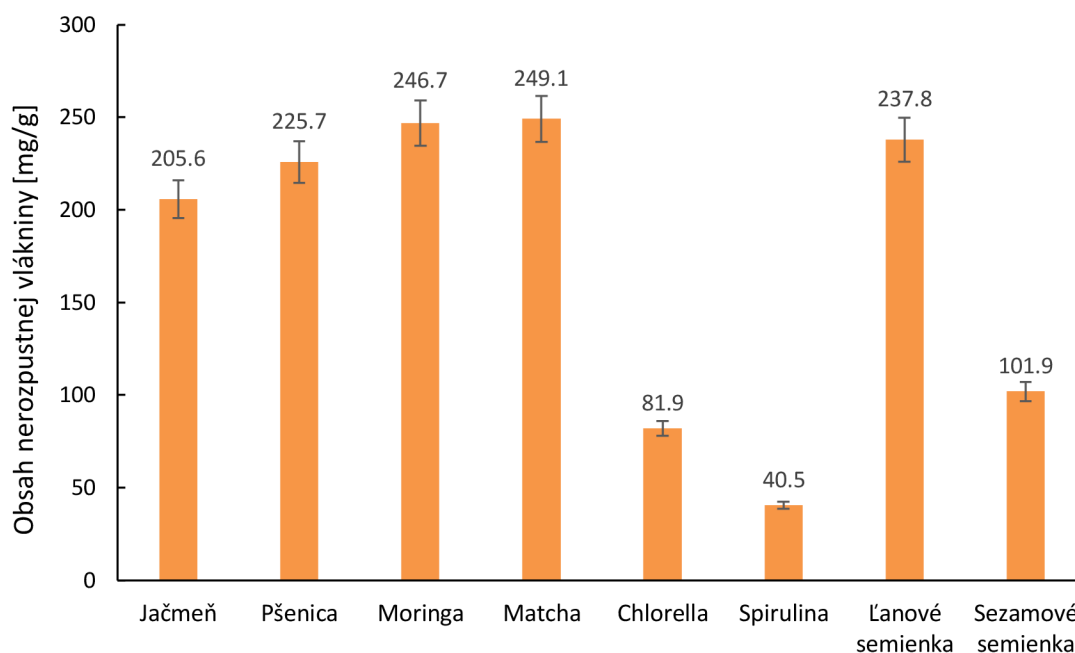


Obrázok 17 – Podiel jednotlivých cukrov vo vzorkách

5.1.4 Stanovenie nerozpustnej vlákniny podľa Henneberga a Stohmanna

Nerozpustná vláknina bola stanovená metódou podľa Henneberga a Stohmanna. Celý postup je uvedený v kapitole 4.4.4. Hmotnosť nerozpustnej vlákniny bola vypočítaná ako rozdiel hmotnosti vzorky po vysušení a hmotnosti vzorky po spálení. Výsledky stanovenia sú zobrazené na Obrázok 18.

Na výsledkoch možno vidieť, že väčšina vzoriek obsahuje viac ako 20 % nerozpustnej vlákniny. Výnimkou sú chlorella, spirulina a sezamové semienka. Najvyššia hodnota bola zistená pri vzorke matcha ($249,1 \pm 12,3$ mg/g). Nerozpustná vláknina sa skladá z celulózy a lignínu a podľa dostupných zdrojov by sa jej obsah v matchy mal pohybovať v rozmedzí 10,7 až 17,5 %. Hodnoty však ovplyvňujú ako podmienky pri pestovaní čaju, tak spôsob zberu a následného spracovania. Obsah nerozpustnej vlákniny je hojnejší v čaji hnojenom potašovými hnojivami [59].



Obrázok 18 – Obsah nerozpustnej vlákniny

Pomocou údajov o obsahu celkovej vlákniny, ktoré deklaroval výrobca na obale a stanovenej nerozpustnej vlákniny bol vypočítaný obsah rozpustnej vlákniny vo vzorkách. Hodnoty sú uvedené v Tabuľka 15. Pri vzorke sezamových semienok výrobca neuvádza údaj o množstve vlákniny, preto pri tejto vzorke nebola ani vypočítaná rozpustná vláknina.

Vzorky obsahujú pomerne vysoké množstvá vlákniny vzhľadom na svoj objem. Zaujímavým zdrojom sú ľanové semienka, ktoré obsahujú takmer sedemkrát viac nerozpustnej vlákniny ako rozpustnej. Naproti tomu pri vzorkách chlorelly a spiruliny je pomer nerozpustnej vlákniny k rozpustnej už len 2:1.

Dospelý jedinec jej priemerne skonzumuje len 15 g/deň, pričom odporúčaná hodnota je 30 g/deň. Súčasne so zvýšenou konzumáciou vlákniny by mal byť zvýšený aj príjem tekutín [60].

Pri malých deťoch treba dbať na postupné a nie nárazové zaraďovanie potravín s vysokým obsahom vlákniny do jedálneho líčka. Ich strava by nemala byť príliš objemná, aby prijali dostatok všetkých druhov živín potrebných na vývoj [60].

Vzhľadom na zastúpenie nerozpustnej a rozpustnej vlákniny v potravinách v rôznych pomeroch, je dôležité konzumovať viac druhov potravín s jej obsahom. Použité vzorky pri ich pravidelnej konzumácii podmienku spĺňajú a môžu slúžiť ako plnohodnotné zdroje tejto nezastupiteľnej zložky potravy.

Tabuľka 15 – Obsah nerozpustnej a rozpustnej vlákniny a hodnota celkovej vlákniny

	Celková vláknina [mg/g]	Nerozpustná vláknina [mg/g]	Rozpustná vláknina [mg/g]
Zelený jačmeň	290,5	205,6 ± 10,3	84,9
Mladá pšenica	333,0	225,7 ± 11,3	107,3
Moringa	320,0	246,7 ± 12,3	73,3
Matcha	367,0	249,1 ± 12,5	117,9
Chlorella	123,0	81,9 ± 4,1	41,1
Spirulina	60,0	40,5 ± 2,0	19,5
Ľanové semienka	273,0	237,8 ± 11,9	35,2
Sezamové semienka	-	101,9 ± 5,1	-

5.1.5 Stanovenie fruktánov

Fruktány boli stanovené za použitia súpravy pre stanovenie fruktánov – Fructan Assay Kit, Megazyme (USA). Obsah fruktánov bol vypočítaný podľa rovnice (4.1) uvedenej výrobcom. Celý postup a zloženie roztokov je uvedené v kapitole 4.4.5. Vypočítané hodnoty sú zhrnuté vid' Tabuľka 16 a graficky znázornené na Obrázok 19.

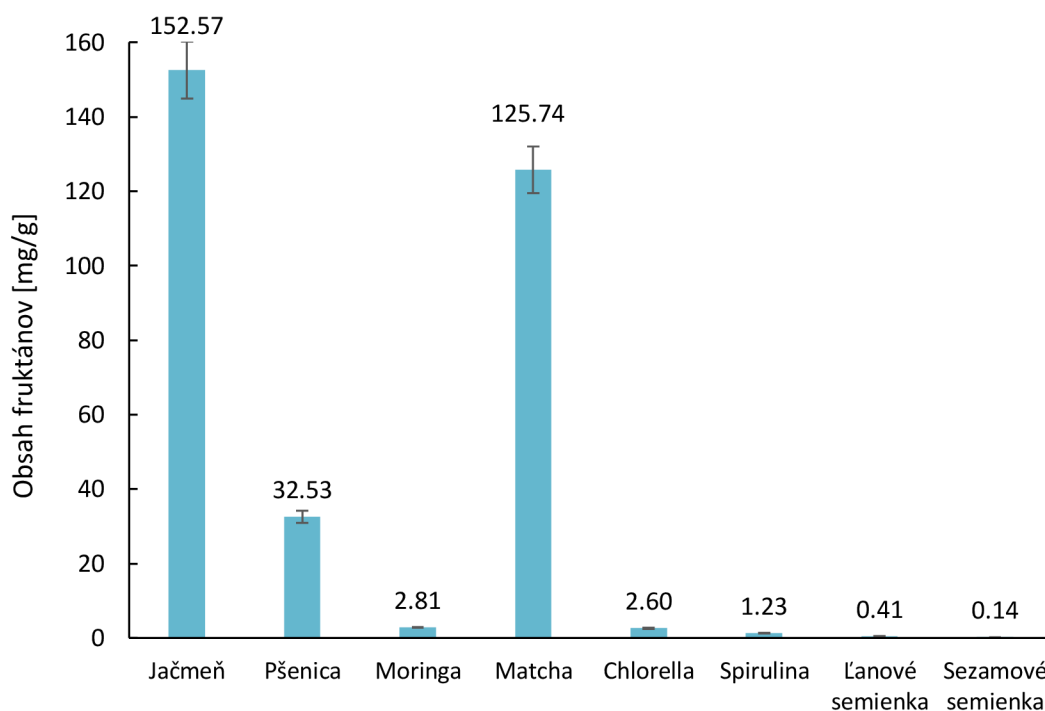
Tabuľka 16 – Obsah fruktánov stanovený pomocou súpravy

	Obsah fruktánov [mg/g]
Zelený jačmeň	152,57 ± 7,63
Mladá pšenica	32,53 ± 1,63
Moringa	2,81 ± 0,14
Matcha	125,74 ± 6,29
Chlorella	2,60 ± 0,13
Spirulina	1,23 ± 0,06
Ľanové semienka	0,41 ± 0,13
Sezamové semienka	0,14 ± 0,08

Fruktány (fruktooligosacharidy) sú podľa výsledkov výraznejšie zastúpené v troch vzorkách. Najviac ich obsahuje zelený jačmeň (152,57 ± 7,63 mg/g), nasleduje vzorka matcha (125,74 ± 6,29 mg/g) a mladej pšenice (32,53 ± 1,63 mg/g). Tieto potraviny môžu slúžiť ako kvalitný zdroj fruktooligosacharidov. Vzhľadom na lipidický charakter vzoriek semienok je množstvo fruktánov zo všetkých vzoriek najnižšie a u oboch nedosahuje ani 1 mg/g.

V zelenom jačmeni, podobne ako v iných trávach, sú fruktány produkované počas vegetatívnej fázy aj skorého štádia reprodukčnej fázy a sú nevyhnutné pre plnenie zrna a ako ochrana pred suchom a mrazom [61].

Fruktány sa môžu používať v potravinárskych aplikáciách ako funkčná zložka potravy s pozitívnym účinkom na ľudský mikrobióm. Ľudskému organizmu chýbajú enzýmy na trávenie fruktánov. Preto nie sú strávené v tenkom čreve a stimulujú rast baktérií v hrubom čreve. Týmto sa napomáha proti ochoreniam ako zápcha a črevné infekcie, či dokonca rakovina hrubého čreva. Fruktány taktiež zvyšujú absorpciu železa a vápnika v organizme [62].



Obrázok 19 – Zastúpenie fruktánov vo vzorkách

5.1.6 Stanovenie beta-glukánov

Stanovenie beta-glukánov prebiehalo pomocou UV-VIS spektrofotometrie prostredníctvom súpravy Beta-glucan Assay Kit, Megazyme (USA) podľa postupu uvedeného v kapitole 4.4.6. Obsah beta-glukánov bol vypočítaný podľa rovnice (4.2) uvedenej výrobcom. Vypočítané hodnoty sú uvedené v Tabuľka 17 a graficky ich znázorňuje Obrázok 20.

Tabuľka 17 – Obsah beta-glukánov stanovený pomocou súpravy

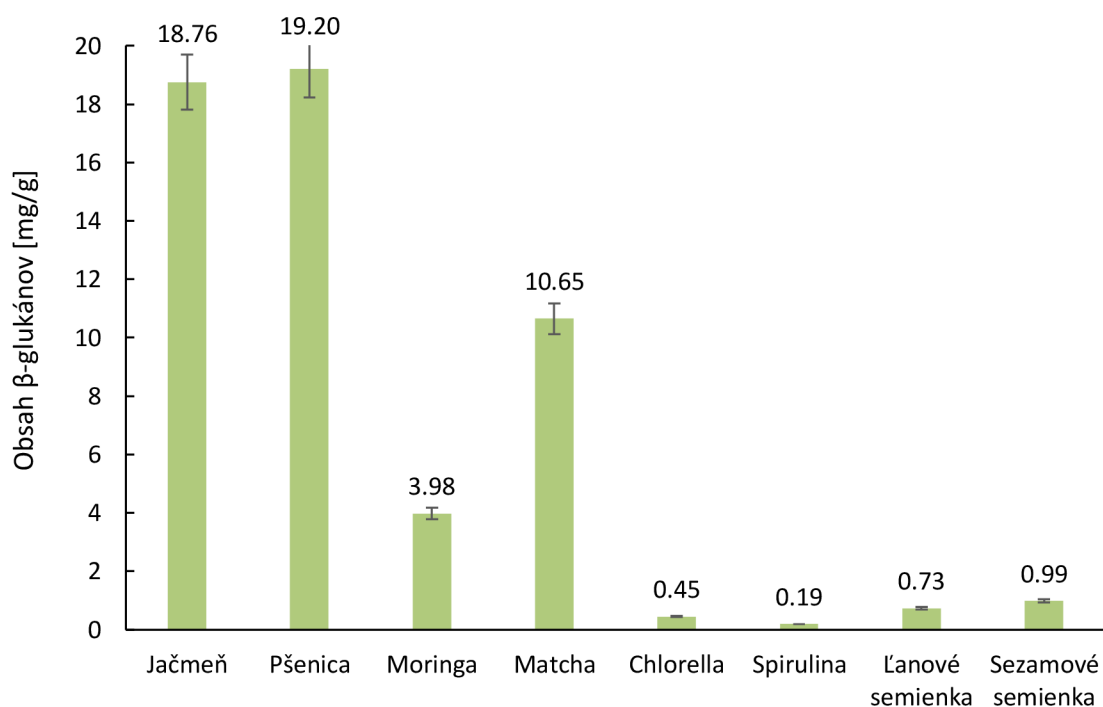
	Obsah beta-glukánov [mg/g]
Zelený jačmeň	18,76 ± 0,94
Mladá pšenica	19,21 ± 0,96
Moringa	3,98 ± 0,20
Matcha	10,65 ± 0,53
Chlorella	0,45 ± 0,02
Spirulina	0,19 ± 0,04
Ľanové semienka	0,73 ± 0,04
Sezamové semienka	0,99 ± 0,05

Z výsledkov stanovenia vyplýva, že beta-glukány sú, podobne ako fruktány, najviac zastúpené vo vzorkách zeleného jačmeňa ($18,76 \pm 0,94$ mg/g), mladej pšenice ($19,21 \pm 0,96$ mg/g) a čaju matcha ($10,65 \pm 0,53$ mg/g). Najmenej sú beta-glukány zastúpené vo vzorkách spiruliny ($0,19 \pm 0,04$ mg/g) a chlorelly ($0,45 \pm 0,02$ mg/g).

V percentuálnom premietnutí sa ani jedna vzorka nedostala nad 2 % obsahu beta-glukánov. Na ich zastúpenie majú vplyv podmienky pestovania a úpravy po zbere. Obsah beta-glukánov má výrazný vplyv na vlastnosti cereálnych produktov. Stanovenie mohlo byť ovplyvnené veľkou citlivosťou farbivého reagentu používaného pri analýze.

Vzorka zeleného jačmeňa je kvalitným zdrojom vlákniny, a to rozpustnej aj nerozpustnej. Beta-glukány sú hlavnou zložkou rozpustnej vlákniny v jačmeni. Vďaka vysokej viskozite, ktorú majú vo vodných roztokoch sa zvyšuje viskozita obsahu v črevách. To tiež môže napomáhať k zvýšenej absorpcii aktívnych látok v organizme. Tie môžu byť po obalení viskóznym roztokom beta-glukánov chránené pri prechode tráviacou sústavou [63].

Pravidelná konzumácia týchto nutrientov má okrem tráviaceho traktu vplyv aj na kardiovaskulárny systém. Beta-glukány napomáhajú k udržaniu normálnej hladiny cholesterolu v krvi. Pozitívny dopad ich konzumácie na ľudský organizmus potvrdil, okrem iných, aj Európsky úrad pre bezpečnosť produktov (EFSA). Odporúčaná dávka beta-glukánov je 3 g/deň [63].



Obrázok 20 – Zastúpenie beta-glukánov vo vzorkách

5.2 Analýza lipidov

5.2.1 Gravimetrické stanovenie celkového obsahu lipidov

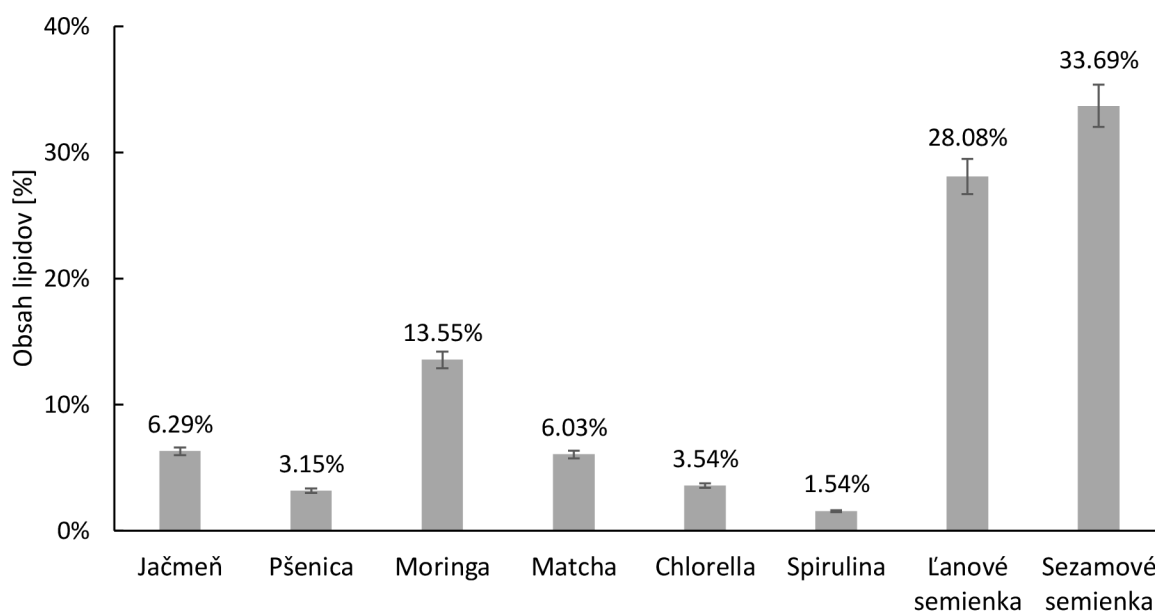
Gravimetrická analýza lipidov bola prevedená s extraktmi lipidov. Extrakty boli získané pomocou prístroja SOXTHERM (Gerhardt). Ako rozpúšťadlo bol zvolený hexán. Postup extrakcie je uvedený v kapitole 4.5.1.

Najviac lipidov je podľa výsledkov analýzy obsiahnutých v olejnatých semienkach. Sezamové semienka obsahujú 33,69 % lipidov a v ľanových semienkach je tento obsah 28,08 %. Pomerne vysoký podiel lipidov bol taktiež stanovený vo vzorke moringy, kde to bolo 13,55 %. Najmenej lipidov bolo zastúpených vo vzorke spiruliny, a to len 1,54 %. Nízke množstvo bolo tiež stanovené v mladej pšenici (3,15 %) a vo vzorke chlorelly (3,54 %).

Moringa už vo svojom názve (moringa olejodarná) evokuje ako charakteristickú zložku lipidy. V dostupnej štúdii je uvedené, že semienka moringy obsahujú 41,7 % olejov a vysoký podiel mastných kyselín. Ďalej sa uvádza, že sú výrazne odolné voči oxidatívnej degradácii.

V práci bol využitý prášok z listov moringy, kde bol očakávaný nižší podiel lipidov ako pri semenkách, čo sa potvrdilo. Napriek tomu spomedzi analyzovaných vzoriek sa jedná, mimo olejnatých semien, o najvyššie zastúpenie lipidov [64].

Výsledky gravimetrického stanovenia obsahu lipidov sú uvedené vid' Obrázok 21.



Obrázok 21 – Percentuálny podiel lipidov vo vzorkách

5.2.2 Obsah mastných kyselín podľa nasýtenosti

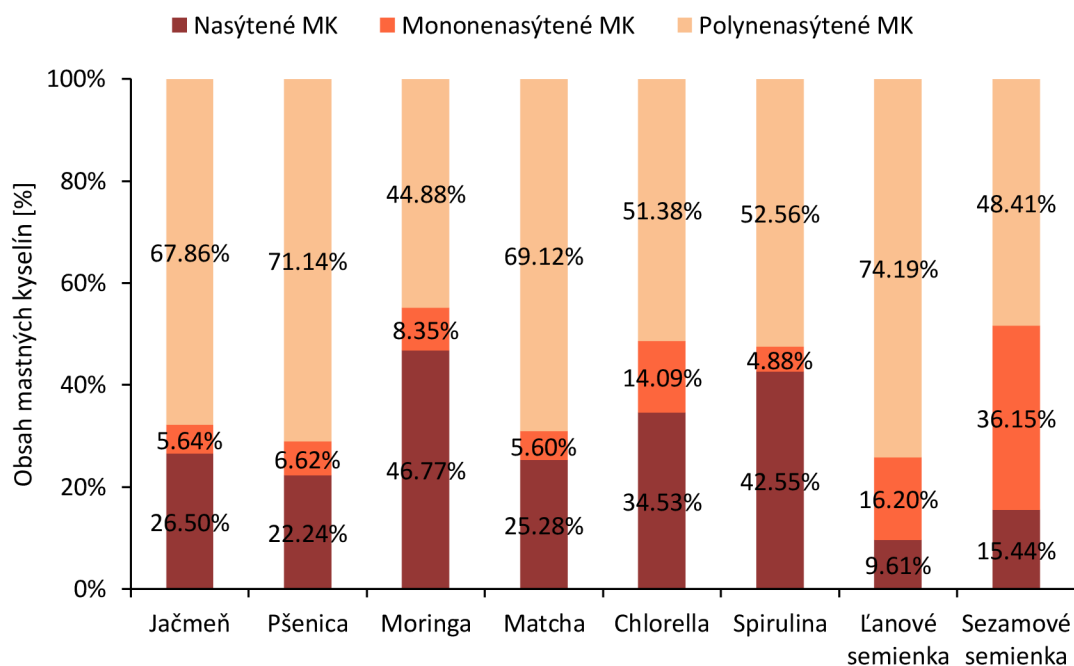
Profil mastných kyselín bol vo vzorkách analyzovaný pomocou plynovej chromatografie. Mastné kyseliny vo vzorkách boli najprv transesterifikované na prchavé metylestery podľa postupu uvedenom v kapitole 4.5.2. Následne prebehla analýza na plynovom chromatografe podľa postupu a za podmienok, ktoré sú uvedené v kapitole 4.5.3.

Pri práškových vzorkách (vid' Obrázok 22), okrem ľanových a sezamových semienok, boli najmenej zastúpené mononenasýtené mastné kyseliny (ďalej MUFA). Naopak najvyšší percentuálny podiel vo vzorkách, okrem moringy, zastupovali polynenasýtené mastné kyseliny (ďalej PUFA). Najviac ich obsahovali ľanové semenka, a to až 74,19 %. Vysokú hladinu PUFA taktiež obsahovala vzorka mladej pšenice (71,14 %). Veľmi podobné zloženie z hľadiska saturácie mastných kyselín mali zelený jačmeň a matcha. U oboch vzoriek prevládali PUFA v hodnote pri jačmeni 67,86 % a pri vzorke matcha 69,12 %. Takisto obidve obsahovali viac ako 5 % MUFA. Podobná bola aj hladina nasýtených mastných kyselín (ďalej SFA), a to u jačmeňa 26,5 % a u vzorky matcha 25,28 %. Zelený jačmeň a matcha mali aj podobný obsah celkových vyextrahovaných lipidov (vid' Obrázok 21).

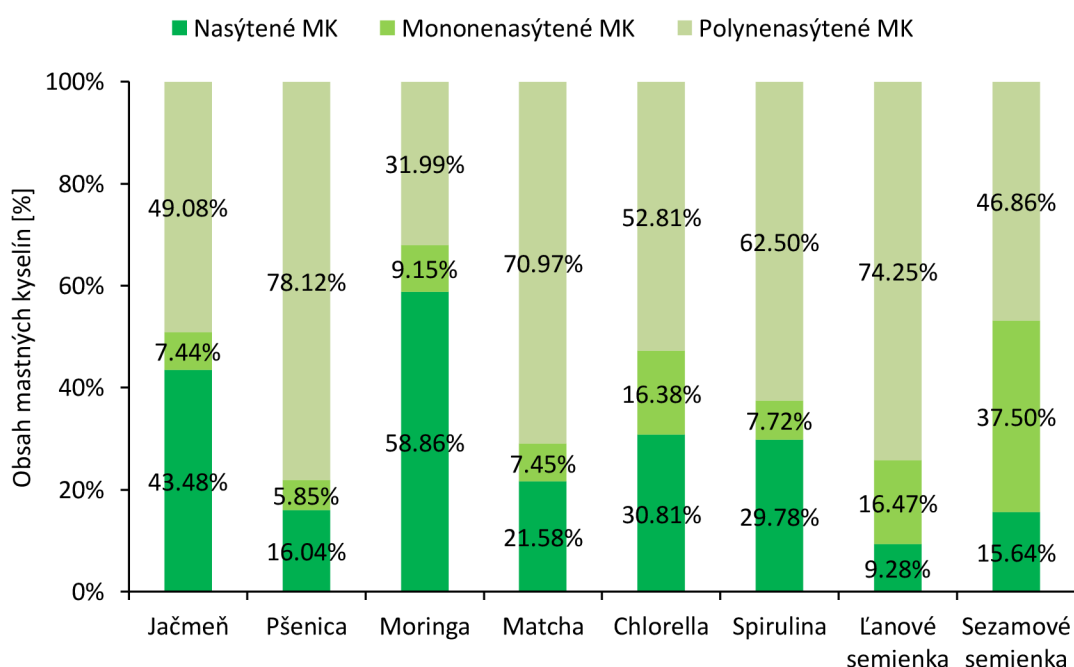
V extrahovaných olejoch vzoriek (vid' Obrázok 23) boli taktiež analyzované mastné kyseliny z hľadiska nasýtenosti. Podobne ako pri práškových vzorkách opäť prevládali v zastúpení PUFA, a to vo všetkých vzorkách okrem moringy. Pri vzorkách olejnatých semienok zostal pomer nasýtených a nenasýtených kyselín takmer totožný. Extrakcia výraznejšie ovplyvnila zastúpenie nasýtených a nenasýtených mastných kyselín vo vzorkách zeleného jačmeňa, mladej pšenice, moringy a spiruliny. Pri zelenom jačmeni sa znížil obsah

PUFA na 49,08 %. Naopak množstvo SFA stúplo na 43,48 %. Pri moringe nastala rovnaká situácia, množstvo SFA sa zvýšilo na 58,86 %, čo predstavuje nárast o 12,09 %. Naopak pri vzorke pšenice bolo pri olejových extraktoch stanovené vyššie množstvo PUFA, a to na 78,12 %. Pri vzorke spiruliny hodnota polynenasýtených mastných kyselín stúpla na 62,50 %.

Zmeny pomerov mastných kyselín a tiež profilu konkrétnych FA mohli ovplyvniť podmienky extrakcie ako teplota či rozpúšťadlo, kde mohli niektoré kyseliny degradovať.



Obrázok 22 – Zastúpenie mastných kyselín podľa nasýtenosti v práškových vzorkách



Obrázok 23 – Zastúpenie mastných kyselín podľa nasýtenosti v extraktoch lipidov

5.2.3 Stanovenie profilu mastných kyselín

Vo vzorkách boli kvalitatívne a aj kvantitatívne stanovené jednotlivé mastné kyseliny (FA) pomocou plynovej chromatografie podľa postupu uvedeného v kapitole 4.5.3. Zoznam označení stanovených FA a ich názvov je uvedený v Príloha 1.

Zastúpenie mastných kyselín je pri práškových vzorkách aj pri extrahovaných lipidoch rôznorodé. Pri extrahovaných lipidoch vzorka obsahovala len celkové lipidy z potraviny. Z toho vyplýva, že celý objem vzorky tvorili ako mastné kyseliny, tak glykolipidy, fosfolipidy, či lipofilné farbivá a steroidy. Z nich boli stanovené FA a ich zastúpenie bolo vztiahnuté na celkové množstvo lipidov.

Pri práškových vzorkách bola použitá navážka komplexnej biomasy, ktorá teda obsahovala aj ďalšie nutričné zložky ako sacharidy a proteíny. Stanovené z nich boli opäť len mastné kyseliny a ich zastúpenie bolo vztiahnuté na celkové množstvo komplexnej biomasy. Výsledky sú uvedené vid' Tabuľka 18.

Na výsledkoch možno vidieť, že najviac mastných kyselín obsahujú ľanové semienka nasledované sezamovými semienkami. Naopak najmenej FA sa nachádza v zelenom jačmeni, kde to je 2,23 %. Z celkových lipidov je podiel mastných kyselín najvyšší pri spiruline (63,25 %).

Tabuľka 18 – Množstvo FA vzhľadom na celkovú biomasu a vzhľadom na lipidy samotné

	Prášková vzorka [%]	Extrahované lipidy [%]
Zelený jačmeň	2,23	24,64
Mladá pšenica	3,34	47,46
Moringa	2,36	14,49
Matcha	4,13	12,41
Chlorella	6,57	44,64
Spirulina	8,86	63,25
Ľanové semienka	27,09	45,97
Sezamové semienka	23,26	39,61

Zastúpenie konkrétnych mastných kyselín je uvedené vid' Tabuľka 19 a Tabuľka 20. Rozdiely v profile mastných kyselín možno pozorovať v niekoľkých prípadoch. Čo sa týka nasýtených mastných kyselín, najviac je zastúpená vo všetkých vzorkách kyselina palmitová (C16:0). Rozdiely sú viditeľné pri kyseline stearovej (C18:0), kyseline arachovej (C20:0) a lignocerovej (C24:0). Hoci kyselina stearová nie je pri práškových vzorkách obsiahnutá v zelenom jačmeni, mladej pšenici a spiruline, v extrahovaných lipidoch týchto vzoriek ju už možno pozorovať. Podobne kyseliny arachová a lignocerová neboli detekované ani v jednej práškovej vzorke, no pri extrahovaných lipidoch ich už pozorujeme. V prípade kyseliny arachovej sú pri vzorke jačmeňa, moringy a sezamových semienok. Kyselina lignocerová sa objavuje pri vzorkách jačmeňa, pšenice, moringy a chlorelly.

Tabuľka 19 – Percentuálne zastúpenie jednotlivých mastných kyselín v práškových vzorkách

	Zelený jačmeň	Mladá pšenica	Moringa	Matcha	Chlorella	Spirulina	Ľanové semienka	Sezamové semienka
	Obsah mastnej kyseliny [%]							
C14:0	8,14	8,54	12,26	5,05	3,64	3,02	1,11	1,34
C16:0	18,36	13,70	29,48	20,23	28,33	38,71	5,38	9,11
C18:0	-	-	4,72	-	2,55	-	3,12	4,78
C16:1	-	-	-	-	-	2,71	-	-
C18:1c	5,64	6,62	6,72	5,60	14,09	2,17	16,20	36,15
C18:2c	9,91	10,92	7,54	12,52	30,35	18,93	15,87	46,37
C18:3d6	-	-	-	-	-	31,08	-	-
C18:3d3	51,44	52,78	29,67	52,33	18,79	-	57,40	-
C22:6	6,51	7,44	9,60	4,28	2,24	2,55	0,93	1,19

Tabuľka 20 – Percentuálne zastúpenie jednotlivých mastných kyselín v extrahovaných lipidoch

	Zelený jačmeň	Mladá pšenica	Moringa	Matcha	Chlorella	Spirulina	Ľanové semienka	Sezamové semienka
	Obsah mastnej kyseliny [%]							
C14:0	0,65	0,54	1,79	0,83	0,82	0,40	0,17	0,10
C16:0	36,23	14,85	44,35	21,02	26,53	27,49	5,26	10,00
C18:0	5,71	1,27	9,25	-	3,45	1,77	4,09	5,38
C20:0	0,98	-	1,58	-	-	-	-	0,30
C24:0	0,11	0,13	0,68	-	0,09	-	-	-
C14:1	-	-	-	-	0,21	0,22	-	-
C16:1	-	1,60	2,05	2,42	0,80	2,54	-	0,12
C18:1c	7,44	4,27	7,80	6,25	15,02	5,18	16,70	37,17
C18:2c	26,68	14,26	11,58	13,95	32,55	19,43	15,88	46,04
C18:3d6	-	-	-	-	-	32,92	-	-
C18:3d3	21,87	62,91	16,65	54,80	20,42	9,94	57,75	0,58
C22:6	0,33	0,17	0,77	0,72	0,12	0,11	0,15	0,10

Z mononenasýtených mastných kyselín sú vo vzorkách zastúpené kyselina myristoolejová (C14:1), palmitoolejová (C16:1) a olejová (C18:1c). Kyselina myristoolejová sa nachádza len pri extrahovaných lipidoch vzoriek chlorelly a spiruliny, a to v zastúpení nižšom než 1 %. Kyselina palmitoolejová je pri práškových vzorkách obsiahnutá len v spiruline. V extrahovaných lipidoch sa nachádzala už v takmer všetkých vzorkách okrem jačmeňa a ľanových semienok. Kyselina olejová je zastúpená vo všetkých typoch vzoriek.

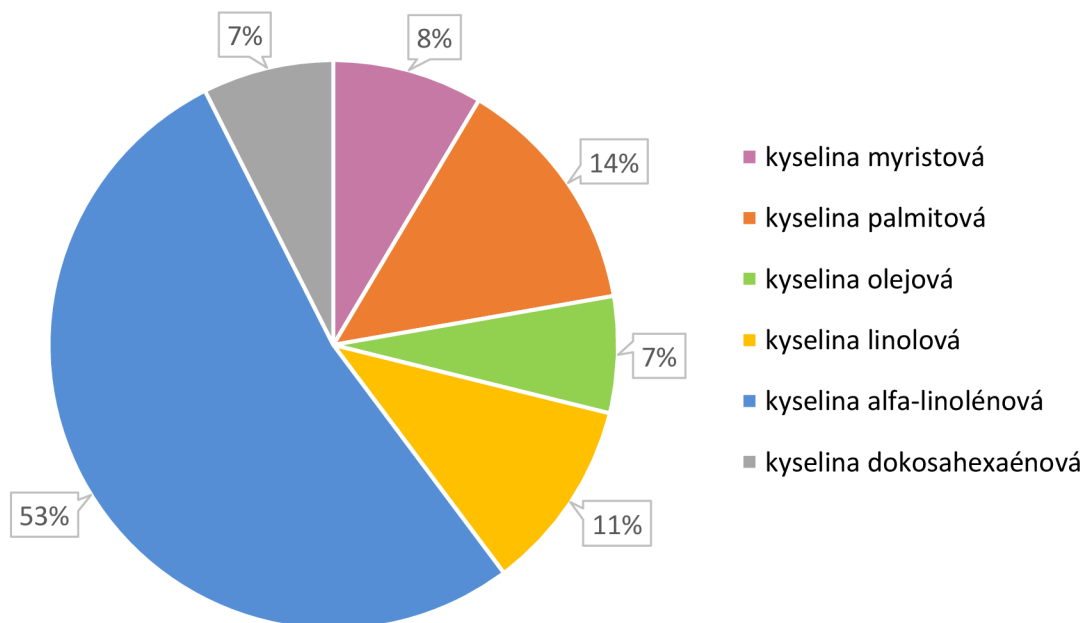
Polynenasýtené mastné kyseliny sú vo vzorkách reprezentované kyselinou linolovou (C18:2c), kyselinou gama-linolénovou (C18:3d6), kyselinou alfa-linolénovou (C18:3d3) a kyselinou dokosahexaénovou (C22:6). Zaujímavá je vzorka spiruliny, ktorá ako jediná obsahuje kyselinu gama-linolénovú (31,08 %). Táto kyselina patrí medzi omega-6 mastné kyseliny. Oplyvňuje zápalové reakcie v tele a ona samotná a jej metabolity, ako napr.

prostaglandíny, majú vplyv na expresiu génov, ktoré hrajú významnú úlohu pri imunitných funkciách a tiež pri apoptóze. V tele je produkovaná z kyseliny linolovej pomocou enzýmu delta-6-desaturáza [65].

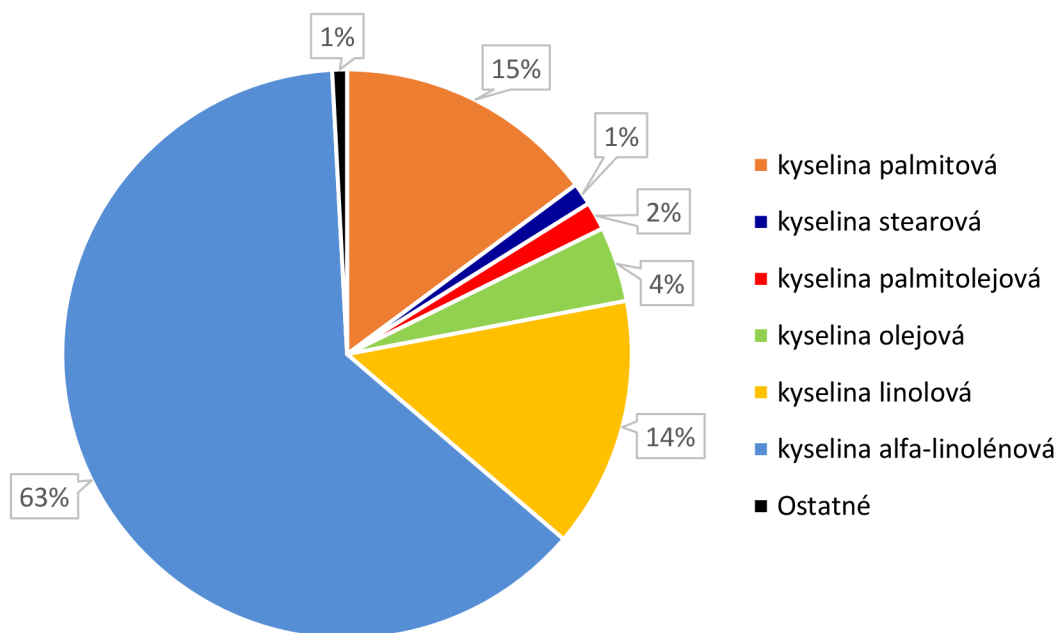
Kyselina linolová je zastúpená vo všetkých typoch vzoriek, najviac v sezamových semienkach (46,37 %) a chlorelle (30,35 %). Patrí medzi esenciálne mastné kyseliny a je dôležitá pre správny chod rôznych fyziologických funkcií ako bunková signalizácia a metabolizmus lipidov [66].

Medzi esenciálne mastné kyseliny patrí okrem kyseliny linolovej aj kyselina alfa-linolénová. Tá sa radí do kategórie omega-3 mastných kyselín. Zo vzoriek jej najviac obsahujú ľanové semienka (57,40 %) a mladá pšenica (52,78 %). Zastúpenie FA vo vzorke mladej pšenice je pre ukážku ilustrované aj na Obrázok 24 a Obrázok 25.

Dostatočný príjem esenciálnych mastných kyselín je dôležitý okrem iného aj pre vývoj mozgu a nervového systému. Kyselina alfa-linolénová je v tele premieňaná na kyseliny eikosapentaénovú a dokosahexaénovú, ktoré sú potrebné pre správny vývoj mozgu. Táto premena sa uskutočňuje opäť prostredníctvom enzýmu delta-6-desaturáza. U detí do 6 mesiacov je aktivita tohto enzýmu veľmi nízka a preto je potrebné, najlepšie prostredníctvom materského mlieka, esenciálne mastné kyseliny telu dodávať [67].



Obrázok 24 – Zastúpenie mastných kyselín v práškovej vzorke mladej pšenice



Obrázok 25 – Zastúpenie mastných kyselín v extrahovaných lipidoch mladej pšenice

5.3 Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla

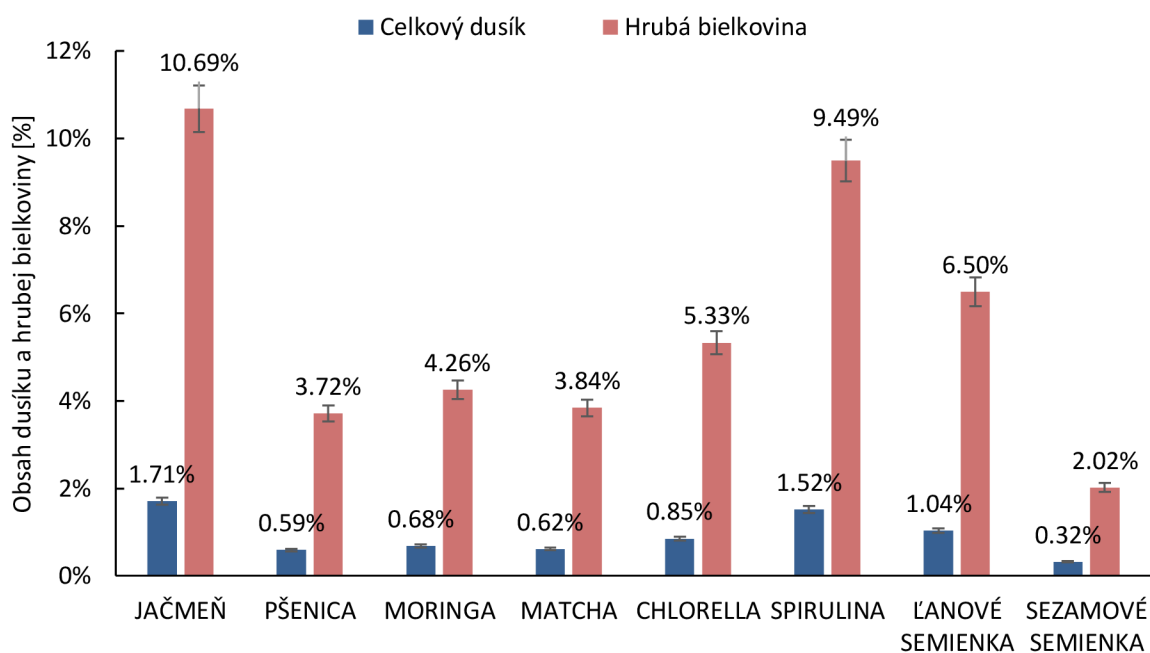
Celkový dusík bol stanovený metódou podľa Kjeldahla podľa postupu uvedeného v kapitole 4.6. Celkový dusík bol stanovený v mineralizáte vzoriek a hrubá bielkovina bola následne prepočítaná pomocou univerzálneho prepočítavacieho faktoru 6,25. Výsledky analýzy sú premietnuté vid' Obrázok 26.

Najviac celkového dusíku a teda aj hrubej bielkoviny bolo detekované vo vzorke zeleného jačmeňa, kde hodnota hrubej bielkoviny dosiahla 10,69 %. Vysoký podiel hrubej bielkoviny bol tiež stanovený pri vzorke spiruliny. Najnižšia hodnota hrubej bielkoviny bola zaznamenaná pri sezamovom semienku, kde dosiahla 2,02 %.

Signifikantný rozdiel možno pozorovať medzi vzorkami zeleného jačmeňa a mladej pšenice. Hoci v oboch prípadoch ide o obilninu, hodnoty pri pšenici sú výrazne nižšie. Výrobca udáva pri oboch produktoch obsah bielkovín približne 20 %.

Pri mikroriase chlorella a sinici spirulina bol obsah hrubej bielkoviny stanovený na 5,33 % resp. 9,49 %. Variabilita referenčných nutričných hodnôt je široká a závisí od konkrétneho druhu a spôsobu kultivácie. Vplyv majú parametre ako teplota, pH, substrát a tiež svetelné podmienky. V závislosti na týchto faktoroch je množstvo proteínov v rôznych prípadoch zaznamenávané vo veľmi širokom rozmedzí, a to pri chlorelle 7 až 70 % a pri spiruline 17 až 73 %. Hodnoty sa pri vzorkách nezhodujú s údajmi danými výrobcom. Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla taktiež zahŕňa nebielkovinový dusík a prepočítavacie faktory vo väčšine prípadov nie sú jednoznačné vzhľadom na špecifickosť vzorky [68].

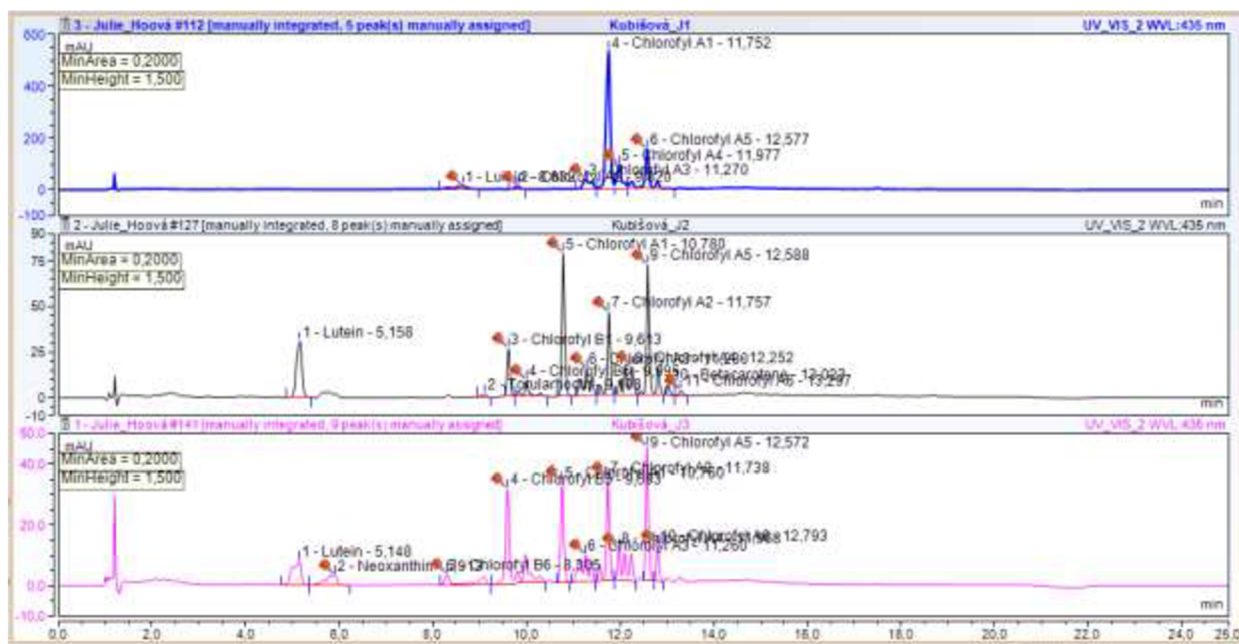
Pre zvýšenie presnosti analýzy by bola vhodná aj optimalizácia metódy mineralizácie na konkrétne použité vzorky.



Obrázok 26 – Obsah celkového dusíku a hrubej bielkoviny

5.4 Analýza obsahu pigmentov pomocou HPLC

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza pigmentov bola prevedená pomocou HPLC chromatografie. Celý postup je uvedený v kapitole 4.7. Chromatogramy boli vyhodnotené pomocou softvéru Chromeleon. Použité boli tri typy extraktov. Vzorky boli extrahované metódou podľa Folcha a paralelne pomocou hexánu a tiež etanolu. Ukážku chromatogramu pre vzorku zeleného jačmeňa zobrazuje Obrázok 27.



Obrázok 27 – Chromatogramy stanovovaných pigmentov vzorky jačmeňa pre rôzne použité extrakty

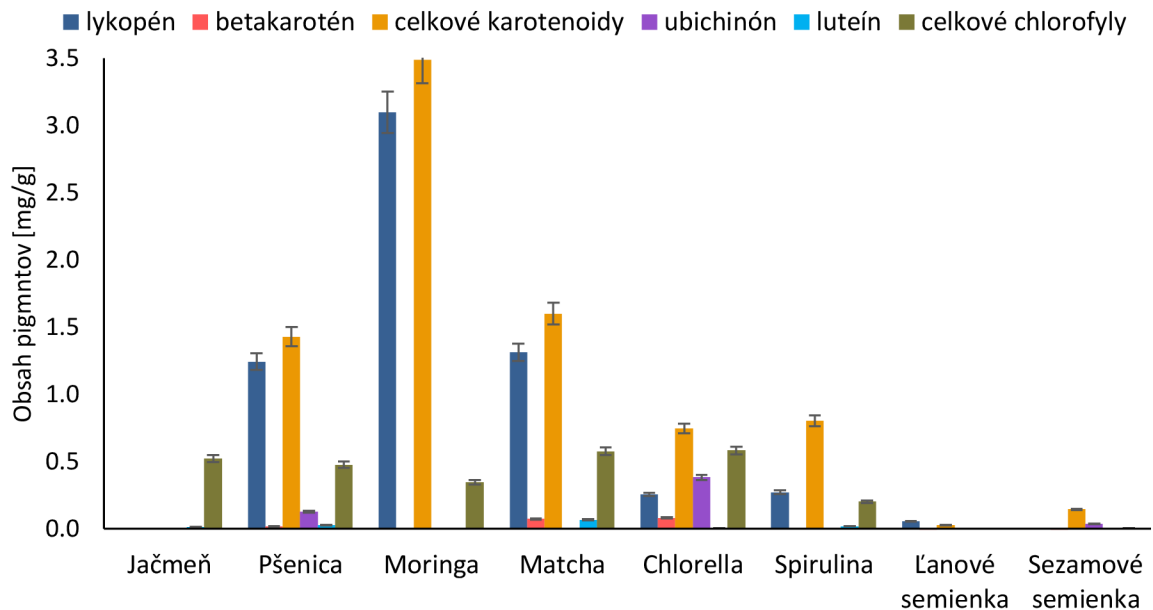
Vo vzorkách boli identifikované rôzne druhy pigmentov. Vo väčšine vzoriek mal vysoké zastúpenie chlorofyly, či už chlorofyl a alebo chlorofyl b. Chlorofyl sa v priebehu analýzy rozkladal, čo bolo pozorovateľné na chromatogramoch. Retenčný čas jednotlivých pík presne nezodpovedal kalibrácii a posuny boli viditeľné. Preto boli píky kvalitatívne analyzované pomocou jednotlivých UV-VIS spektier. Analýza preto mohla byť ovplyvnená týmito posunmi.

Výrazný vplyv na obsah pigmentov malo aj rozpúšťadlo použité na extrakciu. Najviac pigmentov bolo vyextrahovaných extrakciou podľa Folcha, kde ako rozpúšťadlá slúžili metanol a chloroform. Cieľom tohto typu extrakcie bolo porovnanie s GRAS rozpúšťadlami v kvantite vyextrahovaných pigmentov. Pri vzájomnom porovnaní jednotlivých extraktov (Tabuľka 21) je viditeľné, že pri vyextrahovaných celkových karotenoidoch bola najúčinnější extrakcia podľa Folcha. Výnimku tvoria ľanové semienka, kde bola najúčinnější extrakcia pomocou etanolu. Čo sa týka celkových chlorofylov, extrakcia podľa Folcha bola opäť vo väčšine prípadov najúčinnější. Viditeľný je rozdiel medzi hexánovými a etanolovými extraktmi, kde pri celkových chlorofyloch bol ako rozpúšťadlo účinnejší etanol.

Tabuľka 21 – Porovnanie množstva pigmentov v rôznych typoch extraktov

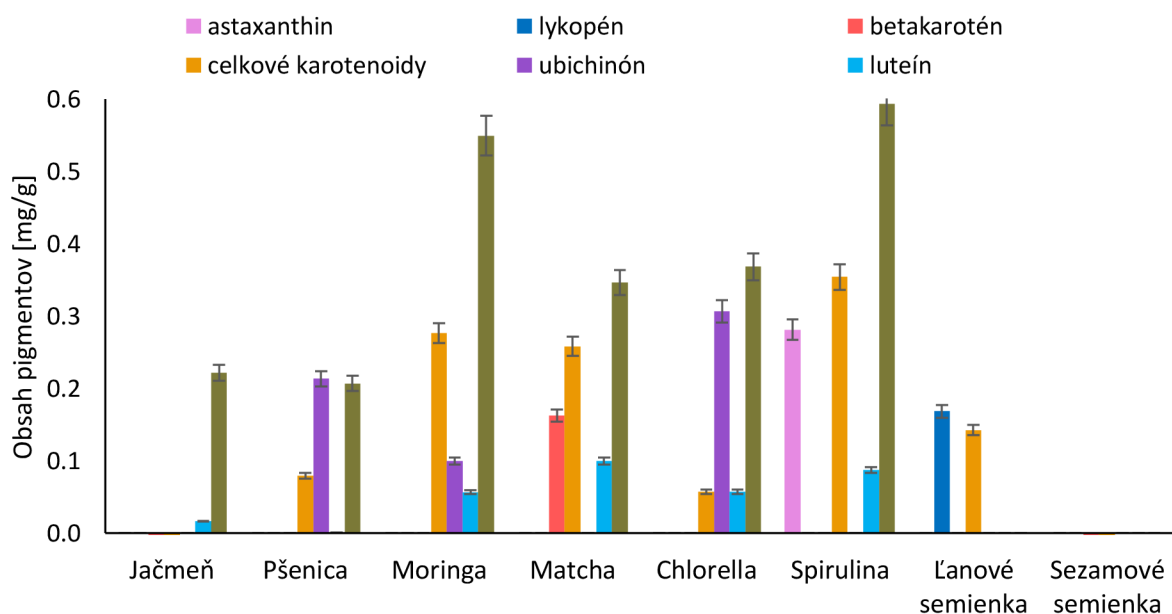
	Celkové karotenoidy [mg/g]			Celkové chlorofyly [mg/g]		
	Folch	Hexán	Etanol	Folch	Hexán	Etanol
Zelený jačmeň	-	-	-	0,52 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,01
Mladá pšenica	1,42 ± 0,07	0,08 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,47 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,34 ± 0,02
Moringa	3,49 ± 0,17	0,28 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,34 ± 0,02	0,55 ± 0,03	0,60 ± 0,03
Matcha	1,60 ± 0,08	0,26 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,57 ± 0,03	0,35 ± 0,02	0,45 ± 0,02
Chlorella	0,74 ± 0,04	0,06 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,58 ± 0,03	0,37 ± 0,02	0,49 ± 0,02
Spirulina	0,80 ± 0,04	0,35 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,59 ± 0,03	2,28 ± 0,11
Ľanové semienka	0,02 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,36 ± 0,02	-	-	-
Sezamové semienka	0,14 ± 0,01	-	-	-	-	-

V extraktoch podľa Folcha v jednotlivých vzorkách prevládali karotenoidy ako lykopén, luteín a β -karotén. Najviac lykopénu ($3,09 \pm 0,15$ mg/g) a zároveň celkových karotenoidov obsahovala moringa. Pomerne vysoké množstvo celkových karotenoidov obsahovali vzorky pšenice, kde to bolo $1,42 \pm 0,07$ mg/g a vzorka matcha ($1,60 \pm 0,08$ mg/g). Naopak najmenej pigmentov ako takých obsahovali ľanové a sezamové semienka. Pri tomto druhu extraktov sa hladina stanovených chlorofylov pohybovala najvyššie pri chlorelle ($0,58 \pm 0,03$ mg/g) a spiruline ($0,57 \pm 0,03$ mg/g). Výsledky stanovenia pigmentov v extraktoch podľa Folcha sú graficky znázornené vid' Obrázok 28.



Obrázok 28 – Obsah pigmentov stanovených v extraktoch podľa Folcha

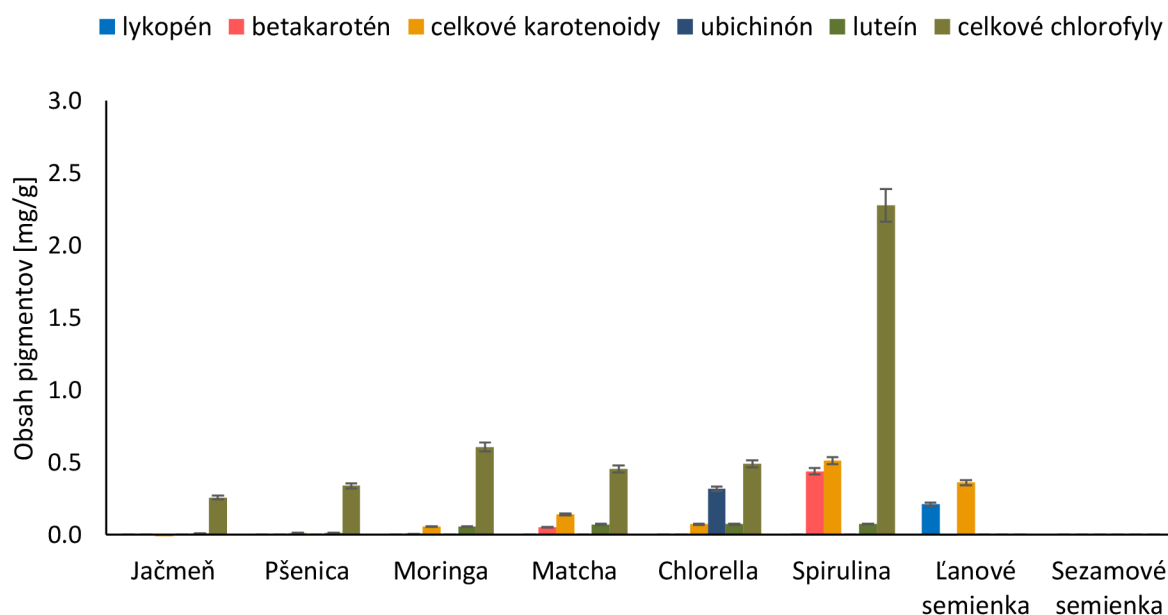
Ako ďalšie rozpúšťadlo pre extrakciu bol použitý hexán. Výsledky stanovenia pigmentov v hexánových extraktoch sú uvedené vid' Obrázok 29. Už na prvý pohľad je zrejmé, že v týchto extraktoch sa nachádzalo menej karotenoidov ako pri extrakcii podľa Folcha. Pri vzorke matcha je obsah celkových karotenoidov $0,26 \pm 0,01$ mg/g a ako v jedinej v nej bol identifikovaný β -karotén ($0,16 \pm 0,01$ mg/g). Zaujímavé výsledky dosiahli ľanové semienka. Obsah lykopénu pri extraktoch podľa Folcha bol len $0,05 \pm 0,00$ mg/g a v hexánových extraktoch už $0,17 \pm 0,01$ mg/g. V tomto prípade bola zrejme extrakcia pomocou hexánu účinnejšia ako podľa Folcha. Čo sa týka chlorofylov, najväčší podiel je zastúpený vo vzorke spiruliny ($0,59 \pm 0,03$ mg/g) a moringy ($0,55 \pm 0,03$ mg/g) a je vyšší než obsah chlorofylov stanovených v prvých extraktoch. Extrakcia pomocou hexánu bola aj v tomto prípade účinnejšia.



Obrázok 29 – Obsah pigmentov stanovených v hexánových extraktoch

Ako posledné rozpúšťadlo pre extrakcie bol vybraný etanol. Jednalo sa o jediné použité polárne rozpúšťadlo. Obsah pigmentov stanovených v etanolových extraktoch je graficky znázornený vid' Obrázok 30. Najviac celkových karotenoidov je obsiahnutých vo vzorke spiruliny, a to $0,51 \pm 0,03$ mg/g. Pre porovnanie pri extraktoch podľa Folcha to bolo $0,80 \pm 0,04$ mg/g, a v hexánových extraktoch $0,35 \pm 0,02$ mg/g. Samotný β -karotén bol pri spiruline identifikovaný len v etanolových extraktoch, a to v množstve $0,44 \pm 0,02$ mg/g. Toto množstvo je samozrejme ovplyvnené kultivačnými podmienkami. Stanovené množstvo β -karoténu v etanolových extraktoch vykazuje miernu odchýlku od hodnôt, ktoré uvádzajú odborné publikácie. Obsah β -karoténu v suchej biomase spiruliny by sa mal pohybovať v rozmedzí 0,5 až 2 mg/g [69].

Na výsledkoch možno vidieť, že v etanolových extraktoch nebola stanovená taká široká škála pigmentov ako v hexánových extraktoch a extraktoch podľa Folcha. Na druhej strane množstvo stanovených celkových chlorofylov je aj v tomto prípade porovnateľné. Z priemeru sa vymyká vzorka spiruliny, kde obsah celkových chlorofylov dosiahol $2,28 \pm 0,11$ mg/g.



Obrázok 30 – Obsah pigmentov stanovených v etanolových extraktoch

5.5 Návrh optimálneho zloženia prírodného doplnku stravy

Po analýze nutrientov boli pomocou lipidových extraktov pripravené lipozómy podľa postupu uvedeného v kapitole 4.8.1. Následne boli lipozómy enkapsulované do alginátových častíc. Postup prípravy alginátových častíc je uvedený v kapitole 4.8.2. Mikroskopické snímky pripravených častíc zo vzorky zeleného jačmeňa sú zobrazené vid' Obrázok 31.

Hoci všetky použité vzorky patria k vhodným doplnkom stravy, pre prípravu prírodného doplnku stravy pre deti sa podľa stanovených nutrientov a komplexnosti svojho zloženia najviac hodí zelený jačmeň, mladá pšenica a čaj matcha. Ako zdroj esenciálnych mastných kyselín by mohli slúžiť aj vo forme pripravených enkapsulovaných alginátových častíc obsahujúcich lipozómy s extraktmi olejov. V prípade mladej pšenice tvoril obsah esenciálnej kyseliny alfa-linolénovej v extrahovanom oleji až 62,91 %. Zároveň obsah kyseliny linolovej

v extrahovanom oleji zeleného jačmeňa je 26,68 %. Ďalším obohatením alginátovej častice je prídavok vodného extraktu spomínaných potravín, čo by navýšilo obsah prírodne dostupných cukrov a malo pozitívny vplyv na chuť doplnku. V neposlednom rade sú tieto vzorky bohaté na vlákninu, fruktány a β -glukány. Zelený jačmeň obsahujúci $205,6 \pm 10,3$ mg/g vlákniny, $152,57 \pm 7,63$ mg/g fruktánov a $18,76 \pm 0,94$ mg/g beta-glukánov, je vo vzájomnom zohľadnení všetkých spomínaných parametrov najpriaznivejšou alternatívou zo všetkých vzoriek. A to najmä vďaka pozitívnemu efektu, ktoré tieto zložky majú na črevnú mikroflóru.

Prídavku enkapsulovaných častíc a zároveň pevnej vzorky do probiotických produktov ako sú jogurty a kyslomliečne nápoje by došlo k zvýšeniu nutričnej hodnoty týchto potravín. Pri prídavku 1 % hm. prášku zeleného jačmeňa by v prípade 150 g jogurtu príjem nerozpustnej vlákniny navýšil o 308,4 mg, príjem fruktánov o 228,9 mg a príjem β -glukánov o 28,14 mg. Najmä β -glukány by boli v tomto prípade dôležité vzhľadom na fakt, že pri prechode tráviacou sústavou by vďaka svojej viskozite mohli napomôcť ochrane probiotík a ich dopraveniu až do čriev.

Ako zaujímavá sa javí aj možnosť prídavku viacerých vzoriek do potraviny v rôznom pomere. Ako zdroj mastných kyselín by mohli slúžiť olejnaté semená, zdrojom vlákniny, fruktánov a beta-glukánov by zas mohli byť zelený jačmeň, mladá pšenica a čaj matcha. Zohľadnená by však samozrejme mala byť aj chuť doplnku, aby stále zostal pre spotrebiteľa atraktívny.



Obrázok 31 – Enkapsulované alginátové častice s lipozómami so zeleným jačmeňom (20x zväčšenie)

6 ZÁVER

Diplomová práca bola zameraná na charakterizáciu nutričného profilu vybraných potravín. Medzi potraviny, ktoré boli v tejto práci charakterizované patrí zelený jačmeň (*Hordeum vulgare*), mladá pšenica (*Triticum aestivum*), moringa olejodarná (*Moringa oleifera*), čaj matcha (*Camellia sinensis*), mikroriasa chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*), spirulina (*Arthrospira platensis*), semienka ľanu siateho (*Linum usitatissimum*) a semienka sezamu indického (*Sesamum indicum*). V teoretickej časti sa pozornosť kladie na popis výživy detí a jej špecifické požiadavky. Ďalej obsahuje popis najčastejších alergií a intolerancií, ktoré sa vyskytujú u detí.

V experimentálnej časti je zahrnuté spektrum analýz, počas ktorých boli stanovené sacharidy, vláknina, beta-glukány, fruktány, lipidy, hrubá bielkovina a pigmenty vo vybraných potravinách. Pri analýze sacharidov boli využívané spektrofotometrické a chromatografické techniky. Podľa výsledkov získaných pomocou HPLC má najvyšší obsah stanovovanej arabinózy zelený jačmeň, u ktorého hodnota dosiahla $36,04 \pm 1,80$ mg/g. Hoci zelený jačmeň a mladá pšenica sú obidve vzorky tráv pochádzajúcich z obilnín, obsah jednotlivých cukrov v nich zastúpených je rozdielny. Mladá pšenica obsahuje zo všetkých vzoriek najviac sacharózy, a to $45,44 \pm 2,27$ mg/g. Vzhľadom na vysokú sladivosť sacharózy, môže byť táto vzorka z hľadiska chuti najsladšia, čo môže byť využité pri návrhu doplnku výživy pre deti. Zároveň arabinóza, obsiahnutá v zelenom jačmeni, v kombinácii so sacharózou napomáha k redukcii krvného cukru. Kombinácia zeleného jačmeňa a mladej pšenice teda do istej miery môže napomáhať prevencii vzniku ochorení ako diabetes mellitus.

Následne bola stanovená nerozpustná vláknina, beta-glukány a fruktány. Pri týchto troch analýzách boli najlepšie hodnotené zelený jačmeň, mladá pšenica a čaj matcha. Najvyšší podiel nerozpustnej vlákniny obsahoval čaj matcha ($249,1 \pm 12,5$ mg/g). Pri stanovení fruktánov mal najvyššie zastúpenie zelený jačmeň, a to $152,57 \pm 7,63$ mg/g. Najviac beta-glukánov, $19,21 \pm 0,96$ mg/g, obsahovala mladá pšenica, za ktorou hneď nasledoval zelený jačmeň ($18,76 \pm 0,94$ mg/g). Všetky tieto zložky potravy sú dôležité pre trávenie a pozitívne podporujú črevný mikrobióm.

Ako ďalší makronutrient boli v experimentálnej časti stanovované lipidy. Konkrétne to bol obsah celkových lipidov a profil jednotlivých mastných kyselín. Lipidy boli zo vzoriek extrahované pomocou prístroja Soxtherm. Následne prebehla gravimetrická analýza. Najvyšší podiel lipidov bol zistený vo vzorke sezamových semienok, a to 33,7%. Ľanové semienka obsahovali 28,1%. Okrem olejnatých semien bol najvyšší obsah lipidov zistený pri moringe 13,5%. Profil mastných kyselín bol stanovený pomocou plynovej chromatografie. Použité boli ako pevné vzorky, tak extrahované lipidy. Z hľadiska nasýtenosti obsahuje najviac nasýtených mastných kyselín moringa. V pevných vzorkách je to 46,77% a vo vzorkách extrahovaných lipidov 58,86%. Mononenasýtené mastné kyseliny sú vo vybraných potravinách zastúpené najviac v sezamových semienkach. Pevné vzorky ich obsahujú 36,15% a extrahované lipidy 37,50%. Pre výživu najpodstatnejšie sa javia polynenasýtené mastné kyseliny. Tieto sú bohato zastúpené vo všetkých vzorkách, najviac v jačmeni, pšenici, čaji matcha a ľanových semienkach. Obsah PUFA v týchto vzorkách sa pohyboval okolo 70%. Vybrané potraviny môžu slúžiť ako zdroj esenciálnych mastných kyselín. Kyselina linolová a kyselina alfa-linolénová, ktoré patria do tejto kategórie sú zastúpené takmer vo

všetkých vzorkách. Najviac kyseliny linolovej obsahujú sezamové semienka, a to 46,37 % resp. 46,04 %. Kyselina alfa-linolénová je bohato zastúpená v mladej pšenici a ľanových semienkach. Proteíny boli v potravinách stanovené podľa Kjeldahla. Najviac je ich obsiahnutých v zelenom jačmeni 10,69 %. Napokon boli v potravinách analyzované pigmenty, a to karotenoidy a chlorofyly. Najviac karotenoidov obsahoval extrakt podľa Folcha vzorky moringa ($3,49 \pm 0,17$ mg/g). Najviac chlorofylov sa nachádzalo v etanolovom extrakte spiruliny, a to $2,28 \pm 0,11$ mg/g. Z extraktov lipidov boli pripravené lipozómy, ktoré boli následne enkapsulované do alginátových častíc.

Na základe výsledkov analýz možno konštatovať, že každá z vybraných potravín je v niektorom parametri výnimočná. Pri návrhu doplnku stravy pre detskú výživu treba zohľadniť konkrétny vek detského konzumenta, prípadné potravinové obmedzenia či nutrienty, ktorý je potrebné suplementovať. Jedným z populárnych druhov suplementov výživy pre deti sú probiotiká. Trávenie detí je náchylné na rôzne ťažkosti. Navrhovaný detský doplnok stravy by teda mal zahŕňať aj tento fakt. Zelený jačmeň, mladá pšenica a čaj matcha so svojim zastúpením β -glukánov, fruktánov a vlákniny sa javia ako ideálne pre použitie. Symbiotický efekt s probiotikami a črevným mikrobiómom, podporený bohatým a kvalitným profilom mastných kyselín vrátane esenciálnych je dobrým základom pre zostavenie doplnku stravy. Zároveň pri obsahu sacharózy v mladej pšenici by doplnok nemusel byť dosladzovaný, čo je ďalšou výhodou pri detskej strave.

Enkapsulované častice obsahujúce lipozómy s extraktom z týchto potravín by mohli obsahovať zároveň aj probiotiká. Tieto častice môžu byť následne využité v širokej škále produktov ako napríklad prísada do detských kaší, presneďavok, jogurtov a jogurtových nápojov. Pre deti v predškolskom a mladšom školskom veku by častice mohli byť pridané do pečiva, cestovín či rôznych sušienok. Takto fortifikované potraviny predstavujú zaujímavú formu doplnenia potrebných živín v atraktívnej forme.

7 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] SEDLÁŘOVÁ, Petra, a kol. 2008. *Základní ošetrovatelská péče v pediatrii*. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-1613-8.
- [2] KOŠŤALOVÁ, Ludmila a László KOVÁCS, a kol.: *Úvod do pediatrie: Skriptá pre nelekárske smery*. Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave. Bratislava 2005
- [3] VINCENTOVÁ, Dana, 2006. *Výživa novorozence, kojence a batolete*. *Pediatric pro praxi*. 7(4), 224-226. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/ped/2006/04/12.pdf>
- [4] NEVORAL, Jiří, 2013. *Praktická pediatrická gastroenterologie, hepatologie a výživa*. Praha: Mladá fronta. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-802-0428-639.
- [5] PÍŤHA, Jan a Rudolf POLEDNE, 2009. *Zdravá výživa pro každý den*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2488-1.
- [6] BLATTNÁ, Jarmila, 2005. *Výživa na začátku 21. století, aneb, O výživě aktuálně a se zárukou*. Praha: Společnost pro výživu. ISBN 80-239-6202-7.
- [7] KUDLOVÁ, Eva, 2017. *Význam různých druhů sacharidů v dětské výživě*. *Pediatric pro praxi*. 18(3), 167-170. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/ped/2017/03/06.pdf>
- [8] FRŮHAUF, Pavel, 2007. *Vláknina v dětské výživě*. *Pediatric pro praxi*. 8(1), 12-16. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2007/01/02.pdf>
- [9] JAYACHANDRAN, Muthukumar, Jiali CHEN, Stephen Sum Man CHUNG a Baojun XU, 2018. *A critical review on the impacts of β -glucans on gut microbiota and human health*. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 61, 101-110. ISSN 09552863. DOI:10.1016/j.jnutbio.2018.06.010
- [10] COSTA, G., Q. VASCONCELOS, G. ABREU, A. ALBUQUERQUE, J. VILAREJO a G. ARAGÃO, 2020. *Changes in nutrient absorption in children and adolescents caused by fructans, especially fructooligosaccharides and inulin*. *Archives de Pédiatrie*. 27(3), 166-169. ISSN 0929693X. DOI:10.1016/j.arcped.2020.01.004
- [11] DOSTÁLOVÁ, Jana, 2011. *Tuky v potravinách a jejich nutriční hodnocení*. *Interní medicína pro praxi*. 13(9), 347-349. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2011/09/08.pdf>
- [12] TE MORENGA, Lisa, Jason M. MONTEZ a C. Mary SCHOOLING, 2017. *Health effects of saturated and trans-fatty acid intake in children and adolescents: Systematic review and meta-analysis*. *PLOS ONE*. 12(11). ISSN 1932-6203. DOI:10.1371/journal.pone.0186672
- [13] PATEL, Alok Kumar a Leonidas MATSAKAS, ed., 2020. *Nutraceutical Fatty Acids from Oleaginous Microalgae*. Wiley ISBN 9781119631712. DOI:10.1002/9781119631729
- [14] RŮŽKOVÁ, Barbora, 2012. *Barviva a jejich vliv na lidský organizmus*. *Klinická farmakologie a farmacie*. 26(3), 148-152. ISSN 1803-5353. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2012/03/11.pdf>
- [15] KASPER, Heinrich, 2015. *Výživa v medicíně a dietetika*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4533-6.
- [16] BAJEROVÁ, Kateřina, 2018. *Lactose intolerance - the practical approach*. *Pediatric pro praxi* 19(3), 139-141 ISSN 12130494. DOI:10.36290/ped.2018.029

- [17] YERUSHALMY-FELER, Anat, Hagai SOBACK, Ronit LUBETZKY, Amir BENTOV, Margalit DALI-LEVY, Tut GALAI a Shlomi COHEN, 2018. *One-third of children with lactose intolerance managed to achieve a regular diet at the three-year follow-up point*. Acta Paediatrica [online]. 107(8), 1389-1394 [cit. 2020-12-01]. ISSN 08035253. DOI:10.1111/apa.14305
- [18] SVAČINA, Štěpán, 2008. *Klinická dietologie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2256-6.
- [19] MUNTAU, Ania. *Pediatric*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2525-3.
- [20] VIŠŇOVSKÁ, Milota, 2017. *Podme vyzdravieť spolu!* [online]. 1. Praha [cit. 2020-12-02]. ISBN 978-80-7589-258-4.
- [21] KEMP, Andrew S., 2007. *Egg allergy*. Pediatric Allergy and Immunology [online]. 18(8), 696-702 [cit. 2020-12-02]. ISSN 0905-6157. DOI:10.1111/j.1399-3038.2007.00679.x
- [22] ABAFFYOVÁ, Zuzana, 2012. *Aká je prognóza dieťaťa s alergiou na vaječnú bielkovinu? Aký je postup s očkovaním detí s alergiou na vaječnú bielkovinu?* Pediatria pre prax. 13(3), 142. ISSN 1339-4231.
- [23] SHAH, Faisal, Aimin SHI, Jon ASHLEY, Christina KRONFEL, Qiang WANG, Soheila J. MALEKI, Benu ADHIKARI a Jinchuang ZHANG, 2019. *Peanut Allergy: Characteristics and Approaches for Mitigation*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety [online]. 18(5), 1361-1387 [cit. 2020-12-02]. ISSN 1541-4337. DOI:10.1111/1541-4337.12472
- [24] FRITH, Katie a Constance H. KATELARIS, 2019. Current perspectives on peanut allergy. Internal Medicine Journal [online]. 49(12), 1480-1487 [cit. 2020-12-02]. ISSN 1444-0903. DOI:10.1111/imj.14658
- [25] ZAND, Janet, Robert ROUNTREE, Rachel WALTON a Jay M. GORDON, 2003. *Smart Medicine for a Healthier Child*. 2. Penguin Publishing Group. ISBN 978-1583331392.
- [26] MÍKOVÁ, Kamila CSc., Doc. Ing.. *Vyhlaska o potravinách určených pro zvláštní výživu*. Potraviny info [online]. [cit. 2020-12-03]. Dostupné z: <https://www.potravinyinfo.cz/33/vyhlaska-o-potravinach-urcenyh-pro-zvlastni-vyzivu-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3LvftB3cLufwm0/>
- [27] SIELICKA-RÓŽYŇSKA, Maria a Daniela GWIAZDOWSKA. *Antioxidant and antibacterial properties of lemon, sweet, and cereal grasses*. Journal of Food Processing and Preservation [online]. [cit. 2020-12-03]. ISSN 0145-8892. DOI:10.1111/jfpp.14984
- [28] PARIT, Santosh B., Vishal V. DAWKAR, Rahul S. TANPURE, Sandeep R. PAI a Ashok D. CHOUGALE, 2018. *Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Wheatgrass (Triticum aestivum) Unwrap by Proteome Profiling and DPPH and FRAP assays*. Journal of Food Science [online]. 83(8), 2127-2139 [cit. 2020-12-03]. ISSN 00221147. DOI:10.1111/1750-3841.14224
- [29] In: *Blendea* [online]. [cit. 2020-12-03]. Dostupné z: <https://www.blendea.cz/profil-mlada-zelena-psenice/>
- [30] QAMAR, Aiza, Farhan SAEED, Muhammad Tahir NADEEM, Abdullah Ijaz HUSSAIN, Muhammad Asif KHAN a Bushra NIAZ, 2019. *Probing the storage stability and sensorial characteristics of wheat and barley grasses juice* [online]. 7(2), 554-562 [cit. 2020-12-04]. ISSN 2048-7177. DOI:10.1002/fsn3.841

- [31] In: *Encyclopaedia beliana* [online]. [cit. 2020-12-04]. Dostupné z: <https://beliana.sav.sk/heslo/jacmen>
- [32] DIPRAT, Addressa Bacalau, Roberta Cruz SILVEIRA THYS, Eliseu RODRIGUES a Rosane RECH, 2020. *Chlorella sorokiniana: A new alternative source of carotenoids and proteins for gluten-free bread*. LWT [online]. 134 [cit. 2020-12-04]. ISSN 00236438. DOI:10.1016/j.lwt.2020.109974
- [33] MERCHANT, Randall Edward, Todd W. PHILLIPS a Jay UDANI, 2015. *Nutritional Supplementation with Chlorella pyrenoidosa Lowers Serum Methylmalonic Acid in Vegans and Vegetarians with a Suspected Vitamin B 12 Deficiency*. Journal of Medicinal Food [online]. 18(12), 1357-1362 [cit. 2020-12-04]. ISSN 1096-620X. DOI:10.1089/jmf.2015.0056
- [34] In: *Algae research and supply* [online]. [cit. 2020-12-04]. Dostupné z: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>
- [35] KARKOS, P. D., S. C. LEONG, C. D. KARKOS, N. SIVAJI a D. A. ASSIMAKOPOULOS, 2011. *Spirulina in Clinical Practice: Evidence-Based Human Applications*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine [online]. 2011, 1-4 [cit. 2020-12-04]. ISSN 1741-427X. DOI:10.1093/ecam/nen058
- [36] In: *My Nature Product* [online]. [cit. 2020-12-04]. Dostupné z: <http://mynatureproduct.com/spirullina/>
- [37] DIETZ, Christina, Matthijs DEKKER a Betina PIQUERAS-FISZMAN, 2017. *An intervention study on the effect of matcha tea, in drink and snack bar formats, on mood and cognitive performance*. Food Research International [online]. 99, 72-83 [cit. 2020-12-04]. ISSN 09639969. DOI:10.1016/j.foodres.2017.05.002
- [38] CHACKO, Sabu M, Priya T THAMBI, Ramadasan KUTTAN a Ikuo NISHIGAKI, 2010. *Beneficial effects of green tea: A literature review*. Chinese Medicine [online]. 5(1) [cit. 2020-12-04]. ISSN 1749-8546. DOI:10.1186/1749-8546-5-13
- [39] In: *TeaMag* [online]. [cit. 2020-12-04]. Dostupné z: <https://www.icajove-more.cz/jak-evropa-poznavala-cajovnik-cinsky/>
- [40] OYENIRAN, Olubukola H., Adedayo O. ADEMILUYI a Ganiyu OBOH. *Comparative study of the phenolic profile, antioxidant properties, and inhibitory effects of Moringa (Moringa oleifera Lam.) and Almond (Terminalia catappa Linn.) leaves on acetylcholinesterase and monoamine oxidase activities in the head region of Fruitfly (Drosophila melanogaster Meigen) in vitro*. Journal of Food Biochemistry [online]. [cit. 2020-12-05]. ISSN 0145-8884. DOI:10.1111/jfbc.13401
- [41] MEIRELES, Diana, João GOMES, Lara LOPES, Mariana HINZMANN a Jorge MACHADO, 2020. *A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of Moringa oleifera: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine*. Advances in Traditional Medicine [online]. 20(4), 495-515 [cit. 2020-12-05]. ISSN 2662-4052. DOI:10.1007/s13596-020-00468-0
- [42] In: *Asia medicinal plants* [online]. [cit. 2020-12-05]. Dostupné z: <https://www.asia-medicinalplants.info/moringa-oleifera-lam/>
- [43] ZHOU, Lin, Xiaohui LIN, Arshad Mehmood ABBASI a Bisheng ZHENG, 2016. *Phytochemical Contents and Antioxidant and Antiproliferative Activities of Selected*

- Black and White Sesame Seeds*. BioMed Research International [online]. 2016, 1-9 [cit. 2020-12-05]. ISSN 2314-6133. DOI:10.1155/2016/8495630
- [44] DRAVIE, Emmanuel Elikem, Nii Korley KORTEI, Edward Ken ESSUMAN, Clement Okraku TETTEY, Adjoa Agyemang BOAKYE a Gaston HUNKPE, 2020. *Antioxidant, phytochemical and physicochemical properties of sesame seed (Sesamum indicum L)*. Scientific African [online]. 8 [cit. 2020-12-05]. ISSN 24682276. DOI:10.1016/j.sciaf.2020.e00349
- [45] In: *Salvia Paradise* [online]. [cit. 2020-12-05]. Dostupné z: https://www.salviaparadise.cz/herbar-rostlin-sezam-indicky-sasamum-indicum-c-736_1074.html
- [46] BUKOVSKÝ, Igor. Lanové semeno. *AKV encyklopédia výživy a prírodnej liečby* [online]. [cit. 2020-12-05]. Dostupné z: <https://encyklopedia.akv.sk/podpora-liecbu/lanove-semeno/>
- [47] Lan siaty. In: *Zdravopédia* [online]. [cit. 2020-12-05]. Dostupné z: <https://zdravopedia.sk/prirodna-lekaren/bylinky/lan-siaty>
- [48] WORSFOLD, P.J., 2005. SPECTROPHOTOMETRY | *Overview. Encyclopedia of Analytical Science* [online]. Elsevier, 2005, 318-321 [cit. 2020-12-07]. ISBN 9780123693976. DOI:10.1016/B0-12-369397-7/00714-7
- [49] KLOUDA, Pavel, 2003. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda. ISBN 80-863-6907-2.
- [50] HARVEY, David, 2000. *Modern analytical chemistry*. Boston: McGraw-Hill. ISBN 00-723-7547-7.
- [51] PĚKNICOVÁ, Markéta a Dagmar KRUCINOVÁ, 1999. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. Český Těšín: 2 THETA. ISBN 80-902-4329-0.
- [52] SUN, Da-Wen, 2018. *Modern Techniques for Food Authentication (2nd Edition)* [online]. Elsevier [cit. 2020-12-07]. ISBN 978-0-1281-4265-3. Dostupné z: https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpMTFAE002/viewerType:toc/root_slug:viewerType%3AtoC/url_slug:root_slug%3Amodern-techniques-food?kpromoter=federation
- [53] MOLDOVEANU, Serban C. a Victor DAVID, c2013. *Essentials in modern HPLC separations*. Waltham, MA: Elsevier. ISBN 978-0-12-385013-3.
- [54] Fructan Assay Kit. In: *Megazyme* [online]. [cit. 2021-7-19]. Dostupné z: <https://www.megazyme.com/fructan-assay-kit>
- [55] B-Glucan Assay Kit (Mixed Linkage). In: *Megazyme* [online]. [cit. 2021-7-23]. Dostupné z: <https://www.megazyme.com/beta-glucan-assay-kit>
- [56] OBADI, Mohammed, Yajing QI a Bin XU, 2021. *Highland barley starch (Qingke): Structures, properties, modifications, and applications*. International Journal of Biological Macromolecules. 185, 725-738. ISSN 01418130. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.06.204
- [57] MONJED, Mohammad Khalil, Brahim ACHOUR, Geoffrey D. ROBSON a Jon K. PITTMAN, 2021. *Improved saccharification of Chlorella vulgaris biomass by fungal secreted enzymes for bioethanol production*. Algal Research. 58. ISSN 22119264. DOI:10.1016/j.algal.2021.102402
- [58] POL, Korrie, Kees DE GRAAF, Marlies DIEPEVEEN-DE BRUIN, Michiel BALVERS a Monica MARS, 2020. *The effect of replacing sucrose with L-arabinose in drinks and cereal foods on blood glucose and plasma insulin responses in healthy*

- adults. Journal of Functional Foods. 73. ISSN 17564646. DOI:10.1016/j.jff.2020.104114
- [59] KOLÁČKOVÁ, Tereza, Kateřina KOLOFIKOVÁ, Irena SYTAŘOVÁ, Lukáš SNOPEK, Daniela SUMCZYNSKI a Jana ORSAVOVÁ, 2020. *Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity*. Plant Foods for Human Nutrition. 75(1), 48-53. ISSN 0921-9668. DOI:10.1007/s11130-019-00777-z
- [60] GROFOVÁ, Zuzana, 2009. *Vláknina*. Medicína pro praxi. 6(4), 206-208. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/med/2009/04/09.pdf>
- [61] JIN, Yunkai, Mingliang FEI, Sara ROSENQUIST, et al., 2017. *A Dual-Promoter Gene Orchestrates the Sucrose-Coordinated Synthesis of Starch and Fructan in Barley*. Molecular Plant. 10(12), 1556-1570. ISSN 16742052. DOI:10.1016/j.molp.2017.10.013
- [62] VERMA, Deepak Kumar, Ami R. PATEL, Mamta THAKUR, et al., 2021. *A review of the composition and toxicology of fructans, and their applications in foods and health*. Journal of Food Composition and Analysis. 99. ISSN 08891575. DOI:10.1016/j.jfca.2021.103884
- [63] KINNER, M., S. NITSCHKO, J. SOMMEREGER, A. PETRASCH, G. LINSBERGER-MARTIN, H. GRAUSGRUBER, E. BERGHOFER a S. SIEBENHANDL-EHN, 2011. *Naked barley—Optimized recipe for pure barley bread with sufficient beta-glucan according to the EFSA health claims*. Journal of Cereal Science. 53(2), 225-230. ISSN 07335210. DOI:10.1016/j.jcs.2011.01.001
- [64] GHARSALLAH, Karima, Leila REZIG, Kamel MSAADA, Abdellah CHALH a Taoufik SOLTANI, 2021. *Chemical composition and profile characterization of Moringa oleifera seed oil*. South African Journal of Botany. 137, 475-482. ISSN 02546299. DOI:10.1016/j.sajb.2020.11.014
- [65] KAPOOR, Rakesh a Yung-Sheng HUANG, 2006. *Gamma Linolenic Acid: An Antiinflammatory Omega-6 Fatty Acid*. Current Pharmaceutical Biotechnology. 7(6), 531-534. ISSN 13892010. DOI:10.2174/138920106779116874
- [66] ZHANG, Wanting, Feixiang ZHOU, Huijun HUANG, Yingying MAO a Ding YE, 2020. *Biomarker of dietary linoleic acid and risk for stroke: A systematic review and meta-analysis*. Nutrition. 79-80. ISSN 08999007. DOI:10.1016/j.nut.2020.110953
- [67] GROFOVÁ, Zuzana, 2010. *Mastné kyseliny*. Medicína pro praxi. 7(10), 388-390. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/08/10.pdf>
- [68] MUYS, Maarten, Yixing SUI, Barbara SCHWAIGER, Céline LESUEUR, Dieter VANDENHEUVEL, Pieter VERMEIR a Siegfried E. VLAEMINCK, 2019. *High variability in nutritional value and safety of commercially available Chlorella and Spirulina biomass indicates the need for smart production strategies*. Bioresource Technology. 275, 247-257. ISSN 09608524. DOI:10.1016/j.biortech.2018.12.059
- [69] SANTOS ASSUNÇÃO, Larissa, Priscilla QUÊNIA MUNIZ BEZERRA, Vanessa STAHL HERMES POLETTO, et al., 2021. *Combination of carotenoids from Spirulina and PLA/PLGA or PHB: New options to obtain bioactive nanoparticles*. Food Chemistry. 346. ISSN 03088146. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128742

8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

BKM – bielkovina kravského mlieka

CNS – centrálna nervová sústava

FA – masné kyseliny

FID – plameňovo ionizačný detektor

FOS – fruktooligosacharidy

GRAS – všeobecne považované za bezpečné (z angl. generally recognized as safe)

HPLC – vysokoúčinná kvapalinová chromatografia

IgE – imunoglobulín E

LC – kvapalinová chromatografia

MS – hmotnostná spektrofotometria

MUFA – mononenasýtené masné kyseliny

PUFA – polynenasýtené masné kyseliny

RI – refraktometrický (detektor)

SFA – nasýtené masné kyseliny

UV-VIS – ultrafialová – viditeľná spektrofotometria

9 PRÍLOHY

Príloha 1: Zoznam stanovených mastných kyselín a ich označení

Označenie	Názov mastnej kyseliny
C14:0	Kyselina myristová
C16:0	Kyselina palmitová
C18:0	Kyselina stearová
C20:0	Kyselina arachová
C24:0	Kyselina lignocerová
C14:1	Kyselina myristoolejová
C16:1	Kyselina palmitoolejová
C18:1c	Kyselina olejová
C18:2c	Kyselina linolová
C18:3d6	Kyselina gama-linolénová
C18:3d3	Kyselina alfa-linolénová
C22:6	Kyselina dokosahexaénová