

Biologicky aktivní látky müsli směsí s lišejníkem islandským

Bc. Lenka Kavanová

Diplomová práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka Kavanová**
Osobní číslo: **T19417**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Biologicky aktivní látky müsli směsí s lišejníkem islandským**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

- 1. Popsat technologii výroby müsli směsí a charakterizovat jejich surovinovou skladbu.**
- 2. Stručně zmapovat nutriční složení lišejniku islandského a jeho využití v oblasti potravinářství.**

II. Experimentální část

- 1. Připravit müsli směsí s lišejníkem islandských.**
- 2. U těchto směsí stanovit biologicky aktivní látky a antioxidační aktivitu.**

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] PATRICHE, S., GHINEA, I.O., ADAM, G., GURAU, G., FURDUI, B., DINICA, R.M., REBEGEA, L., LUPOAE, M. 2019. Characterization of Bioactive Compounds from Romanian *Cetraria islandica* (L) Ach. Revista de Chimie. 2019 July 15;70(6):2186-2191. <https://doi.org/10.37358/RC.19.6.7302>
- [2] ŚMIECHOWSKA, M., KLIMAS, D. 2014. The comparison of composition and the assessment of correct labelling of organic and conventional muesli cereals. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. 2014 59(4):98-102. GRUJIČIĆ, D., STOŠIĆ, I., KOSANIĆ, M., STANOJKOVIĆ, T., RANKOVIĆ, B., MILOŠEVIĆ-DJORDJEVIĆ, O. Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*. Cytotechnology. 2014 Mar 4;66(5):803-813. doi:10.1007/s10616-013-9629-4

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá přípravou müsli směsí s lišejníkem islandským podle předem zadaných receptur a stanovením biologicky aktivních látek a antioxidační aktivity u výsledných směsí. U vzorků müsli směsí byly měřeny celkové polyfenoly, antioxidační aktivita, byl analyzován profil polyfenolických kyselin, flavonoidů a také antokyanových barviv pomocí HPLC. Nejvyšší obsah polyfenolů a nejvyšší hodnotu antioxidační aktivity měly směsi č. 2 a 3. Nejvíce zastoupenými polyfenolickými látkami byly kyselina protokatechinová, vanilová, kávová, syringová a *trans*-2-hydroxyskořicová, z antokyanových barviv byly nejvyšší koncentrace naměřeny u pelargonidin-3-O-glukosidu, kyanidin-3-O-glukosidu a kyanidin-3-O-rutinosidu.

Klíčová slova: müsli směsi, lišejník islandský, jedlé květy, bioaktivní látky, HPLC, polyfenoly, antokyany

ABSTRACT

The aim of this thesis is a preparation of the muesli mixtures with Icelandic moss, using given recipes and determination of bioactive substances and antioxidant activity for final mixtures. Polyphenols and antioxidant activity of muesli mixtures were measured, profile of polyphenolic acids, flavonoids and anthocyanins were analyzed with the use of HPLC. Highest content of polyphenols and highest value of antioxidant activity had mixtures no. 2 and 3. The most represented polyphenolic substances were protocatechinic, vanilla, caffeic, syringic and *trans*-2-hydroxycinnamic acids, of anthocyanins the highest concentrations were measured for pelargonidine-3-O-glucoside, cyanidine-3-O-glucoside and cyanidine-3-O-rutinoside.

Keywords: muesli mixtures, Icelandic moss, edible flowers, bioactive compounds, HPLC, polyphenols, anthocyanins

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za trpělivost a cenné rady a připomínky. Chtěla bych také poděkovat Ing. Lence Fojtíkové za ochotu a pomoc při praktické části.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 MÜSLI SMĚSI	11
1.1 OBILOVINY	11
1.1.1 Obiloviny obsahující lepek	11
1.1.2 Bezlepkové obiloviny a pseudoobiloviny	13
1.1.3 Nejčastější formy přídavku cereálií do směsí	15
1.2 OVOCE	17
1.3 OŘÍŠKOVÝ A SEMÍNKOVÝ PODÍL	18
1.3.1 Ořechy	18
1.3.2 Olejnatá semena	19
1.4 DALŠÍ INGREDIENCE A LÁTKY PŘIDÁVANÉ DO MÜSLI SMĚSÍ	19
1.5 JEDLÉ KVĚTY	19
2 LIŠEJNÍK ISLANDSKÝ (<i>CETRARIA ISLANDICA</i>)	22
2.1 SLOŽENÍ LIŠEJNÍKU ISLANDSKÉHO	22
2.2 VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ	23
3 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY	24
3.1 POLYFENOLICKÉ LÁTKY	24
3.1.1 Polyfenolické kyseliny	25
3.1.2 Flavonoidy.....	25
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
4 CÍL PRÁCE	27
5 METODIKA PRÁCE	28
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	28
5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	28
5.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ	29
5.4 EXTRAKCE POLYFENOLŮ	31
5.5 STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU	32
5.6 STANOVENÍ VOLNÝCH POLYFENOLICKÝCH KYSELIN POMOCÍ HPLC	32
5.7 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S ABTS	33
5.7.1 Příprava radikálu ABTS	33
5.7.2 Příprava reakční směsi	33
5.7.3 Měření antioxidační aktivity vzorků metodou s ABTS	33
5.7.4 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS.....	34
5.8 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH	34

5.8.1	Příprava zásobního a pracovního roztoku DPPH.....	34
5.8.2	Měření antioxidační aktivity	34
5.8.3	Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH.....	35
5.9	EXTRAKCE ANTOKYANOVÝCH BARVIV.....	35
5.10	STANOVENÍ ANTOKYANOVÝCH BARVIV POMOCÍ HPLC	35
5.11	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT.....	36
6	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	37
6.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU	37
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ POLYFENOLICKÉHO PROFILU POMOCÍ HPLC	39
6.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S ABTS	43
6.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU S DPPH.....	44
6.5	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTOKYANOVÝCH BARVIV POMOCÍ HPLC	46
	ZÁVĚR	50
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	51
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	57
	SEZNAM OBRÁZKŮ	58
	SEZNAM TABULEK.....	59
	SEZNAM PŘÍLOH.....	60

ÚVOD

S rozvojem civilizačních chorob, jako jsou např. *diabetes mellitus* nebo kardiovaskulární onemocnění, se lidé čím dál více zajímají o zdravý životní styl. S tím souvisí zvýšený zájem o pestřejší a nutričně vyváženou stravu jako prevenci před těmito nemocemi. Spotřebitelé také chtějí nutrienty v co nejpřirozenějším stavu a tento tlak nutí potravinářský průmysl objevovat a používat stále nové suroviny.

Příkladem těchto surovin mohou být jedlé květy nebo lišejník. Obsahem svých nutričních a bioaktivních látek představují potenciální alternativu v modifikaci surovinové skladby. Hlavně jedlé květy svou barvou a vůní dodají na atraktivnosti produktu. Vzhledem k používání květů, ať už v léčitelství nebo gastronomii, se jedná o návrat k tradicím, což je v dnešní době také velkým trendem. Další surovinou, která by mohla potraviny obohatit je lišejník islandský (*Cetraria islandica*). Přidáním do potravin by mohl zvyšovat jejich nutriční hodnotu v obsahu biologicky aktivních látek. Je známý svými antibiotickými a antioxidačními účinky.

Ideálním spojením těchto netradičních surovin s klasickými komponentami müsli směsí by mohly vzniknout jejich atraktivní varianty. Suroviny v těchto směsích většinou nemusí projít úpravou při vysokých teplotách a nedochází tak k degradaci jejich nutričních složek. Navíc tyto suroviny zde bývají v sušené formě, což znamená, že dané nutriční parametry jsou koncentrovanější, než ve formě čerstvé.

Cílem práce je připravit müsli směsi podle již zadaných receptur a stanovit u nich vybrané koncentrace biologicky aktivních látek a jejich antioxidační aktivitu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MÜSLI SMĚSI

Müsli směsí se podle Vyhlášky č. 18/2020 Sb. rozumí směs mlýnských obilných výrobků, upravených vločkováním, extrudováním nebo jinou vhodnou technologií, k nimž jsou přidány další složky, zejména jádra skořápkových plodů, sušené nebo jinak zpracované ovoce a látky upravující chuť, vůni nebo konzistenci.

Müsli vyvinul kolem roku 1900 švýcarský lékař Maximilián Bircher-Benner pro pacienty ve své nemocnici, kde byla nezbytnou součástí terapie strava bohatá na čerstvé ovoce a zeleninu. Müsli ve své moderní podobě se stalo populární v západních zemích od 60. let jako součást zvýšeného zájmu o zdravou a vegetariánskou stravu. Müsli je snídaňový a svačinový pokrm na bázi ovesných vloček a jiných zrn, čerstvého nebo sušeného ovoce, semen a ořechů a obsahuje všechny základní živiny: sacharidy, bílkoviny, lipidy, minerální látky, vitamíny a vlákninu. Müsli lze mísit s kravským či kozím, sójovým, mandlovým nebo jiným rostlinným mlékem, jogurty, ovocným džusem apod. (Adeoye et al., 2019).

1.1 Obiloviny

Obiloviny patří k základům lidské stravy. Mezi ně patří pšenice, ječmen, oves, žito, kukuřice, rýže, čirok atd. Z hlediska výživy jsou obiloviny vybaveny vysokými hladinami sacharidů, také dalšími živinami, jako jsou bílkoviny, minerální látky a vitamíny (Kumari et al., 2019).

Obiloviny se v müsli směsích používají v určitých formách a své fyzikální vlastnosti získávají v procesu výroby. Moderní technologie používané ve výrobním procesu umožňují kombinovat různé druhy obilovin. Nejčastěji se používají kukuřice, pšenice, oves, rýže a ječmen (Smiechowska a Klimas, 2014). Bezlepkové müsli směsi obsahují pseudocereálie, kukuřici, rýži, jáhly a bezlepkově zpracovaný oves. Pseudocereálie jsou přirozeně bezlepkovými surovinami. Patří mezi ně amarant, pohanka a quinoa.

1.1.1 Obiloviny obsahující lepek

1.1.1.1 Pšenice

Pšenice představuje jednu z nejdůležitějších plodin na světě. Největší část zpracovanou průmyslově tvoří pšenice setá (*Triticum aestivum*) a pšenice tvrdá (*Triticum durum*). Na rozdíl od ostatních obilných zrn má pšenice jedinečné glutenové proteiny schopné tvořit plně viskoelastické těsto potřebné pro výrobu těstovin a pekárenských výrobků. Pšenice

dodává lidské stravě esenciální aminokyseliny (izoleucin, leucin, metionin, treonin, tryptofan, valin a lyzin, méně pak fenylalanin), vitaminy skupiny B a vitamin E, minerální prvky (P, Mg, Ca a Fe) a složky vlákniny, zejména při konzumaci celozrnných produktů. Přes svou důležitou roli v lidské stravě představují pšeničné potraviny zdravotní problémy pro menšinu lidí, zejména kvůli celiakii (Arendt a Zannini, 2013). V müsli bývá využívána pšeničná mouka, krupice, pšeničný škrob a kukuřično-pšeničný extrudát, pšeničná zrna ve formě vloček apod.

1.1.1.2 Ječmen

Ječmen (*Hordeum* spp.) je obilné zrnko, které nabývá na významu s možnou spojitostí účinků jeho β -glukanů na snížení hladiny cholesterolu v krvi. Zrno obsahuje polysacharidy, hlavně škrob, minerální prvky (Ca, Mg, K a Fe), vitaminy, zejména vitamin E a vitaminy skupiny B a polyfenoly. Pro potravinářské účely se zrno ječmene nejprve obrousí, aby se vyrobily kroupy, ty se mohou dále zpracovávat na drť, vločky a mouku. Kroupy se používají jako náhražka rýže a pro výrobu sójové pasty a sójové omáčky. V západních zemích se kroupy, celé, ve formě vloček nebo mleté, používají jako součást snídaňových cereálií, polévek a kaší (Baik a Ullrich, 2008; Arendt a Zannini, 2013). V müsli směsích se používá převážně ve formě vloček.

1.1.1.3 Oves

Oves (*Avena sativa*) má vysoký obsah vlákniny, tvořený především rozpustnými β -glukany. Ovesná vláknina stimuluje střevní pohyblivost v gastrointestinálním traktu a váže cholesterol. Je dobrým zdrojem bílkovin, má vysokou nutriční hodnotu, protože obsahuje esenciální aminokyseliny, především metionin a lyzin. Obsahuje nenasycené mastné kyseliny, jako jsou kyseliny linolenová a olejová, a nasycenou kyselinu palmitovou. Oves je bohatý na vitamin E a vitaminy skupiny B, zejména tiamin, riboflavin, pyridoxin, kyselinu pantotenovou a foláty. Při skladování nezpracovaných obilíků při pokojové teplotě se bohužel výrazně snižuje množství vitaminu E. Obsah minerálních prvků v ovsu je mnohem vyšší než v pšenici a žitě, obsahuje hodně K, Fe, Zn, Cu a Mg. Oves má antioxidační vlastnosti díky přítomnosti polyfenolických sloučenin, zejména kyseliny kávové a hydroxyskořicové. Během výroby ovesných vloček jsou však značně degradovány rostlinné steroly (sitosterol, kampesterol a stigmasterol) (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020). V müsli směsích tvoří základ ve formě ovesných vloček (Janovapec - Jan Král, [2021]).

1.1.2 Bezlepkové obiloviny a pseudoobiloviny

Lepek, který je nežádoucí pro celiaky, se vyskytuje v cereálních výrobcích a pokrmech z pšeničné, žitné nebo ječné mouky a ova, který sám neobsahuje lepek, ale může být kontaminován během kultivace, sklizně a mlýnského zpracování (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020). Bezlepkové potraviny nesmí obsahovat více než 20 mg.kg⁻¹ lepku (Nařízení (EU) č. 1169/2011).

1.1.2.1 Kukuřice

Kukuřice (*Zea mays*) je jednou z předních světových obilovin spolu s rýží a pšenicí. Polysacharidy, bílkoviny a lipidy představují tři hlavní složky kukuřičného zrna. Obsahuje také vysoké hladiny fytoosterolů, u nichž bylo prokázáno, že snižují koncentraci cholesterolu v krvi. Mezi minerálními prvky dominuje K, P a Mg. Kukuřice je také bohatá na vitamíny skupiny B, zejména tiamin, niacin, pyridoxin, stejně jako β -karoten a vlákninu. Kukuřice je všestranná obilnina. Může se z ní mlýnským zpracováním získat mouka, krupice, dále pak škrob, lze ji také konzumovat ihned po uvaření (Ranum et al., 2014, Arendt a Zannini, 2013). Kukuřičná mouka získaná během mletí je žlutá a její struktura je zrnitá nebo jemná. Při srovnání nutriční hodnoty s jinými moukami lze konstatovat, že obsahuje nejvíce sacharidů, zatímco minerální látky, vláknina a vitamíny jsou přítomny v menším množství než v jiné mouce (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020). Nejpoužívanějším výrobkem z kukuřičného zrna jsou kukuřičné lupínky. Mohou být vyrobeny tradičním vařením v páře nebo kontinuálním vytlačováním. Základní surovina pro tradičně vařené kukuřičné lupínky pochází ze suchého mletí. Suché mletí odstraní klíčky a otruby z jádra a zůstanou v podstatě kousky endospermu (Perdon et al., 2020).

1.1.2.2 Rýže

Rýže (*Oryza sativa*) je základní potravinou pro téměř dvě třetiny světové populace. Má sice nejnižší obsah bílkovin ze všech obilovin, ale samotný rýžový protein je však vysoce výživný a má jeden z nejvyšších obsahů lyzinu. Rýže je cenným zdrojem sacharidů, především škrobu. Lipidy rýže zastávají nejnižší koncentrační hladiny. Nejvíce v nich zastoupenou mastnou kyselinou je kyselina linolová. Rýže je také dobrým zdrojem vitamínů, zejména ze skupiny B, mimo jiné tiaminu, riboflavinu a niacinu, stejně jako vitamínu E. Rýže je vynikající přílohou různých pokrmů, používá se také do pekařských výrobků, omáček, kojeneckých jídel, snídanových cereálií, na výrobu alkoholických nápojů a octa (Arendt a Zannini, 2013; Rachtan-Janicka a Hassa, 2020).

1.1.2.3 *Amarant*

Amarant (*Amaranthus*) je klasifikován jako pseudocereálie s relativně malým zrnem (Coimbra a Salema, 1994). Je bohatý na bílkoviny, lyzin, karotenoidy, vlákninu, Fe, vitaminy C a E, riboflavin, tiamin a kyselinu listovou atd. Amarant obsahuje také značné množství bioaktivních složek, jako jsou antokyany a další fenolické sloučeniny. Obsah lipidů v semenu amarantu je nízký, ale obsahuje esenciální mastné kyseliny (linolovou a α -linolenovou). Vzhledem k tomu, že neobsahuje lepek, je amarantové zrno cenným zdrojem sacharidů pro osoby trpící intolerancí na gluten. Semeno nebo list amarantu obsahuje některé antinutriční látky, jako jsou saponiny, třísloviny, kyselina fytová, oxaláty, inhibitory proteáz, dusičnany a fytohemaglutininy. Tepelné zpracování ve vlhkém prostředí před použitím potravin deaktivuje tyto antinutriční faktory. Amarantové zrno může být konzumováno jako takové, nebo může být zahrnuto do jiných cereálních produktů jako jsou chléb, koláče, palačinky, sušenky, knedlíky, palačinky, nudle a müsli (Bhatarai, 2018). Do müsli lze většinou použít válcované nebo extrudované zrno (Haros a Schoenlechner, 2017).

1.1.2.4 *Pohanka*

Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum*) patří také mezi pseudocereálie. Pohanková zrna představují ve stravě cenný zdroj bílkovin s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin, což je důležité pro zejména celiaky nebo konzumenty s nedostatkem bílkovin ve stravě. Škrob je hlavní složkou zrn pohanky, je nízkoenergetický, protože jeho frakce jsou odolné vůči aktivitě amylolytických enzymů v zažívacím traktu. Pohanka je také bohatá na K, Mg a Ca, obsahuje také vitaminy tiamin, riboflavin a pyridoxin. Obsah vitamínu E je zde vyšší v porovnání se zrn pšenice nebo ječmene (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020; Popova a Mihaylova, 2018). Pohanka obsahuje i flavonoidy, což jsou přírodní antioxidanty, které mají důležitou preventivní funkci při cévních onemocněních. Zlepšují pružnost cévních stěn a napomáhají snižovat hladinu cholesterolu v krvi. Hlavním flavonoidem v pohance je rutin (Kalinová a Dadáková, 2013). Na druhou stranu byla zaznamenána nízká stravitelnost bílkovin, pravděpodobně kvůli přítomnosti taninů, kyseliny fytové a inhibitorů proteáz. Zrno se obvykle používá jako krmivo pro zvířata nebo drůbež a jako potrava pro člověka, přičemž loupané krupice se vaří jako kaše a mouka se používá k přípravě sušenek, palačinek, nudlí a snídanových cereálií (Arendt a Zannini, 2013). Do müsli směsí se pohanka používá ve formě vloček nebo lupínků.

1.1.2.5 Jáhly

Proso (*Panicum*) patří mezi méně časté obiloviny. V lidské stravě se používají jeho loupané obilky – jáhly. Jejich nutriční hodnota je stejně vysoká jako u ostatních obilovin. Obsah sacharidů v tomto zrně je vysoký a dominuje mu škrob. Proso je velmi dobrým zdrojem bílkovin. Jejich množství je podobné jako v pšenici, ale proso má více esenciálních aminokyselin, včetně lyzinu. V jáhlech jsou také přítomny steroly, mastné kyseliny a triglyceridy. Proso je bohaté na minerální prvky, zejména Mg, K a Fe. Vitamíny obsažené v prosu jsou hlavně vitamíny skupiny B. Bledě žlutá odrůda prosa je bohatá na β -karoten (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020). Proso obsahuje relativně vyšší podíl nerozpustné vlákniny, která způsobuje pomalé uvolňování glukózy do krve, čímž jsou tyto potravinové výrobky vhodné pro osoby trpící diabetem (Kumari et al., 2019). Primární použití jáhel zahrnuje různé formy kaše, dušené výrobky, koláče, fermentované a nefermentované chleby a alkoholické a nealkoholické nápoje (Arendt a Zannini, 2013). Do müsli se používá ve formě extrudátu, vloček nebo lupínků.

1.1.2.6 Quinoa

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), neboli merlík chilský, je řazena mezi pseudocereálie. Roste v mnoha různých nadmořských výškách a za různých klimatických podmínek. Quinoa má širokou genetickou rozmanitost, která jí umožňuje přizpůsobit se různým náročným prostředím, jako jsou mrazy. Její semena jsou malá, kulatá a plochá. Jejich barva se může pohybovat od bílé po šedou a černou nebo může být žlutá a červená (Nowak et al., 2016). Quinoa je velmi dobrým zdrojem bílkovin, které se vyznačují velkým množstvím esenciálních aminokyselin, především lyzinu a metioninu. Na druhou stranu neobsahuje lepkové bílkoviny, je tedy vhodná pro celiaky. Obsahuje také velké množství sacharidů, především škrobu. Semena jsou ceněna také pro významný obsah vitaminů (C, E, niacin a tiamin) a minerálních prvků (P, K, Ca, Mg, S a Na). Využitelnost nutričních složek z quinoi se snižuje s obsahem hořkých saponinů (Rachtan-Janicka a Hassa, 2020).

1.1.3 Nejčastější formy přídavku cereálií do směsí

Obiloviny, které prošly předběžným procesem čištění, dekortikací a frakcionací nebo lisováním, mohou být podrobeny tepelnému zpracování, například v autoklávu tak, aby produkt získal požadovanou strukturu potřebnou k výrobě tzv. instantní obiloviny. Některé obiloviny se zpracovávají pouhým lisováním zrn, jiné procházejí předběžným pražením. Navíc mohou být obilná zrna podrobena procesu expanze, díky kterému se zvětší jejich

objem. Expandovaná zrna mohou být pokryta glazurou, která se skládá z glukózového sirupu, tuku, sušeného mléka, chuťových a vonných látek. Další technologií je vytlačování, které zahrnuje zpracování zrna tlakem a teplotou (Smiechowska a Klimas, 2014).

1.1.3.1 Vločkování

Vločky se vyrábí z předem připravených obilných krup, buď celých, nebo předem rozřezaných. Kroupy se navlhčí a následně prochází přes válcovací stolicí tvořenou dvěma protisměrně se otáčejícími válci. Dále se pak vločky suší, chladí a prosévají. Vločky se prodávají jako celé nebo drcené (Burešová a Lorencová, 2013).

1.1.3.2 Extruze

Extruze je proces, při kterém na zpracovávanou hmotu o nižší vlhkosti (10–40 %) působí vysoká teplota (100–190 °C) a tlak po krátkou dobu (30–120 s). Následně dochází k expanzi hmoty díky horké páře, která vzniká uvnitř hmoty a vyrovnání tlaku. Suché suroviny, obvykle směs mouky (kukuřičné, pšeničné, rýžové nebo ovesné) a dalších přísad (modifikované škroby, otruby, cukr, emulgátory, rostlinné oleje, NaCl atd.) se odváží a smíchá a následně se dopraví do extrudéru. V potravinářství se nejčastěji používá šnekový extrudér, a to buď jednošnekový nebo dvoušnekový. Během procesu na zpracovávanou hmotu působí teplota, mechanické, třecí, smykové, tlakové a stříhové síly. Extrudované výrobky mají křehkou a pórovitou strukturu a zvětšují svůj objem (Alam et al., 2016; Bouvier, 2001; Burešová a Lorencová, 2013).

1.1.3.3 Pufování

Proces pufování probíhá v pufovacím dělu. Předvařená obilná zrna (tvrdá pšenice, dlouhozrná bílá rýže nebo parboiled střednězrná rýže) se naplní do komory pufovacího děla. Komora se uzavře a proudí v ní horký vzduch 240–260 °C, zrna se zahřejí na tuto teplotu 300–400 °C na krátký čas (5 minut), voda uvnitř zrn se přemění na horkou páru a po otevření komory zrna expandují díky vyrovnání tlaku. Zrna se následně suší. Pufování může také probíhat v plovací peci. Pufované výrobky mají křehkou a pórovitou strukturu a větší objem oproti původnímu zrnu, zachovávají si ovšem původní tvar (Bouvier, 2001; Burešová a Lorencová, 2013).

1.2 Ovoce

Ovoce tvoří důležitou část lidské stravy. V ideálním případě se konzumuje syrové a minimálně zpracované kvůli jeho živinám. Ovoce je dobrým zdrojem cenných bioaktivních sloučenin, jako jsou karotenoidy, polyfenoly, vláknina, vitamíny a minerální látky. Většina běžného ovoce se produkuje sezónně, a proto nemusí být k dispozici čerstvé po celý rok. Zpracovává se tedy různými technikami, aby se prodloužila jeho trvanlivost. V müsli směsích se nejčastěji používá ovoce sušené nebo lyofilizované. Ovoce lze zpracovávat celé (např. hrozny, bobule, meruňky a švestky), nebo dělené, příp. kousky (např. jablko, mango, papája a kiwi) (Chang et al., 2016; Sagar et al., 2018).

1.2.1.1 Sušení

Sušené ovoce je podle Vyhlášky č. 157/2003 Sb. ovoce konzervované sušením bez použití přírodních sladidel. Je dobrým zdrojem energie, minerálních látek a vitamínů. Sušením dochází k odnímání vlhkosti buď tradičním sušením na slunci, nebo v sušárnách proudem plynu. Zabraňuje se tak i činnosti nežádoucích mikroorganismů a enzymů (oxidáz), které způsobují problémy při dlouhodobém skladování ovoce. V průběhu procesu dehydratace však dochází u sušených produktů ke změnám kvalitativních parametrů. Rozsah změn závisí na péči při přípravě materiálu před dehydratací (síření, paření, proslazení) a na použitém procesu dehydratace. Hlavní parametry kvality spojené se sušenými potravinářskými výrobky jsou barva a vizuální přitažlivost, tvar, chuť, mikrobiální zatížení, zadržování živin, objemové vlastnosti, textura, rehydratační vlastnosti a vodní aktivita (Bhatta et al., 2020; Dobiáš 2004; Sablani, 2007). Sušina sušeného ovoce musí činit nejméně 70 % (u sušených švestek nejméně 67 %) (Vyhláška 157/2003 Sb).

1.2.1.2 Kandování

Kandování (proslazování) je tradiční konzervační technikou. Kandované ovoce je definováno jako potravina konzervovaná zvýšením sušiny přidavkem přírodních sladidel (Vyhláška 157/2003 Sb). Principem je postupné proslazování povařeného ovoce roztokem se zvyšující se koncentrací cukru. Vzniklá hmota by po ochlazení měla obsahovat minimálně 70 % cukerné sušiny. Celý proces trvá 6–10 dní (Dobiáš 2004).

1.2.1.3 Lyofilizace

Lyofilizace, neboli sublimační sušení, je jednou z nejlepších metod odstraňování vody z konečných produktů z důvodu zachování nutriční hodnoty. Lyofilizované ovoce má

vynikající chuť a barvu, bohužel je hygroskopické. Navzdory dlouhé době sušení a nákladnému procesu je lyofilizace široce používána k výrobě vysoce hodnotných potravinářských výrobků kvůli maximálnímu zachování kvality potravin ve srovnání s jinými technikami sušení. Během procesu lyofilizace dochází k odstraňování vody v pevném stavu (ledu) ve třech krocích: zmrazení na teplotu -25 až -40 °C a nižší, dále pak primární sušení, kdy je led sublimován a opět desublimován na chlazených kondenzátorech (obvykle za tlaku nižšího než atmosférického) a sekundární sušení, kdy jsou odstraněny skoro všechny zbývající nezmrzlé molekuly vody vázané na povrchu koloidů sušeného ovoce. Lyofilizované produkty je třeba vzhledem k jejich hygroskopicitě skladovat v obalech bez přístupu vlhkosti (Bhatta et al., 2020; Shishegarha et al., 2007; Dobiáš 2004).

1.3 Oříškový a semínkový podíl

1.3.1 Ořechy

Jako skořápkové plody (ořechy) označujeme mandle, para ořechy, kešu ořechy, lískové, piniové a vlašské a kokosové ořechy a arašídý (Vyhláška č. 157/2003 Sb.). Botanicky jsou arašídý luštěninami, ale mají nutriční složení podobné složení jako ořechy. Ořechy obsahují důležité bioaktivní sloučeniny, jako jsou vitaminy E, minerální prvky (Mg, K, Ca, a P), fenolové sloučeniny, karotenoidy nebo fytoosteroly. Pistácie jsou obzvláště bohaté na β -karoteny, kromě toho to jsou jediné ořechy, které obsahují významné množství luteinu a zeaxantinu. Kokosový ořech obsahuje tiamin, pyridoxin, riboflavin, pantotenovou kyselinu a vitamin C. Koncentrace některých sloučenin se však snižuje technikami suchého pražení. Ukázalo se, že polyfenoly a tokoferoly z ořechů jsou rychle dostupné v žaludku, čímž maximalizují možnost absorpce v horní části tenkého střeva. Ořechy obsahují vysoké množství celkového tuku s vysokým množstvím nenasycených mastných kyselin (monoenoové a polyenoové), relativně nízké množství sacharidů a bílkovin (Hernández-Alonso et al., 2017; Alasalvar et al., 2020; DebMandal a Mandal, 2011). Do müsli směsí se ořechy používají bez skořápek a v různých formách. Mandle mohou být, buď celé, nebo plátky, kokos se používá ve formě kousků sušené dužiny a ostatní ořechy bývají většinou celé nebo nakrájené na kousky.

1.3.2 Olejnatá semena

Podle Vyhlášky č. 329/1997 Sb. se olejnatými semeny rozumí suchá, čištěná, tříděná semena olejin neloupaná nebo loupaná, určená pro přímou spotřebu. Semínka jsou nedílnou součástí zdravé výživy kvůli látkám, které obsahují a příznivému účinku na zdraví. Většina semínek obsahuje ω -3 mastné nenasycené kyseliny, především α -linolenovou, a další polynenasycené kyseliny. Jsou také zdrojem bílkovin, vlákniny a vitamínu E. Nachází se v nich také další bioaktivní látky, především polyfenoly (Preedy a Watson, 2020). V této diplomové práci byla použita chia semínka, dýňové, slunečnicové a lněné semínko zlaté.

1.4 Další ingredience a látky přidávané do müsli směsí

Do müsli směsí se přidává spousta dalších surovin, buď ozvláštňují chuť, nebo plní určitou funkci. Například hydrogenuhličitan sodný jako kypřící látka, různá aromata, škroby, antioxidanty, maltózový sirup a spousta dalších. Mezi ingredience, které dodávají směsím různé příchutě patří především čokoláda, dále pak med, karamel, různá koření, například skořice. Na trhu s müsli směsmi můžeme najít i směsi s méně běžnými ingrediencemi jako jsou například kávová zrna, kakaové boby nebo rakytník (Emco, Bonavita, mixit).

1.5 Jedlé květy

Jedlé květy se v lidské stravě používají už od starověku. V dnešní době přispěla globalizace ke zlepšení povědomí spotřebitelů a návratu dřívějšího životního stylu, ve kterém jedlé květy měly důležitou roli. Jsou bohaté na bioaktivní sloučeniny, jako jsou polyfenoly, které mohou mít příznivé účinky na zdraví. Jedlé květy se používají zejména k zatraktivnění pokrmů přidáním barvy, chuti a dalších sensorických vlastností, a také se dlouho využívají v lidovém léčitelství. Přítomnost fenolických sloučenin dává jedlým květům potenciál k využití v potravinářském průmyslu jako přírodní přísady, zejména barviva. Nejvíce zastoupenými polyfenoly v jedlých květech jsou kyselina chlorogenová a kyanidin-3-O-glukosid (jako hlavní antokyan). Jedlé květy jsou obvykle tvořeny vysokým obsahem vody. Složení a obsah dalších živin a fytochemikálií závisí na části květu. Pyl je zdrojem bílkovin, sacharidů, nasycených a nenasycených mastných kyselin, karotenoidů a flavonoidů. Okvětní lístky a další části květů jsou bohatší na vitaminy, minerální látky a antioxidanty. Nejhojnějšími makroživinami v jedlých květech jsou sacharidy. Hlavní přítomné prvky jsou K, P, Ca a Mg, přičemž hladiny draslíku jsou vyšší než vápníku (Pires

et al. 2019; Takahashi et al., 2020). Mezi používané květy patří např. měsíček lékařský, violka, maceška, ibišek nebo chryzantéma. V této práci byly použity květy chrpy modré (*Centaurea cyanus*), růže stolisté (*Rosa centifolia*), levandule lékařské (*Lavandula angustifolia*) a slézu maurského (*Malva mauritiana*).



Obrázek 1: Chrpa modrá (*Centaurea cyanus*) [Herbář Wendys: online]



Obrázek 2: Růže stolistá (*Rosa centifolia*) [Růže stolistá: online]



Obrázek 3: Levandule lékařská (*Lavandula angustifolia*) [Herbář Wendys: online]



Obrázek 4: Sléz maurský (*Malva mauritiana*) [Sléz maurský: online]

2 LIŠEJNÍK ISLANDSKÝ (*CETRARIA ISLANDICA*)

Lišejníky jsou symbiotické organizmy skládající se z houby a fotosyntetického organismu, řas nebo sinic. Jsou všudypřítomné na kůrách, stoncích, listech a v půdě, ale často rostou na stanovištích méně příznivých pro vyšší rostliny. Tyto organizmy byly historicky používány jako potraviny, barviva, při výrobě alkoholu a v parfémovém průmyslu. Lišejníky se také po stovky let používají v lidovém léčitelství. V posledních letech došlo k obnovenému zájmu o lišejníky jako o potenciální léčivo.

Cetraria islandica (lišejník islandský), u nás známý jako puklélka islandská, je keříčkovitý lišejník s dužnatou stélkou, rostoucí na pevném podkladu do výšky 7,5–10,0 cm. Bývá zbarven od šedozelené do šedobílé barvy (Drujičic et al., 2014).



Obrázek 5: Lišejník islandský (*Cetraria islandica*) [Lišejník islandský: online]

2.1 Složení lišejníku islandského

Látky, které lišejníky obsahují, můžeme rozdělit na primární a sekundární látky. Primární metabolity lišejníku mají strukturální funkci a podílejí se na buněčném metabolismu. Jedná se hlavně o látky, které se běžně nachází i v jiných rostlinách. Lišejníky také produkují mnoho neobvyklých sekundárních produktů, které se v jiných rostlinách nenacházejí.

Mezi primární metabolity lišejníku patří polysacharidy chitin, lichenin, isolichenin, celulóza a hemicelulóza, dále pak pektiny, polyoly, aminokyseliny, vitaminy a barviva (karotenoidy, chlorofyly a xantofyly). Z vitaminů můžeme v lišejníku najít vitamin C a vitaminy skupiny B (tiamin, riboflavin, niacin, kyseliny pantotenovou a listovou a kyanokobalamin) (Akbulut a Yildiz, 2010).

Sekundárními metabolity lišejníku jsou především lichenové kyseliny, podle kterých lze rozeznat jednotlivé druhy lišejníku mezi sebou. Lichenové kyseliny se vyznačují hořkou

chutí. Patří mezi ně kyseliny protolichesterinová, lichesterinová, gynoforová, protocetratová, fumaroprotocetratová a usnová. Dále pak obsahuje atranorin a kyselinu lekanorovou (Patriche et al., 2019). Díky sekundárním metabolitům mají lišejníky, antibiotickou, antimikrobiální a antioxidační aktivitu. Pomáhají také zklidňovat podrážděné sliznice, a často se používají v lécích proti kašli. Zmírňují suchý kašel a pomáhají při bolestech v krku. Mají příznivé výsledky v případech tuberkulózy a bronchitidy. Rovněž regulují zvracení, mají vynikající účinky při léčbě gastroenteritidy, nechutenství a otravy jídlem (Drujičić et al., 2014).

2.2 Využití v potravinářství

Množství produktů s lišejníkem islandským na trhu není moc rozmanité, převážně se orientuje na prevenci a podpůrnou léčbu nachlazení a zažívacích potíží.

Lišejník islandský je na trhu nabízen jako čaj nebo samotný sušený k přípravě nálevu. Další hojnou skupinou produktů jsou různé pastilky, dropsy, lízátko nebo tabletky s lišejníkem islandským pro uvolnění dýchacích cest. Tato skupina produktů ve svém složení neobsahuje pouze lišejník, ale produkty jsou obohaceny, např. o vitamin C nebo výtažky z léčivých bylin. V neposlední řadě jsou nabízeny sirupy a tinktury s výtažky z lišejníku (citace?)

Dalšími možnostmi aplikace lišejníku islandského v potravinářství by mohlo být jeho zakomponování do müsli směsí a výroba sušenek s jeho přídavkem (Petrůjová 2020).

3 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY

Biologicky aktivní látky jsou přítomné v různých rostlinných a živočišných potravinách, které neposkytují výživu, ale mají zvláštní roli ve fyziologickém fungování, a mají tak dopad na lidské zdraví. Zahrnují vlákninu, vitaminy, minerální látky, polyfenolické látky, mastné kyseliny, další fytochemikálie a antioxidanty. Přítomnost těchto bioaktivních látek má konečný účinek na zdraví spotřebitelů (Fernandes et al., 2018). V této diplomové práci budou stanovovány polyfenolické kyseliny a antokyanová barviva v daných směsích, proto dále budou popsány tyto látky.

3.1 Polyfenolické látky

Polyfenolické látky jsou sekundárními metabolity syntetizovanými rostlinami, a to jak během normálního vývoje, tak mimo jiné v reakci na stresové podmínky, jako je infekce, poranění a UV záření. Pokud jde o chemickou strukturu, obsahují širokou škálu molekul s polyfenolovou strukturou. Nejvýznamnějšími podskupinami polyfenolických látek, kterým je věnována tato práce jsou polyfenolické kyseliny a flavonoidy, z nich zejména pak antokyanová barviva (Daglia, 2012).

V rostlinách mohou působit mimo jiné jako fytoalexiny, látky, které chrání před vnějším poškozením hmyzem nebo zvířaty, atraktanty pro opylovače, přispívají k pigmentaci rostlin, působí jako antioxidanty a ochranné látky proti UV záření. Jejich antioxidační vlastnosti jsou jedním z důvodů, proč se v posledních letech zájem o ně rozrostl. V potravinách mohou fenoly přispívat k barvě, chuti, vůni a oxidační stabilitě potravin. Distribuce fenolů v rostlinách na tkáňové, buněčné a subcelulární úrovni není jednotná. Nerozpustné fenoly se nachází v buněčných stěnách, zatímco rozpustné jsou přítomny ve vakuolách rostlinných buněk (Daglia, 2012; Shahidi a Ambigaipalan, 2015).

Flavonoidy sdílejí společnou uhlíkovou kostru difenylpropanů, dva benzenové kruhy (kruh A a B) spojené lineárním řetězcem se třemi uhlíky. Centrální řetězec se třemi uhlíky tvoří uzavřený pyranový kruh (kruh C) s A benzenovým kruhem. Více než 4 000 flavonoidů bylo identifikováno v ovoci, zelenině, obilovinách a rostlinných nápojích, jako je čaj a víno, a seznam neustále roste. V závislosti na oxidačním stavu centrálního pyranového kruhu lze samotné flavonoidy rozdělit do mnoha podtříd: flavonoly, flavony, flavanony, antokyanidiny, flavanoly a také isoflavony (Daglia 2012).

Kyseliny ferulová a *p*-kumarová jsou hlavními fenolovými kyselinami buněčných stěn. Tyto sloučeniny mohou být esterifikovány na pektiny a arabinoxylany nebo zesíťeny s polysacharidy buněčné stěny ve formě dimerů, jako je kyselina truxillová. Obsah některých fenolických látek se může zvýšit za stresových podmínek. Množství fenolických látek v rostlinách závisí mimo jiné na takových faktorech, jako jsou kultivační techniky, kultivar, podmínky pěstování, proces dozrávání a také podmínky zpracování a skladování (Naczka a Shahidi, 2006).

3.1.1 Polyfenolické kyseliny

Fenolové kyseliny jsou deriváty kyseliny benzoové a skořicové a jsou přítomny ve všech obilovinách. Existují dvě třídy fenolových kyselin: kyseliny hydroxybenzoové a kyseliny hydroxyskořicové. Hydroxybenzoové kyseliny zahrnují kyseliny gallovou, *p*-hydroxybenzoovou, vanilovou, syringovou a protokatechinovou. Hydroxyskořicové kyseliny zahrnují kumarovou, kávovou, ferulovou a sinapovou kyselinu. Fenolové kyseliny se vyskytují ve volné i vázané formě (Dykes a Rooney., 2007).

3.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou všudypřítomné ve fotosyntetizujících buňkách a běžně se vyskytují v ovoci, zelenině, ořeších, semenech, stoncích, květinách, čaji, víně, propolisu a medu. Podle struktury se dělí na flavonoly, flavonony, flavony, flavanoly (katechiny), isoflavonoidy a antokyanová barviva (Cushnie a Lamb, 2005).

3.1.2.1 Antokyanová barviva

Antokyaniny tvoří skupinu intenzivně zbarvených pigmentů odpovědných za oranžovou, červenou, fialovou a modrou barvu mnoha druhů ovoce, zeleniny a jiných rostlin. Patří do skupiny flavonoidů a v rostlinách se přirozeně vyskytují ve formě glykosidů, ve kterých je molekula antokyanidinu (aglykon) spojena se sacharidy, které lze acylovat organickými kyselinami. Existuje nejméně šest hlavních typů antokyanů: pelargonidiny, kyanidiny, delfinidiny, peonidiny, petunidiny a malvidiny. Relativní množství antokyanů se liší v závislosti na druhu rostlin a načasování sklizně. Nacházejí se v mnoha rostlinných potravinách, jako jsou obiloviny, ořechy, zelenina, luštěniny a hlavně ovoce (Escribano-Bailón et al., 2004; Tsuda, 2011).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo připravit müsli směsi s lišejníkem islandským (*Cetraria islandica*) a u těchto směsí stanovit biologicky aktivní látky a změřit hodnoty antioxidačních aktivit.

Díličními cíly bylo připravit dané müsli směsi podle předem daných receptur (což zahrnovalo i přípravu vloček z quinoi) a stanovit u nich obsah celkových volných polyfenolů, jejich individuální zastoupení v rámci zástupců z řad polyfenolických kyselin, flavonoidů a antokyanových barviv. U metanolicých extraktů potom stanovit antioxidační aktivity.

K těmto stanovením byla použita Folin-Ciocalteuova metoda, dále pak metoda kapalinové chromatografie s detekcí UV i VIS oblasti spektra. Měření antioxidační aktivity bylo provedeno spektrofotometricky.

5 METODIKA PRÁCE

5.1 Použité chemikálie

redestilovaná voda

Metanol (Ing. Petr Švec – Penta s.r.o.)

Uhličitán sodný (Ing. Petr Lukeš)

Folin-Ciocalteuovo činidlo (Merck spol. s.r.o.)

Kyselina gallová (Merck spol. s.r.o.)

ABTS (Merck spol. s.r.o.)

Peroxodisíran draselný (Ing. Petr Lukeš)

Octan sodný trihydrát (Ing. Petr Lukeš)

Kyselina octová (Ing. Petr Lukeš)

Trolox (Merck spol. s.r.o.)

DPPH (Merck spol. s.r.o.)

Standardy (kyseliny gallová, protokatechinová, neochlorogenová, 4-hydroxybenzoová, vanilová, chlorogenová, kávová, syringová, *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, ellagová, *trans-2*-hydroxyskořicová, *trans*-skořicová, etylester kyseliny protokatechinové, epigallokatechin, katechin, epikatechin, rutin, resveratrol, kaempferol, kvercetin, pelargonidin-3-O-glukosid, kyanidin, kyanidin-3-O-glukosid, delphinidin, delphinidin-3-galaktosid, malvidin, malvidin-3-O-galaktosid, delphinidin-3-O-glukosid, pelargonidin, peonidin, peonidin-3-O-glukosid)

5.2 Použité přístroje a pomůcky

Analytické váhy (Kern ABT 200 – 4NM)

Předvážky (Kern 440 – 45N)

Míchačky (Hidolf MR 1000)

Spektrofotometr (Specord 50 plus Analytik Jena, Specord 210 plus Analytik Jena)

HPLC (Dionex Ultimate 3000)

Tyčový mixér (Braun)

Odstředivka (DLAB D 3024)

Stříkačkové filtry s nylonovou membránou NY 0,22 μm (Chromservis s.r.o.)

Mikropipety s nastavitelným objemem

Běžné laboratorní sklo a pomůcky

5.3 Příprava vzorků

5.3.1 Suroviny

Jednotlivé druhy vloček (žitné, špaldové, ječné, teffové a vločky bílé quinoi) byly zakoupeny na objednávku přímo v obchodní síti prodejen se specializovaným sortimentem. Zrna quinoi s černými obalovými vrstvami byla povařena (redestilovaná voda, 98 °C, 10 min na skus) a ručně pomocí válečku rozválcována na formu vloček. Poté byla zrna vysušena v sušárně při teplotě 30 °C (cca 5 hodin). Vzorky vloček byly vyrobeny ze zrn sklizně 2020.

Jedlé květy (květy modré chrpy, růže, levandule a slézu) byly od soukromých dodavatelů 2020 a lišejník byl dodán dodavatelem pro ČR v sušeném a nasekaném stavu.

Kešu, piniové oříšky a pistácie byly koupeny celé loupané a lískový oříšek byl zakoupen již sekaný v běžné obchodní síti.

Ovoce bylo sušené (meruňky, jablka, goji, mochně a švestky), proslazené (brusinka) nebo sušené mrazem (jahody, maliny a rybíz). Ovoce (kromě lyofilizovaného) bylo zakoupeno ve specializované prodejně na objednávku tak, aby se jednalo o ovoce ze sklizně 2020.

Jednotlivé suroviny byly zakoupeny vždy ve třech kusech obchodního balení, mimo mochni. Ta byla zakoupena přímo na váhu (200 g).

5.3.2 Příprava müsli směsí

Surovinové složení müsli směsí bylo již dříve použito na ÚAČHP. Při jejich přípravě se vycházelo již z předešlé diplomové práce, kdy byly u těchto směsí stanovovány základní nutriční hodnoty (Petrůjová, 2020). Müsli směsi byly připraveny celkem čtyři, dvě obsahující lepek (č. 1 a 2) a dvě bezlepkové (č. 3 a 4). Složení směsí je prezentováno v tabulkách č. 1 a 2.

Jednotlivé suroviny byly postupně naváženy dle receptury a směsi byly následně ihned rozemlety tyčovým mixérem. Mezi analýzami byly směsi skladovány v tmavých plastových PET lahvích bez přístupu vzduchu a světla, při laboratorní teplotě (klimatizovaná laboratoř 23 ± 2 °C). Od přípravy směsí po jejich analýzu neproběhlo více jak čtrnáct dní.

Tabulka 1: Složení müsli směsí s obsahem lepku

Směs č. 1		Směs č. 2	
Surovina	Podíl [g]	Surovina	Podíl [g]
žitné vločky	50	ječné vločky	70
špaldové vločky	20	lišejník islandský	5
lišejník islandský	5	květ růže	2
květ chrpy modré	1,5	slunečnicové semínko	2
chia semínka	2,5	dýňové semínko	2
pistácie	3	lískový oříšek	5
meruňka	6	jablko	10
švestka	6	brusinka	4
goji	6		



Obrázek 6: Müsli směsi č. 1 a 2 s obsahem lepku

Tabulka 2: Složení bezlepkových müsli směsí

Směs č. 3		Směs č. 4	
Surovina	Podíl [g]	Surovina	Podíl [g]
quinoové vločky	50	vločky bílé quinoi	50
teffové vločky	20	zrno černé quinoi	20
lišejník islandský	5	lišejník islandský	5
květ levandule	0,5	květ slézu	1,5
kešu oříšek	3	piniové oříšky	2
lněné semínko zlaté	2,5	dýňové semínko	3,5
meruňka	10	jablko	10
rybíz	5	jahoda	4
malina	4	mochyně	4



Obrázek 7: Bezlepkové müsli směsi č. 3 a 4

5.4 Extrakce polyfenolů

Od každého vzorku byly naváženy do tří lékovek 2 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Do každé lékovky bylo přidáno 10 ml 80% metanolu. Uzavřené lékovky byly dány na magnetickou míchačku a vzorek se 30 minut extrahoval. Extrakce probíhala při laboratorní teplotě. Po uplynutí dané doby se vzorky nechaly 10 minut odstát a extrakt byl odsát Pasteurovou pipetou do 5 ml zkumavek Eppendorf. Extrakt byl odstředěn (21380xg, 10 min) a slit do nových tmavých lékovek. Extrakce proběhla ještě jednou za stejných

podmínek a oba extrakty byly slity dohromady. Tímto byl získán volný podíl polyfenolických látek směsí.

5.5 Stanovení celkových polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

K 5 ml redestilované vody v 10ml odměrné baňce bylo přidáno 200 μ l extraktu vzorku a 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Dále bylo přidáno 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Po promíchání byl vzorek ponechán reagovat po dobu 30 minut a po uplynutí této doby byla změřena absorbance při vlnové délce 765 nm na spektrofotometru Specord 50 plus oproti blanku. Pomocí rovnice lineární regrese byl z naměřených hodnot absorbancí vypočítán celkový obsah polyfenolů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové v 1 g vzorku.

5.5.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů

Kyselina gallová byla použita jako standard, jejím rozpuštěním v metanolu byl vytvořen zásobní roztok o koncentraci 4000 mg.l^{-1} . Ředěním zásobního roztoku byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50, 100, 200, 300 a 400 mg.l^{-1} .

Do 10ml odměrné baňky bylo dáno 5 ml redestilované vody a k ní bylo přidáno 200 μ l standardu dané koncentrace, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, a poté 1,5 ml 20% uhličitanu sodného. Následně byla odměrná baňka doplněna po rysku redestilovanou vodou a obsah baňky byl promíchán. Po uplynutí 30 minut byly jednotlivé koncentrace proměřeny na spektrofotometru Specord 50 plus při vlnové délce 765 nm oproti blanku. Kalibrační křivka byla sestavena jako závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové [mg.l^{-1}].

5.6 Stanovení volných polyfenolických kyselin pomocí HPLC

Extrakty použité pro stanovení volných polyfenolických kyselin byly získány postupem popsaným v kapitole 5.4. Extrakty k analýze byly přefiltrovány přes stříkačkové filtry NY 0,22 μm do vialek. Nástřik extraktu vzorku na kolonu byl proveden v množství 10 μl , analýza trvala 45 minut při teplotě kolony 30 $^{\circ}\text{C}$. Mobilní fázi A tvořila voda a kyselina octová v poměru 99:1 a mobilní fázi B voda, acetonitril a kyselina octová v poměru 67:32:1. Jednalo se o gradientovou eluci s následujícím průběhem: 0–10 minut (10–20 % B), 10–16 minut (20–40 % B), 16–20 minut (40–50 % B), 20–25 minut (50–70 % B), 25–30 minut (70 % B), 30–40 minut (70–10 % B), 40–45 minut (10 % B). Mobilní fáze měla

průtok $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ na koloně Phenomenex Kinetex C18 (150 x 4,6 mm; 5 μm). Polyfenolické látky byly detekovány při vlnové délce 275 nm, jejich obsah byl vypočítán z příslušných rovnic lineárních regresí, vycházejících ze závislosti ploch píků na koncentraci standardu analytu. K vyhodnocení byl použit retenční čas jednotlivých standardů a také byla použita metoda standardního přídatku. V jednotlivých vzorcích byly stanovovány následující polyfenolické látky: kyseliny gallová, protokatechinová, neochlorogenová, 4-hydroxybenzoová, vanilová, chlorogenová, kávová, syringová, *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, ellagová, *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-skořicová a etylester kyseliny protokatechinové, dále pak epigallokatechin, katechin, epikatechin, rutin, resveratrol, kaempferol a kvercetin.

5.7 Stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

5.7.1 Příprava radikálu ABTS

Reakcí ABTS s peroxodisíranem draselným vznikl radikál kationtu ABTS potřebný pro stanovení antioxidační aktivity. Do 10 ml odměrné baňky bylo naváženo 0,018 g ABTS a baňka byla doplněna redestilovanou vodou po rysku. K tomuto roztoku byly přidány 0,2 ml peroxodisíranu draselného o koncentraci $0,06 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Tato směs byla ponechána 16 hodin v temnu při laboratorní teplotě, kdy docházelo k tvorbě radikálu ABTS.

5.7.2 Příprava reakční směsi

Nejprve byl připraven octanový pufr o pH 4,3 smícháním 116,3 ml $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ octanu sodného a 250 ml $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ kyseliny octové. Následně byl pufr smíchán v poměru 39:1 s radikálem ABTS (tj. 273 ml pufru a 7 ml radikálu ABTS). Vzniklá reakční směs byla spektrofotometricky proměřena (absorbance A_0) při vlnové délce 734 nm proti octanovému pufru o pH 4,3 jako blanku.

5.7.3 Měření antioxidační aktivity vzorků metodou s ABTS

Ke 4 ml reakční směsi bylo do zkumavky napipetováno 50 μl extraktu vzorku, připraveného dle postupu uvedeného v kapitole 5.4. Takto připravená směs byla následně 30 minut uchovávaná v temnu a následně změřena její hodnota absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Od každého extraktu byly takto nachystány a následně změřeny dva vzorky. Hodnoty absorbance vzorku (A_{vz}) byly přepočteny na hodnoty inaktivace dle vzorce č. 1. Následně z hodnot inaktivace byla vypočítána hodnota

celkové antioxidační aktivity pomocí rovnice lineární regrese a byla vyjádřena jako odpovídající množství troloxu přepočtené na μg na 1 g vzorku.

$$\text{Inaktivace [\%]} = [(A_0 - A_{vz}) / A_0] * 100 \quad (1)$$

5.7.4 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Jako standard byl pro tuto metodu použit trolox. Zásobní roztok standardu o koncentraci $400 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním troloxu v metanolu. Kalibrační řada byla vytvořena ředěním zásobního roztoku na koncentrace 10, 50, 100, 200 a $300 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Jednotlivé koncentrace byly nachystány na měření a změřeny za stejných podmínek jako extrakty vzorků. Naměřené hodnoty byly přepočteny na hodnoty inaktivace, a z nich byla vytvořena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu.

5.8 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

5.8.1 Příprava zásobního a pracovního roztoku DPPH

Rozpuštěním 12 mg DPPH v 50 ml metanolu byl připraven zásobní roztok. Zásobní roztok byl použit pro přípravu pracovního roztoku, který vznikl smícháním 25 ml zásobního roztoku s 112,5 ml metanolu. Pracovní roztok DPPH byl následně spektrofotometricky změřen při vlnové délce 515 nm oproti metanolu jako blanku. Tato hodnota (A_0) byla dále použita pro výpočet inaktivace vzorků podle vzorce v kapitole 5.7.3.

5.8.2 Měření antioxidační aktivity

Pro vlastní měření byly použity extrakty vzorků připravené podle kapitoly 5.4. Do zkumavky byly napipetovány 4 ml pracovního roztoku a k nim bylo přidáno 210 μl extraktu vzorku. Směs byla promíchána a dána na 60 minut do tmy při laboratorní teplotě. Po uplynutí této doby byly vzorky spektrofotometricky proměřeny (A_{vz}) při vlnové délce 515 nm. Každý extrakt vzorku byl stanoven dvakrát vedle sebe po dvou opakováních. Úbytek absorbance byl přepočten na hodnotu inaktivace dle vzorce č. 1. Pomocí rovnice lineární regrese byla inaktivace přepočítána na odpovídající množství troloxu v μg na 1 gram vzorku.

5.8.3 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Jako standard byl pro tuto metodu, jako v předchozí, opět použit trolox. Rozpuštěním standardu v metanolu byl získán zásobní roztok o koncentraci $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Jeho ředěním byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50, 80, 100, 120 a $150 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ke 4 ml pracovního roztoku bylo přidáno 210 μl jednotlivých koncentrací z kalibrační řady. Po promíchání byly vzorky ponechány 60 minut v temnu a následně proměřeny spektrofotometrem při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot absorbance byla vypočítána inaktivace a z ní sestavena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu.

5.9 Extrakce antokyanových barviv

Vzorky müsli směsí byly naváženy do tmavých lékovek v množství 2 g s přesností na 0,1 mg. Každá müsli směs byla navážena ve třech navážkách. Ke každé navážce bylo přidáno 5 ml extrakční směsi ve složení 85 ml metanolu a 15 ml 0,1 M HCl. Vzorky byly extrahovány 30 minut na magnetické míchačce při laboratorní teplotě. Následně se nechaly 10 minut odstát a extrakty byly odsáty Pasteurovou pipetou do 5 ml zkumavek Eppendorf. Extrakty byly odstředěny ($21380xg$, 15 minut). Extrakce probíhala ještě jednou za stejných podmínek, oba extrakty byly slity dohromady.

5.10 Stanovení antokyanových barviv pomocí HPLC

Extrakty připravené dle postupu v kapitole 5.9 byly přefiltrovány přes stříkačkové filtry NY 0,22 μm do tmavých vialek. K měření byl opět použit chromatogram Dionex Ultimate 3000RS. Vzorky byly na kolonu nastříkovány v množství 20 μl . Analýza trvala 35 minut a termostat kolony měl teplotu 25 °C. Jako mobilní fáze A byla použita voda a 85% kyselina mravenčí v poměru 90:10. Jako mobilní fáze B byl použit acetonitril. Gradientová eluce měla následující průběh: 0–5 minut (2 % B), 5–20 minut (5–25 % B), 20–30 minut (25–2 % B), 30–35 minut (2 % B). Průtok mobilní fáze kolonou byl $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ na koloně YMC-Triart C18 (150 x 3,0 mm; 5 μm). Data byla vyhodnocena při vlnové délce 520 nm. Z příslušných rovnic lineární regrese byl vypočítán obsah jednotlivých antokyanů, vycházející ze závislosti ploch píků na koncentraci analytu. K vyhodnocení byl použit retenční čas jednotlivých barviv a také metoda standardního přídatku. Ve vzorcích byla stanovována tato antokyanová barviva: pelargonidin-3-O-glukosid, kyanidin, kyanidin-3-O-glukosid, delphinidin, delphinidin-3-galaktosid, kyanidin-3-O-rutinosid, malvidin,

malvidin-3-O-galaktosid, delphinidin-3-O-glukosid, pelargonidin, peonidin a peonidin-3-O-glukosid.

5.11 Statistické zpracování dat

Vyloučení odlehlých hodnot výsledků bylo provedeno Dean-Dixonovým testem. Dále byl použit Tukeyho test mnohonásobného porovnávání. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí Excell a Stavyd verze 2.0 beta na hladině významnosti 0,05.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Na úvod je nutno poznamenat, že vzhledem k vysoké heterogenitě směsí v jejich surovinové skladbě, je velmi složité tato naměřená data diskutovat. Tyto hodnoty nemohou být porovnávány s již provedenými studiemi, protože směsi s úplně stejným složením nejsou dostupné. Proto zde bude alespoň diskuze propojena se surovinovou skladbou.

6.1 Výsledky stanovení celkových polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

Stanovení celkových polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou bylo provedeno podle postupu popsáno v kapitole 5.5 u extraktů vzorků připravených podle kapitoly 5.4. Výsledné extrakty byly proměřeny na spektrofotometru Specord 50 plus oproti blanku při vlnové délce 765 nm. Naměřená absorbance byla přepočtena z rovnice lineární regrese na množství celkových polyfenolů (TPC, Total Phenolic Content), a vyjádřena na 1 mg kyseliny gallové v 1 g vzorku. Výsledky jsou prezentovány v tabulce 3.

Obsah celkových polyfenolů je u směsí č. 2 a 3 statisticky shodný, ačkoliv se jedná o směsi s obsahem lepku i bez něj. U směsi obsahující lepek (č. 1), je obsah polyfenolů přibližně poloviční. Podle hodnot uváděných ve studii Dykes a Rooney (2007) by vzhledem k surovinovému složení jednotlivých směsí, ať už se jedná o složení obilovin nebo ovoce, mohly směsi dosahovat podobných hodnot celkového obsahu polyfenolů. Ovšem jejich syntéza v jednotlivých surovinách může být rozdílná na základě podmínek pěstování rostlin nebo vlivem jednotlivých kultivarů rostlin. Mezi suroviny s vyšším obsahem polyfenolů patří zajisté ovoce a potom také obiloviny s barevnými obalovými vrstvami. Jedlé květy, byť jsou do směsi přidávány v menším množství, jsou taktéž koncentrovaným zdrojem polyfenolů, protože jsou používány v sušeném stavu.

Tabulka 3: Výsledky stanovení celkových volných polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

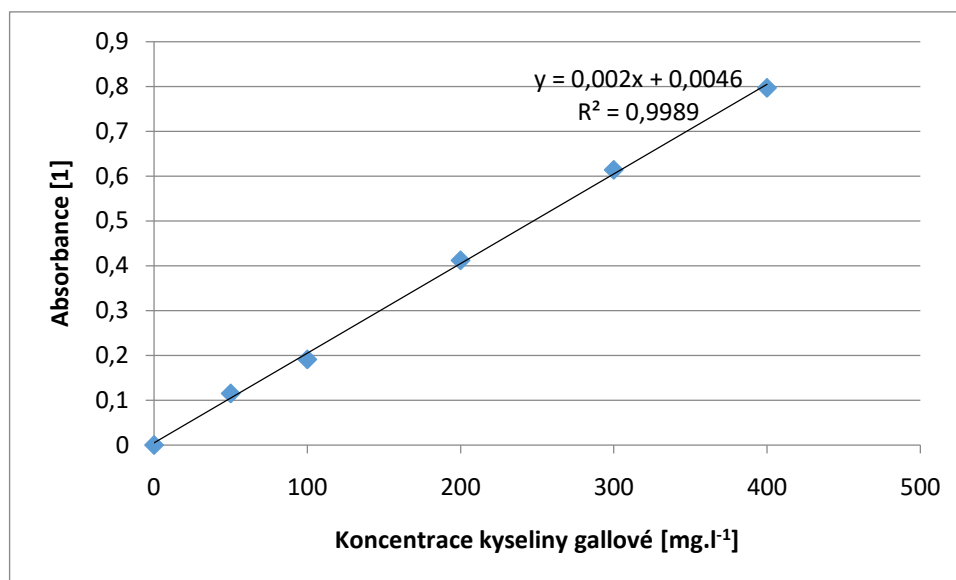
Vzorek müsli směsi č.	TPC [mg GAE.g ⁻¹] ± SD
1	1,21 ± 0,10 ^{a,A}
2	2,78 ± 0,12 ^{b,B}
3	2,83 ± 0,11 ^{b,A}
4	2,64 ± 0,11 ^{c,B}

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky ve sloupcích mající alespoň jeden stejný malý písmenný index (v případě všech vzorků) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné malé písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$). Výsledky ve sloupcích mající alespoň jeden stejný velký písmenný index (v případě směsí bezlepkových a obsahujících lepek) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Při měření hodnot pro sestrojení kalibrační křivky ke stanovení celkových polyfenolů byla jako standard použita kyselina gallová. Postup měření je popsán v kapitole 5.5.1. Rovnice lineární regrese pro stanovení byla $y=0,002x+0,0046$ a hodnota spolehlivosti R^2 se rovnala 0,9989.

Tabulka 4: Naměřené hodnoty absorbance kyseliny gallové pro sestrojení kalibrační křivky

Koncentrace kyseliny gallové [mg.l ⁻¹]	Průměrná absorbance A [1]
0	0
50	0,115
100	0,191
200	0,412
300	0,614
400	0,797



Obrázek 8: Kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci kyseliny gallové

6.2 Výsledky stanovení polyfenolického profilu pomocí HPLC

Ke stanovení profilu volných polyfenolů v extraktech vzorků bylo použito 22 standardů polyfenolických sloučenin. Výsledky s hodnotami jednotlivých polyfenolů jsou v tabulkách 5 a 6.

U směsi č. 1 byla naměřena nejvyšší hodnota kyseliny gallové a etylesteru kyseliny protokatechinové. Dalšími sloučeninami ve vyšším množství ve směsi jsou kyselina protokatechinová, vanilová a kávová. Výskyt těchto polyfenolů ve směsi se dal očekávat, protože podle studií Dykes a Rooney (2007) a Chang et al. (2016) v použitém ovoci a obilovinách byly tyto polyfenoly naměřeny ve vysokých koncentracích. Konkrétní hodnoty mohou být ovlivněny množstvím dané suroviny ve směsi, ostatními surovinami a nehomogenitou vzorků. Naopak ve směsi nebyly detekovány kyseliny neochlorogenová, chlorogenová, ellagová a *trans*-skořicová, epigallokatechin, katechin, rutin a kvercetin.

Ve směsi č. 2 byla nejvyšší hodnota naměřena u kvercetinu $128 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, který se vyskytuje v brusinkách a jablkách (Chang et al., 2016) přítomných v této směsi. Vysoké hodnoty obsahu byly naměřeny ještě u kyseliny syringové, etylesteru kyseliny protokatechinové a u resveratrolu. Syringová kyselina a deriváty kyseliny protokatechinové se podle Dykes a Rooney (2007) mohou vyskytovat v ječmeni. Polovina polyfenolů u této směsi detekována ovšem nebyla, z ní např. katechiny a kyseliny neochlorogenová a 4-hydroxybenzoová.

Tabulka 5: Výsledky stanovení volných polyfenolických kyselin, flavonoidů a stilbenu v müsli směsích s obsahem lepku

Analyty	Vzorek č. 1 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD	Vzorek č. 2 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD
gallová	13,8 \pm 0,3 ^A	27,2 \pm 0,3 ^B
protokatechinová	7,09 \pm 0,24 ^A	1,20 \pm 0,04 ^B
neochlorogenová	ND	ND
4-hydroxybenzoová	0,44 \pm 0,02	ND
vanilová	9,42 \pm 0,31 ^A	5,86 \pm 0,16 ^B
chlorogenová	ND	ND
kávoová	9,38 \pm 0,16 ^A	3,28 \pm 0,14 ^B
syringová	1,44 \pm 0,04 ^A	82,3 \pm 1,1 ^B
<i>trans-p</i> -kumarová	5,95 \pm 0,14	ND
ferulová	4,93 \pm 0,25 ^A	0,76 \pm 0,05 ^B
sinapová	0,41 \pm 0,02	ND
ellagová	ND	ND
<i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	1,05 \pm 0,03 ^A	0,68 \pm 0,02 ^B
<i>trans</i> -skořicová	ND	ND
etyléster k. protokatechinové	11,5 \pm 0,3 ^A	62,7 \pm 1,2 ^B
epigallokatechin	ND	ND
katechin	ND	ND
epikatechin	5,33 \pm 0,16	ND
rutin	ND	ND
resveratrol	1,04 \pm 0,20 ^A	63,1 \pm 1,5 ^B
kaempferol	3,23 \pm 0,16 ^A	1,54 \pm 0,03 ^B
kvercetin	ND	128 \pm 5

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky v řádcích mající alespoň jeden stejný velký písmenný se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Ve směsi č. 3 měla jednoznačně nejvyšší zastoupení kyselina ferulová $68,6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, což by podle výsledků studií Ravinsankar et al. (2018) a Hemalatha et al. (2016) mohlo být způsobeno použitím quinoi a teffu do směsi. V této směsi také nebyla detekována polovina polyfenolů, např. kvercetin, kaempferol a resveratrol.

Směs č. 4 měla nejvyšší obsah kyseliny *trans-p*-kumarové, a to $53,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, ta se podle Boo (2019) může nacházet v jablku. Druhé nejvyšší zastoupení v této směsi má rutin, který by podle Hemalatha et al. (2016) mohl pocházet z quinoi. V této směsi nebylo detekováno osm polyfenolů například katechiny. Dá se ovšem předpokládat, že pokud by byla provedena alkalická hydrolyza, tyto polyfenolické látky by se mohly uvolnit z vázaných forem na frakce vlákniny (polymerní polysacharidy rostlinných buněk). To platí pro všechny vzorky, které byly v této práci analyzovány.

Tabulka 6: Výsledky stanovení volných polyfenolických kyselin, flavonoidů a stilbenu v müsli směsích bez obsahu lepku

Analyty	Vzorek č. 3 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD	Vzorek č. 4 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD
gallová	ND	2,43 \pm 0,10
protokatechinová	5,97 \pm 0,15 ^A	5,75 \pm 0,14 ^B
neochlorogenová	ND	ND
4-hydroxybenzoová	1,11 \pm 0,03 ^A	1,01 \pm 0,05 ^A
vanilová	12,4 \pm 0,2 ^A	4,75 \pm 0,19 ^B
chlorogenová	ND	ND
kávová	4,15 \pm 0,20 ^A	3,31 \pm 0,13 ^B
syringová	6,06 \pm 0,19 ^A	13,5 \pm 0,4 ^B
<i>trans-p</i> -kumarová	ND	53,4 \pm 1,3
ferulová	68,6 \pm 1,8 ^A	3,68 \pm 0,13 ^B
sinapová	3,76 \pm 0,17 ^A	9,55 \pm 0,31 ^B
ellagová	ND	ND
<i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	4,00 \pm 0,12 ^A	6,42 \pm 0,25 ^B
<i>trans</i> -skořicová	ND	ND
etyléster k. protokatechinové	0,97 \pm 0,03	ND
epigallokatechin	ND	ND
katechin	ND	ND
epikatechin	1,56 \pm 0,04 ^A	2,74 \pm 0,12 ^B
rutin	24,0 \pm 1,1 ^A	26,0 \pm 1,2 ^B
resveratrol	ND	0,22 \pm 0,02
kaempferol	ND	ND
kvercetin	ND	8,90 \pm 0,38

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky v řádcích mající alespoň jeden stejný velký písmenný index se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

6.3 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Antioxidační aktivita byla stanovena u extraktů vzorků připravených podle postupu v kapitole 5.4. Úbytek absorbance byl měřen na spektrofotometru Specord 210 plus při vlnové délce 734 nm. Inaktivace byla vypočtena z úbytku absorbance (vzorec č. 1) a z rovnice lineární regrese byla přepočtena na ekvivalentní množství troloxu v 1 g vzorku, (tabulka č. 7).

Z výsledků v tabulce je patrné, že nejvyšší antioxidační aktivitu měla směs č. 2, zajisté k vyšší hodnotě antioxidační aktivity přispívá ve směsi obsažené jablko, brusinka a ječmen (Ragae et al., 2006; Chang et al., 2016), které jsou bohaté na obsah polyfenolů, stejně jako další obiloviny s barevnými obalovými vrstvami. Nicméně mohou k ní přispívat i jiné složky směsi, jako jedlé květy. Naopak téměř poloviční antioxidační aktivitu měla směs č. 1 s obsahem žitných a špaldových vloček, meruňky, švestky a goji. Nejnižší AOA u směsi č. 1 koreluje i s nejnižším obsahem celkových polyfenolů.

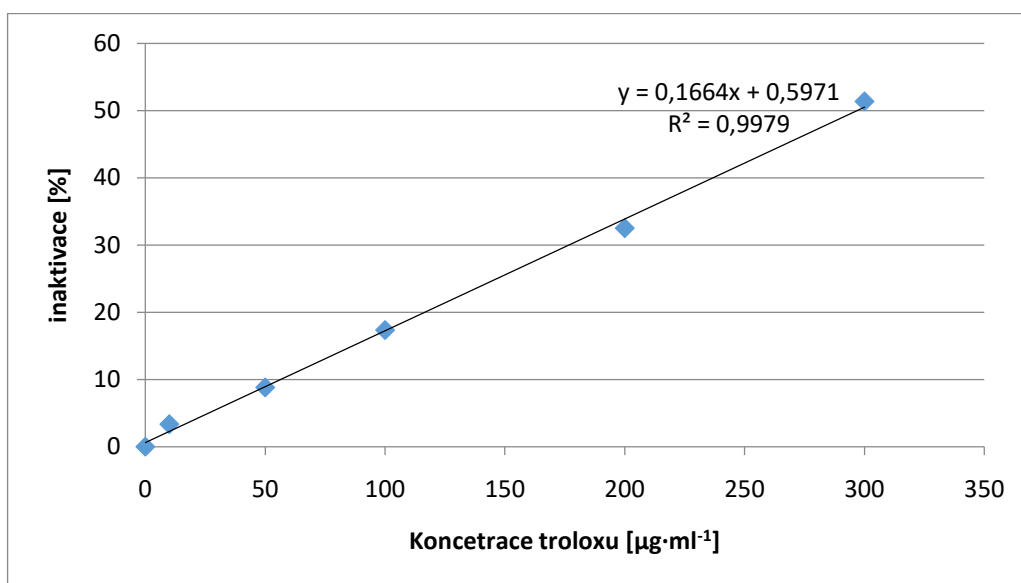
Tabulka 7: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Vzorek müsli č.	AOA ve vzorku [$\mu\text{g TE.g}^{-1}$] \pm SD
1	3,11 \pm 0,12 ^{a,A}
2	6,60 \pm 0,24 ^{b,B}
3	4,76 \pm 0,11 ^{c,A}
4	3,75 \pm 0,13 ^{d,B}

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky ve sloupci mající alespoň jeden stejný malý písmenný index (v případě všech vzorků) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné malé písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$). Výsledky ve sloupci mající alespoň jeden stejný velký písmenný index (v případě směsi bezlepkových a obsahujících lepek) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Tabulka 8: Naměřené hodnoty absorbance přepočtené na hodnoty inaktivace pro kalibrační křivku na trolox

Koncentrace troloxu [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Inaktivace [%]
0	0
10	3,45
50	8,82
100	17,4
200	32,5
300	51,4



Obrázek 9: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu

6.4 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Při měření antioxidační aktivity metodou s DPPH byly opět použity extrakty vzorků připravených podle kapitoly 5.4 a měření proběhlo podle postupu v kapitole 5.8 na spektrofotometru Specord 210 plus při vlnové délce 515 nm. Stejně jako u metody s ABTS byla zde z úbytku absorbance vypočítána inaktivace v %, a ta byla následně přepočítána na ekvivalentní množství troloxu v 1 g vzorku.

Výsledky v tabulce č. 9 kopírují trend, který byl zaznamenán u měření AOA s ABTS.

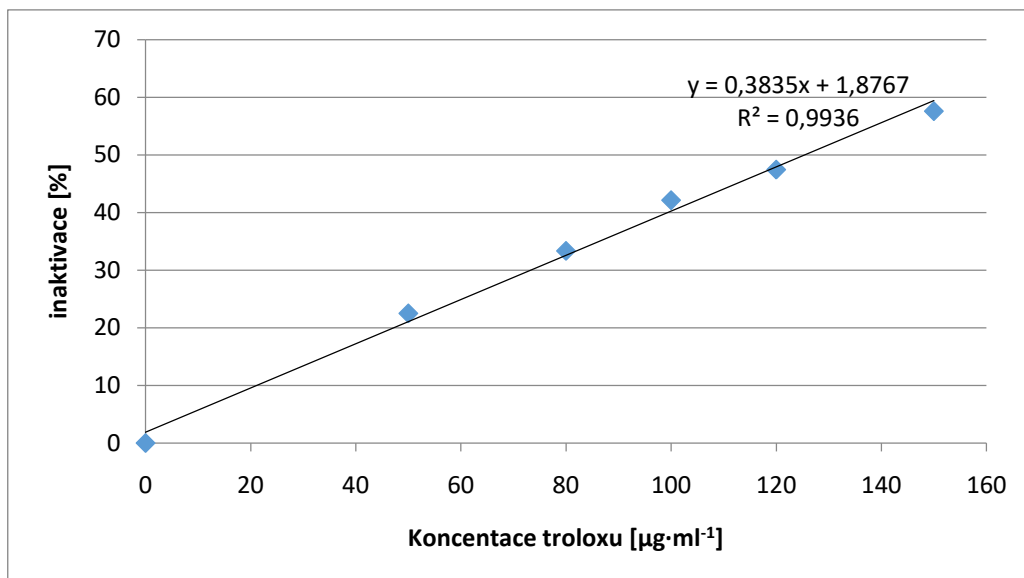
Tabulka 9: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Vzorek müsli č.	AOA ve vzorku [$\mu\text{g TE}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD
1	1,44 \pm 0,04 ^{a,A}
2	4,01 \pm 0,11 ^{b,B}
3	3,01 \pm 0,08 ^{c,A}
4	2,12 \pm 0,05 ^{d,B}

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky ve sloupci mající alespoň jeden stejný malý písmenný index (v případě všech vzorků) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné malé písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$). Výsledky ve sloupci mající alespoň jeden stejný velký písmenný index (v případě směsí bezlepkových a obsahujících lepek) se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Tabulka 10: Naměřené hodnoty absorbance přepočtené na hodnoty inaktivace pro kalibrační křivku troloxu

Koncentrace troloxu [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Inaktivace [%]
0	0
50	22,5
80	33,4
100	42,4
120	47,5
150	57,6



Obrázek 10: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu

6.5 Výsledky stanovení antokyanových barviv pomocí HPLC

Ke stanovení antokyanových barviv pomocí HPLC byly použity extrakty vzorků připravené podle kapitoly 5.9. Samotné stanovení bylo provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 5.10. Ke stanovení bylo použito 12 standardů antokyanových barviv. Hodnoty stanovení jednotlivých analytů ve vzorcích je uvedeno v tabulkách č. 11 a 12.

U směsi č. 1 si v tabulce č. 11 nelze nevšimnout, že obsahuje pouze čtyři antokyanová barviva z dvanácti měřených a všechna v relativně nízkých koncentracích. Obsah těchto čtyř barviv (pelargonidin-3-O-glukosid, kyanidin-3-O-glukosid, delphinidin-3-galaktosid a delphinidin-3-O-glukosid) by mohl podle studií Pires et al. (2019) a Dykes a Rooney (2007) být zapříčiněn přítomností modré chrpy a barevným ovocem. Množství výskytu jednotlivých barviv může být ovlivněno podmínkami při pěstování, ať už se jedná o hnojení, pH půdy nebo dostatek UV záření.

Směs č. 2 obsahovala taktéž pouze čtyři barviva, jen pelargonidin-3-O-glukosid byl nahrazen malvidinem-3-O-galaktosidem. Ovšem kyanidin-3-O-glukosid a delphinidin-3-galaktosid byly naměřeny ve výrazně nižší koncentraci než u první směsi. Všechna barviva se podle studií Pires et al. (2019), Dykes a Rooney (2007) a Chang et al. (2016) dala ve směsi očekávat, díky obsahu květu růže a brusinek. Kyanidinová barviva jsou červeného odstínu.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty obsahu antokyanových barviv v müsli směsích s obsahem lepku

Analyt	Vzorek č. 1 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD	Vzorek č. 2 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD
pelargonidin-3-O-glukosid	0,76 \pm 0,03	ND
kyanidin	ND	ND
kyanidin-3-O-glukosid	2,94 \pm 0,12 ^A	13,6 \pm 0,5 ^B
delfinidin	ND	ND
delfinidin-3-galaktosid	1,22 \pm 0,03 ^A	15,5 \pm 0,6 ^B
kyanidin-3-O-rutinosid	ND	ND
malvidin	ND	ND
malvidin-3-O-galaktosid	ND	0,14 \pm 0,02
delfinidin-3-O-glukosid	0,10 \pm 0,01 ^A	0,59 \pm 0,02 ^B
pelargonidin	ND	ND
peonidin	ND	ND
peonidin-3-O-glukosid	ND	ND

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky v rádcích mající alespoň jeden stejný velký písmenný index se mezi sebou navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Müsli směs č. 3 je, co se zastoupení i množství jednotlivých analytů týče, jednoznačně nejbohatší. Nejvyšší zastoupení mají kyanidin-3-O-rutinosid (114 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a kyanidin-3-O-glukosid (30,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Obsah kyanidinů lze přisuzovat rybízu a malině ve směsi. Obsah ostatních barviv je s porovnáním s těmito dvěma minimální. Ve směsi nebyly detekovány pouze malvidin-3-O-galaktosid a pelargonidin.

Ve směsi č. 4 je obsah antokyanových barviv opět vyšší než u směsí č. 1 a 2. V této směsi bylo nalezeno osm stanovovaných analytů. Nejvyšší obsah byl naměřen u pelargonidin-3-O-glukosidu, což by podle studie Fang (2015) mohlo být způsobeno jahodou ve směsi. Dalšími významně zastoupenými barvivami, jak lze z tabulky vyčíst, jsou kyanidin-3-O-rutinosid a malvidin-3-O-galaktosid.

Tabulka 12: Naměřené hodnoty obsahu antokyanových barviv v müsli směsích bez obsahu lepku

Analyt	Vzorek č. 3 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD	Vzorek č. 4 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] \pm SD
pelargonidin-3-O-glukosid	0,23 \pm 0,01 ^A	38,0 \pm 0,5 ^B
kyanidin	0,10 \pm 0,01 ^A	0,09 \pm 0,01 ^A
kyanidin-3-O-glukosid	30,8 \pm 1,5 ^A	0,98 \pm 0,02 ^B
delfinidin	5,30 \pm 0,25	ND
delfinidin-3-galaktosid	6,59 \pm 0,30	ND
kyanidin-3-O-rutinosid	114 \pm 3 ^A	17,4 \pm 0,48 ^B
malvidin	1,82 \pm 0,36	ND
malvidin-3-O-galaktosid	ND	13,2 \pm 0,5
delfinidin-3-O-glukosid	9,98 \pm 0,32	ND
pelargonidin	ND	0,22 \pm 0,02
peonidin	0,48 \pm 0,02 ^A	0,10 \pm 0,01 ^B
peonidin-3-O-glukosid	0,38 \pm 0,02 ^A	0,91 \pm 0,04 ^B

Výsledky jsou vyjádřeny na 1 g sušiny vzorku a interpretovány jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou ($n=4-8$). Výsledky v řádcích mající alespoň jeden stejný velký písmenný index se mezi sebou

navzájem statisticky neliší ($P \geq 0,05$), výsledky mající odlišné písmenné indexy se navzájem statisticky liší ($P < 0,05$).

Co se týká suroviny lišejníku islandského, nedá se předpokládat významný příspěvek k obsahu polyfenolických látek jako takových. Na tyto látky je lišejník chudý. Vzhledem k obsahu jeho dalších látek, jiných než polyfenolických, je možno počítat s jeho příspěvkem k hodnotám antioxidačních aktivit. Tato hypotéza by ale musela být podpořena analýzou použitého lišejníku a naměřené koncentrace biologicky aktivních látek by musely být s hodnotami AOA korelovány. Je to spíše námět do budoucna, kam by se práce mohla ubírat.

ZÁVĚR

Diplomová práce se zaměřuje na müsli směsi s obsahem netradičních komponent a navazuje na předchozí práce. Teoretická část se zabývá stručnou charakteristikou jednotlivých surovin směsí a technologií jejich výroby. Dále je zaměřena na popis použitých netradičních surovin, jedlých květů a lišejníku islandského, a biologicky aktivních látek.

V praktické části se práce zabývá přípravou müsli směsí podle předem připravených receptur a stanovením biologicky aktivních látek, polyfenolů a antokyanových barviv, a stanovením antioxidační aktivity.

Polyfenolický profil vykazuje jisté společné znaky. Ve všech směsích v odlišných koncentracích byly stanoveny kyseliny protokatechinová, vanilová, kávová, syringová a *trans*-2-hydroxyskořicová. Naopak u žádné směsi nebyly detekovány kyseliny chlorogenová, neochlorogenová, ellagová a *trans*-skořicová a epigallokatechin a katechin. U stanovení antokyanových barviv lze říci, že směsi s obsahem lepku měly výrazně nižší obsah antokyanových barviv, než směsi bezlepkové. S největší pravděpodobností je přítomnost barviv ovlivněna obsahem jednotlivých komponent müsli směsí, hlavně ovoce a jedlých květů. I když je obsah polyfenolických látek u jednotlivých směsí velmi odlišný jsou tyto směsi jejich dobrými zdroji.

Müsli směsi s těmito netradičními komponentami mohou představovat vhodnou alternativu k nutričně vyvážené stravě, obzvláště jako prevence proti civilizačním chorobám, nebo jako strava pro zdravý životní styl.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Adeoye, B. K., Ezelibe, M. C., Akinlade, A. R., Ani, I.F, Ngozi, E.O., Ajuzie, N.C. (2019). Quality Evaluation of a Ready-To-Eat Breakfast Cereal (Muesli) Made from Selected Nigerian Indigenous Food Crops. *American Journal of Food and Nutrition*, vol. 7, no. 2 (2019): 43-48. doi: 10.12691/ajfn-7-2-2.

Akbulut, G., Yildiz, A. (2010). An Overview to Lichens: The Nutrient Composition of Some Species. *Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg*, 3(2):79–86.

Alam, M. S., Kaur, J., Khaira, H., Gupta, K. (2016). Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56:445–473 (2016). doi: 10.1080/10408398.2013.779568.

Alasalvar, C., Salvadó, J. S., Ros, E. (2020). Bioactives and health benefits of nuts and dried fruits. *Food Chemistry*. 314 (2020) 126192. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126192.

antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*. 21:113–132, 2016. doi: 10.1016/j.jff.2015.11.034

Arendt, E. K., Zannini, E. (2013). Cereal Grains for the Food and Beverage Industries. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2013. ISBN 978-0-85709-413-1.

Baik, B. K., Ullrich, S. E. (2008). Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science*, 48 (2008) 233–242. doi:10.1016/j.jcs.2008.02.002.

Bhatta, S., Janezic, T. S., Ratti. C. (2020). Freeze-Drying of Plant-Based Foods. *Foods*. 9:87, 2020. doi:10.3390/foods9010087.

Bhatarai, G. (2018). Amaranth: A Golden Crop for Future. *Himalayan Journal of Science and Technology*. Vol. 2:108-116. ISSN 2616-0234.

Bonavita [online]. Kunice - Vidovice [cit. 2021–04–26]. Dostupné z: <https://www.bonavita.cz/cs>.

Boo, Y. Ch. (2019). *p*-Coumaric Acid as An Active Ingredient in Cosmetics: A Review Focusing on its Antimelanogenic Effects. *Antioxidants*. 2019, 8, 275; doi:10.3390/antiox8080275.

Bouvier, J. M. (2001). Breakfast cereals. In *Extrusion Cooking Technologies and Applications*. Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press, Cambridge, England.

Burešová I., Lorencová E. (2013) Výroba potravin rostlinného původu – Zpracování obilovin. Zlín:Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN: 978-80-7454-278-7.

Bylinné kapky [online]. Viničné Šumice [cit. 2021–04–02]. Dostupné z: <https://www.tinktura.eu>.

Coimbra, S., Salema, R. (1994). *Amaranthus hypochondriacus*: Seed Structure and Localization of Seed Reserves. *Annals of Botany*, 74: 373-379, 1994.

Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26 (2005) 343–356. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 2012, 23:174–181. doi: 10.1016/j.copbio.2011.08.007.

DebMandal, M., Mandal, S. (2011). Coconut (*Cocos nucifera* L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. (2011)241-247. doi: 10.1016/S1995-7645(11)60078-3.

Dobiáš, J. (2004). Technologie zpracování ovoce a zeleniny I. Syllabus textů k přednáškám. VŠCHT:Praha, učební text.

Dr. Müller Pharma [online]. Hradec Králové [cit. 2021–04–02]. Dostupné z: <https://www.muller-pharma.cz>.

Dr. Popov [online]. Planá [cit. 2021–04–02]. Dostupné z: <https://www.drpopov.cz>.

Dykes, L., Rooney, L. V. (2007). Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. *Cereal Food World*. doi:10.1094 / CFW-52-3-0105.

Emco [online]. Praha [cit. 2021–04–26]. Dostupné z: <https://emco.cz>.

Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*. 1054 (2004) 129–141. doi:10.1016/j.chroma.2004.08.152.

ExHerbis [online]. Praha [cit. 2021–04–02]. Dostupné z: <https://www.exherbis.cz>.

Fang, J. (2015). Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects. *Nutrition* 31. (2015) 1301–1306. doi: 10.1016/j.nut.2015.04.015.

Fernandes, Ch., G., Sonawane, S. K., S., S. A. (2018). Cereal Based Functional Beverages: A Review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*. 2018/19:8 (3) 914-919. doi: 10.15414/jmbfs.2018-19.8.3.914-919.

Grujičić, D., Stošić, I., Kosanic, M., Stanojkovic, T., Rankovic, B., Milošević-Djordjevic, O. (2014). Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*. *Cytotechnology*. 4;66(5):803-813. doi:10.1007/s10616-013-9629-4.

Haros, C. M., Schoenlechner, R. (2017). Pseudocereals: Chemistry and Technology. Chichester: UK. John Wiley & Sons. ISBN 1118938283.

Hemalatha, P., Bomzan, D. P., Rao, B. V. S., Sreerama, Y. N. (2016). Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. *Food Chemistry*. 199 (2016) 330–338. 10.1016/j.foodchem.2015.12.025.

Herbář Wendys [online]. [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: <http://botanika.wendys.cz>.

Hernández-Alonso, P., Camacho-Barcía, L., Bulló, M., Salas-Salvadó, M. (2017). Nuts and Dried Fruits: An Update of Their Beneficial Effects on Type 2 Diabetes. *Journal Nutrients*. 9, 673; doi:10.3390/nu9070673.

Chang, S. K., Alasalvar, C., Shahidi, F. (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, **Janovapec – Jan Král** [online]. Praha [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://www.janovapec.cz/>.

Kalinová, J., Dadáková, E. (2013). Influence of Sowing Date and Stand Density on Rutin Level in Buckwheat. *Cereal Research Communications*, 41(2), 348-358.

Kumari, M. (2019). Cereals. Bhubaneswar, Indie: Walnut Publication, 2019. ISBN 9788193843659.

Lišejník islandský [online]. [cit. 2021-04-30]. Dostupné z: <https://www.bylinnalekarna.cz/lisejnik-islandsky-cetraria-islandica>.

Mihaylova, D., Popova, A. (2018). Non-traditional grains for a balanced diet. *Journal of hygienic engineering and design*. 23. 64-71.

Mixit [online]. Praha [cit. 2021–04–26]. Dostupné z: <https://www.mixit.cz>.

Naczk, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41 (2006) 1523–1542. doi:10.1016/j.jpba.2006.04.002.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 – Nařízení (EU) o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004.

Nowak, V., Du, J., Charrondiere, U. R. (2016). Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chemistry*. 193 (2016) 47–54. doi. 10.1016/j.foodchem.2015.02.111.

Patriche, S., Ghinea, I. O., Adam, G., Gurau, G., Furdui, B., Dinica, R.M., Rebegea, L., Lupoe, M. (2019). Characterization of Bioactive Compounds from Romanian *Cetraria islandica* (L) Ach. *Revista de Chimie*. 15;70(6):2186-2191. <https://doi.org/10.37358/RC.19.6.7302>.

Perdon, A. A., Schonauer, S.L., Poutanen, K.S. (2020). Breakfast cereals and how they are made. Cambridge: UK. Woodhead Publishing ISBN 978-0-12812043-9.

Petrůjová, A. (2020). Aplikace lišejníku islandského jako netradiční suroviny potravin [online]. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická.

Pires, T. C. S. P., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science & Technology*. 93 (2019) 244–258. doi: 10.1016/j.tifs.2019.09.020.

Preedy, V. R., Watson, R. R., (2020). Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Cambridge:UK. Academic Press. ISBN 9780128216101.

Ragae, S., Abdel-Aal, E. M., Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*. 98 (2006) 32–38. doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.039.

Rachtan-Janicka, J., Hassa, P. (2020). Technological ingredients and nutritional value of gluten free bread. *Technological progress in food processing*. 2020 1:148-59.

Ranum, P., Peña-Rosas, J.P., Garcia-Casal, M.N., (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1312(1), 105-112. ISSN 0077-8923. doi:10.1111/nyas.12396.

Ravinsankar, S., Abegaz, K., Awika, J. M. (2018). Structural profile of soluble and bound phenolic compounds in TIFF (*Eragrostis tef*) reveals abundance of distinctly different flavones in white and brown varieties. *Food Chemistry*. 263 (2018) 265–274. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.002.

Růže stolistá [online]. [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/rosa-centifolia/>

Sablani, S. S. (2007). Drying of Fruits and Vegetables: Retention of Nutritional/Functional Quality. *Drying Technology*. 24: 123–135, 2006. doi:10.1080/07373930600558904.

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Institute of Food Technologists*. 17, 2018. doi: 10.1111/1541-4337.12330.

Senhofa, S., Straumite, E., Sabovics, M., Klava, D., Galoburda, R., Rakcejeva, T. (2015). The effect of packaging type on quality of cereal muesli during storage. *Agronomy Research* 13(4), 1064–1073.

Shahidi, F., Ambigipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects –A review. *Journal of Functional Foods*. 18(2015) 820–897. doi. 10.1016/j.jff.2015.06.018.

Shishegarha, F., Makhlof, J., Ratti, C. (2007). Freeze-Drying Characteristics of Strawberries. *Drying Technology*. 20:1, 131-145, doi: 10.1081/DRT-120001370.

Sléz maurský [online]. [cit. 2021-04-24]. Dostupné z: <https://www.kytkykjidlu.cz/herbar-jedlych-kytek/slez-maursky-malva-mauritania/>.

Smiechowska, M., Klimas, D. (2014). The comparison of composition and the assessment of correct labelling of organic and conventional muesli cereals. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2014 59(4):98-102.

Takahashi, J. A., Rezende, F. A. G. G., Moura, M. A. F., Dominguete, L. C. B., Sande, D. (2020). Edible flowers: Bioactive profile and its potential to be used in food development. *Food Research International*. 129 (2020) 108868. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108868.

Tsuda, T. (2011). Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition Food Research*. 2012, 56, 159–170. doi: 10.1002/mnfr.201100526.

Valdemar Grešík – Natura s.r.o. [online]. Děčín [cit. 2021–04–06]. Dostupné z: <https://www.gresik.cz>.

Vítar [online]. Zlín [cit. 2021–04–06]. Dostupné z: <https://www.vitar.cz>.

Vyhláška č. 157/2003 Sb. - Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování.

Vyhláška č. 329/1997 Sb. - Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 18/2020 Sb. - Vyhláška o požadavcích na mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TPC	Total Phenolic Content – Obsah celkových polyfenolů
GAE	Gallic acid ekvivalent – Ekvivalent kyseliny gallové
SD	Směrodatná odchylka
ABTS	2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
AOA	Antioxidant activity – Antioxidační aktivita
HPLC	High Performance Liquid Chromatography – Vysokoučinná kapalinová chromatografie

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Chrpa modrá (<i>Centaurea cyanus</i>) [Herbář Wendys: online].....	20
Obrázek 2: Růže stolistá (<i>Rosa centifolia</i>) [Růže stolistá: online].....	20
Obrázek 3: Levandule lékařská (<i>Lavandula angustifolia</i>) [Herbář Wendys: online]	21
Obrázek 4: Sléz maurský (<i>Malva mauritiana</i>) [Sléz maurský: online]	21
Obrázek 5: Lišejník islandský (<i>Cetraria islandica</i>) [Lišejník islandský: online].....	22
Obrázek 6: Müsli směsi č. 1 a 2 s obsahem lepku.....	30
Obrázek 7: Bezlepkové müsli směsi č. 3 a 4.....	31
Obrázek 8: Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové	39
Obrázek 9: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu.....	44
Obrázek 10: Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci troloxu.....	46

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení müsli směsí s obsahem lepku	30
Tabulka 2: Složení bezlepkových müsli směsí	31
Tabulka 3: Výsledky stanovení celkových volných polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou	38
Tabulka 4: Naměřené hodnoty absorpance kyseliny gallové pro sestavení kalibrační křivky	38
Tabulka 5: Výsledky stanovení volných polyfenolických kyselin, flavonoidů a stilbenu v müsli směsích s obsahem lepku	40
Tabulka 6: Výsledky stanovení volných polyfenolických kyselin, flavonoidů a stilbenu v müsli směsích bez obsahu lepku	42
Tabulka 7: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS	43
Tabulka 8: Naměřené hodnoty absorpance přepočtené na hodnoty inaktivace pro kalibrační křivku na trolox	44
Tabulka 9: Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH	45
Tabulka 10: Naměřené hodnoty absorpance přepočtené na hodnoty inaktivace pro kalibrační křivku troloxu	45
Tabulka 11: Naměřené hodnoty obsahu antokyanových barviv v müsli směsích s obsahem lepku	47
Tabulka 12: Naměřené hodnoty obsahu antokyanových barviv v müsli směsích bez obsahu lepku	48

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Rovnice lineární regrese pro výpočet koncentrace jednotlivých polyfenolů

Příloha P II: Rovnice lineární regrese pro výpočet koncentrace jednotlivých antokyanových barviv

PŘÍLOHA P I: ROVNICE LINEÁRNÍ REGRESE PRO VÝPOČET KONCENTRACÍ JEDNOTLIVÝCH POLYFENOLŮ

Polyfenol	Rovnice	R²
gallová	$y = 0,3413x$	0,9998
protokatechinová	$y = 0,2359x$	0,9995
neochlorogenová	$y = 0,1559x$	0,9994
4-hydroxybenzoová	$y = 0,5114x$	0,9995
vanilová	$y = 0,2612x$	0,9999
chlorogenová	$y = 0,2125x$	0,9985
kávová	$y = 0,5478x$	0,9994
syringová	$y = 0,3716x$	0,9993
<i>trans-p</i>-kumarová	$y = 1,1882x$	0,9994
ferulová	$y = 0,4502x$	0,9989
sinapová	$y = 0,1767x$	0,9993
ellagová	$y = 0,2005x$	0,9982
<i>trans</i>-2-hydroxyskořicová	$y = 1,2589x$	0,9999
<i>trans</i>-skořicová	$y = 1,4882x$	0,9995
etyléster k. protokatechinové	$y = 0,3095x$	0,9998
epigallokatechin	$y = 0,0221x$	0,9984
katechin	$y = 0,0987x$	0,9992
epikatechin	$y = 0,1366x$	0,9988
rutin	$y = 0,1257x$	0,9997
resveratrol	$y = 0,3613x$	0,9995
kaempferol	$y = 0,2241x$	0,9997
kvercetin	$y = 0,3202x$	0,9956

**PŘÍLOHA P II: ROVNICE LINEÁRNÍ REGRESE PRO VÝPOČET
KONCENTRACÍ JEDNOTLIVÝCH ANTOKYANŮ**

Antokyan	Rovnice	R²
pelargonidin-3-O-glukosid	$y=0,9343x$	0,9983
kyanidin	$y=1,8070x$	0,9929
kyanidin-3-O-glukosid	$y=1,1438x$	0,9927
delfinidin	$y=0,7827x$	0,9995
delfinidin-3-galaktosid	$y=1,2394x$	0,9993
kyanidin-3-O-rutinosid	$y=0,8820x$	0,9985
malvidin	$y=1,6595x$	0,9988
malvidin-3-O-galaktosid	$y=1,5044x$	0,9995
delfinidin-3-O-glukosid	$y=1,0704x$	0,9995
pelargonidin	$y=1,5213x$	0,9978
peonidin	$y=1,2747x$	0,9901
peonidin-3-O-glukosid	$y=0,9240x$	0,9996