

# **Aplikace inulinu do dětských ovocných výživ**

Bc. Hana Fojtíková

---

Diplomová práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**

**Fakulta technologická**

**Ústav technologie a mikrobiologie potravin**

**akademický rok: 2011/2012**

# **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

**(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)**

**Jméno a příjmení: Bc. Hana FOJTÍKOVÁ**  
**Osobní číslo: T10733**  
**Studijní program: N 2901 Chemie a technologie potravin**  
**Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

**Téma práce: Aplikace inulinu do dětských ovocných výživ**

**Zásady pro vypracování:**

## **I. Teoretická část**

- 1. Charakterizujte inulin**
- 2. Popište metody stanovení vlákniny**
- 3. Zvolte vhodnou metodu pro stanovení inulinu**
- 4. Popište faktory ovlivňující rozpustnost inulinu**

## **II. Praktická část**

- 1. Metodika na stanovení inulinu v dětské výživě**
- 2. Stanovení inulinu v dětské výživě**
- 3. Zjistěte závislost rozpustnosti inulinu na koncentraci cukrů**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J. Chemie potravin 1. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7
2. HRDINOVÁ, Z. Stanovení vlákniny ve vybraných druzích sladkovodních řas. [online]. 2011-12-16. Dostupné z WWW: <[http://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/14228/hrdinová\\_2010\\_dp.pdf?sequence=1](http://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/14228/hrdinová_2010_dp.pdf?sequence=1)>
3. MEYER, D., BAYARRI, S., et al: Inulin as texture modifier in dairy products. Food Hydrocolloids. 2011, 25, 1881 - 1890
4. GLIBOWSKI, P., PIKUS, S.: Amorphous and crystal inulin behavior in a water environment. Carbohydrate Polymers. 2011, 83, 635 - 639
5. EVAGELIOU, V., TSELIU, G., et al.: Effect of inulin on texture and clarity of gellan gels. Journal of Food Engineering. 2010, 101, 381 - 385

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.**

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**1. února 2012**

Termín odevzdání diplomové práce:

**2. května 2012**

Ve Zlíně dne 10. února 2012

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ..... FOJTÍKOVÁ HANA .....

Obor: ..... T#EVP .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou 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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské 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.

Ve Zlíně ..... 2.5.2012 .....

..... Fojtíková Hana .....



<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Inulin je považován za vlákninu potravy z důvodu jeho rezistence vůči působení enzymů lidského trávicího ústrojí. Souvislost mezi hodnotou příjmu vlákniny a rizikem výskytu rakoviny tlustého střeva je sledována v celosvětovém měřítku. Česká republika patří mezi země s nejvyšším výskytem rakoviny tlustého střeva a velmi nízkým průměrným příjmem vlákniny – asi 12 g/den, přičemž doporučená hodnota činí 25 – 30 g/den. V současné době se rozšiřuje výroba tzv. zdravých potravin, které jsou obohaceny vlákninou. Inulin patří mezi rozpustnou vlákninu, která je přidávána do masných a mléčných výrobků a také do dětských ovocných příkrmů. V práci byl sledován vliv přítomnosti různých koncentrací glukózy a sacharózy a působení vysoké teploty na obsah inulinu v dětské ovocné výživě.

**Klíčová slova:** inulin, enzymatická metoda, AOAC metoda, glukóza, sacharóza, dětská výživa

## **ABSTRACT**

Inulin is considered as dietary fiber by the reason of its resistance against to hydrolysis of enzymes in human gastrointestinal tract. The relationship between the intake of dietary fiber and the risk of occurrence of colorectal cancer is observed by various worldwide science institutions. The Czech Republic belongs to countries with the highest incidence of colorectal cancer and the low intake of dietary fiber – about 12 g per day, while the recommended value is 25 – 30 g/day. Recently is amplified the production of functional food with addition of dietary fiber. Inulin belongs between soluble fiber which is added into meat, dairy and fruit products. In this paper the influence of presence of different concentration of glucose and saccharose and high temperature effect on the inulin content in children fruit diet were established.

**Keywords:** inulin, enzymatic method, AOAC method, glucose, saccharose, children diet

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D. za neuvěřitelnou trpělivost, nespočet rad, ochotnou a obětavou pomoc při sestavování mé diplomové práce.

Společnosti Fruta Podivín, a.s. děkuji za poskytnutí ovocných dětských výživ a komerčního preparátu inulinu k prováděným analýzám.

Velké díky patří též mé rodině za její podporu při studiu a tvorbu zázemí.

Motto:

*„Vzdělání je bohatství, které člověku nikdo nevezme.“*

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. Odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 VLÁKNINA</b> .....	<b>12</b>
1.1 NEROZPUSTNÁ VLÁKNINA .....	13
1.2 ROZPUSTNÁ VLÁKNINA .....	13
1.3 VÝŽIVOVÁ DOPORUČENÍ .....	15
<b>2 CHARAKTERIZACE INULINU</b> .....	<b>18</b>
2.1 STRUKTURA INULINU .....	19
2.2 FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY INULINU .....	20
2.2.1 Prebiotický efekt inulinu v trávicím traktu .....	21
2.2.2 Adsorpce, vaznost iontů a žlučových kyselin na inulin .....	23
2.2.3 Vliv inulinu na vstřebávání minerálních látek .....	24
2.3 ZDROJE INULINU .....	24
2.3.1 Čekanka obecná ( <i>Cichorium intybus</i> ) .....	25
2.3.2 Topinambur hlíznatý ( <i>Helianthus tuberosus L.</i> ) .....	26
2.3.3 Artyčok zeleninový ( <i>Cynara scolymus</i> ) .....	27
2.4 VLASTNOSTI INULINU .....	28
2.4.1 Krystalizace inulinu .....	28
2.4.2 Tvorba inulinového gelu .....	29
2.4.3 Zvyšování viskozity roztoků .....	31
2.5 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ROZPUSTNOST INULINU .....	31
2.5.1 Teplota při zpracování inulinu .....	32
2.5.2 Množství sacharidů .....	32
2.5.3 Chemické prostředí .....	33
2.5.4 Stupeň polymerace inulinu .....	35
2.5.5 Koncentrace inulinu .....	35
2.6 VÝROBA INULINU .....	36
2.7 VYUŽITÍ INULINU .....	37
2.7.1 Možnosti využití inulinu do ovocných výživ .....	37
2.7.2 Možnosti využití inulinu do mléčných výrobků .....	37
2.7.3 Možnosti využití inulinu do pekařských výrobků .....	38
2.7.4 Možnosti využití inulinu do masných výrobků .....	38
<b>3 KOJENECKÁ VÝŽIVA DO 1 ROKU DÍTĚTE</b> .....	<b>39</b>
3.1 OBDOBÍ VÝHRADNĚ MLÉČNÉ VÝŽIVY .....	39
3.2 OBDOBÍ PŘECHODNÉ .....	40
3.2.1 Pokračovací mléka .....	40
3.2.2 Nemléčné příkrmy .....	40
3.2.3 Mléčné obilné kaše .....	41
3.3 OBDOBÍ SMÍŠENÉ STRAVY .....	41



<b>4</b>	<b>KOJENECKÁ VÝŽIVA ŘADY HAMÉ</b> .....	<b>42</b>
4.1	KOJENECKÉ OVOCNÉ VÝŽIVY .....	42
4.2	TECHNOLOGIE VÝROBY KOJENECKÝCH VÝŽIV .....	44
<b>5</b>	<b>METODY STANOVENÍ VLÁKNINY</b> .....	<b>45</b>
5.1	NEENZYMATICKO-GRAVIMETRICKÁ METODA.....	46
5.2	ENZYMATICKO-GRAVIMETRICKÁ METODA .....	46
5.3	ENZYMATICKO-CHEMICKÁ METODA.....	47
5.3.1	Stanovení inulinu enzymatickou metodou .....	47
5.3.2	Stanovení inulinu kapalinovou chromatografií (HPLC) .....	48
5.3.3	Stanovení inulinu ionexovou chromatografií (IEC).....	48
5.3.4	Stanovení inulinu v rostlinných materiálech Fruktan metodou (AOAC 999.03).....	48
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>METODIKA PRÁCE</b> .....	<b>52</b>
7.1	POUŽITÝ MATERIÁL.....	52
7.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	52
7.3	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	53
7.4	PŘÍPRAVA VZORKŮ .....	54
7.5	POSTUPY STANOVENÍ .....	56
7.5.1	Postup pro stanovení inulinu Total dietary fibre (TDF metoda).....	56
7.5.2	Postup stanovení pro metoda Fruktan metodou (AOAC 999.03) .....	59
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE</b> .....	<b>61</b>
8.1	OBSAH INULINU POMOCÍ TDF METODA (TOTAL DIETARY FIBRE) .....	61
8.1.1	Vliv teploty a přísad sacharidů .....	61
8.1.1.1	Nerozpustná vláknina .....	61
8.1.1.2	Rozpustná vláknina.....	63
8.2	OBSAH INULINU POMOCÍ METODY FRUKTAN METODA (AOAC 999.03) .....	64
8.2.1	Ověření stability barevného komplexu .....	64
8.2.2	Vliv teploty na obsah inulinu .....	65
8.2.3	Vliv přísad sacharidů na obsah inulinu.....	67
8.2.4	Synergický účinek teploty a přísad sacharidů na obsah inulinu .....	68
8.2.5	Srovnání vlivu přísad sacharidů a synergického účinku teploty a přísad sacharidů na obsah inulinu .....	70
	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>72</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>74</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>85</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>86</b>
	<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>87</b>

## ÚVOD

Příjem vlákniny je zejména v západních zemích velmi nízký a nedosahuje doporučených hodnot. Z tohoto důvodu dochází k inovaci potravin, které jsou obohaceny různými složkami, které zvyšují jejich nutriční hodnotu nebo mají pozitivní účinky na lidské zdraví. Pro obohacení potravin vlákninou, s cílem zvýšit její příjem v jídelníčku člověka, je používán inulin.

Inulin je fruktan, složený z fruktózových jednotek spojených  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) vazbami se stupněm polymerace v rozmezí 2 – 70 molekul. Jeho významným zdrojem jsou kořeny čekanky obecné nebo topinamburu hlíznatého. Je nasládlé chuti a je řazen mezi rozpustnou vlákninu. Má nespočet příznivých účinků na lidský organizmus. Stabilizuje hladinu glukózy v krvi a snižuje hladinu cholesterolu. Ovlivňuje střevní mikroflóru, kdy v tlustém střevě je fermentován činností střevních bakterií na krátké mastné kyseliny, které působí na střevní buňku protektivně. Střevní flóra je pozitivně ovlivněna podporou růstu bakterií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které vykazují tzv. prebiotický efekt.

Inulin je především využíván v potravinářském průmyslu.

Inulin je přidáván do mléčných výrobků a ovocných výživ, kde slouží jako tuková náhražka, která přispívá ke zvýšení krémovitosti a lahodnosti konečného výrobku. Po přidavku do pekařských výrobků je zodpovědný za zvýšení křehkosti a prodloužení trvanlivosti výrobků. Do masných výrobků je inulin přidáván z důvodu zisku jemnější a šťavnatější konzistence s lepší stravitelností. Je také využíván do výrobků pro diabetiky.

Ve všech potravinách, které jsou označovány jako zdroj vlákniny, je deklarován obsah vlákniny alespoň 3 g na 100 g výrobku.

Vlastnosti inulinu jsou dány jeho chemickou a fyzikální strukturou, které následně mají vliv na kvalitu finálních výrobků. Jednou z nejdůležitějších vlastností inulinu je jeho rozpustnost, která je ovlivněna zejména působením teplot a přidavkem dalších složek. Proto dochází při technologickém zpracování kojeneckých výživ ke snížení jeho obsahu ve finálním výrobku.

Cílem této práce bylo zvolit vhodnou metodu pro stanovení inulinu v ovocných výživách a zjistit vliv různých koncentrací sacharózy, glukózy a fruktózy na rozpustnost inulinu v dětské ovocné výživě a také teplotní účinek na rozpustnost inulinu, které ovlivňují koncentraci inulinu ve finálním výrobku.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 VLÁKNINA

Pojem „dietní vláknina“ poprvé použil v roce 1953 Hispley jako označení pro soubor nestravitelných složek izolovaných z buněčných stěn rostlin, který poskytoval ochranný účinek proti toxémii během těhotenství [1, 2, 3]. Její skutečné působení bylo stanoveno v roce 1970 vědeckými pracovníky, kteří zkoumali vliv stravy na výskyt chronických onemocnění, zejména funkci polysacharidů v potravinách [1]. V roce 1972 všechny poznatky o vláknině sepsal Trowell, který pod pojmem vláknina potravy označil zbytky rostlinných buněčných stěn neštěpitelných lidskými trávicími enzymy. Tato definice byla v roce 1976 rozšířena o látky vyskytující se i mimo buněčnou stěnu (některé zásobní polysacharidy a látky vylučované v místech porušené struktury rostlinných pletiv – pryskyřice a slizy) [2]. Za více než 20 let bylo několika studii zjištěno, že tyto látky se mohou podílet na regulaci gastrointestinální motility (pohyby vegetativního systému realizované hladkým svalstvem [4]), mají pozitivní vliv na metabolismus glukózy a lipidů, podporují rychlost vzniku stolice, stimulují bakteriální metabolickou aktivitu a detoxikaci tlustého střeva a neporušenost střevní sliznice [1, 5, 6].

V současné době je možné vlákninu definovat podle vyhlášky č. 330/2009 Sb. [7] jako polysacharidy s třemi nebo více monomerními jednotkami, které nejsou tráveny ani vstřebávány v tenkém střevě člověka a náleží do skupin:

1. jedlých polysacharidů, které se vyskytují přirozeně v přijímané potravě:
2. jedlých polysacharidů, které byly získány z potravních surovin fyzikálními, enzymatickými nebo chemickými prostředky a které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky, nebo
3. jedlých polysacharidů, které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky.

Vláknina je tedy přirozená nestravitelná součást stravy. Jedná se o požitelné části převážně rostlinných polysacharidů, které jsou rezistentní vůči trávení a absorpci v lidském tenkém střevě a které jsou částečně nebo komplexně fermentovatelné v tlustém střevě [8]. Vláknina má velké množství příznivých efektů na správnou funkci zažívacího traktu, ovlivňuje imunitu podporou střevních funkcí a eubiózy [1, 9]. Vláknina napomáhá snižovat příjem energie rychlým navozením procesu syčení, který je dán dobou trvání jedení a množstvím snědené porce a sytostí, což je stav, který brání dalšímu příjmu potravy.

Přídavkem vlákniny do potravin se mění jejich chuť i textura a zvyšuje se jejich objem, tím se sníží množství požitých potravin a energetická vydatnost potravy [10].

Potraviny obsahují různé typy vlákniny, jejichž zdravotní účinky se liší. Z hlediska rozpustnosti je možné vlákninu rozdělit na [11, 12].

- Nerozpustnou
- Rozpustnou

### 1.1 Nerozpustná vláknina

Nerozpustná vláknina je hrubá hmota, která tvoří pevnou strukturu rostlin, je nerozpustná ve vodě, je neviskózní a není fermentována v trávicím ústrojí člověka [1, 3, 13].

#### Funkce:

Nerozpustná vláknina vstřebává vodu jen málo a zvětšuje objem hmoty ve střevech. V žaludku navozuje pocit sytosti, zlepšuje střevní peristaltiku, ve střevě působí proti zácpě [1, 3, 11, 13].

Mezi nerozpustnou vlákninu se řadí hemicelulózy, celulóza a lignin [3]. Nerozpustná vláknina tvoří přibližně 75 % vlákniny v potravinách [14].

#### Zdroje:

Nejvýznamnějšími zdroji nerozpustné vlákniny jsou pšeničné otruby, zelenina (brokolice, cibule, česnek, kukuřice a fazolové lusky), celozrnné výrobky a luštěniny (čočka, fazole) [3, 13].

### 1.2 Rozpustná vláknina

Rozpustná vláknina je označována jako měkká vláknina. Má schopnost vstřebávat vodu, velmi snadno bobtná. Po podání tato vláknina okamžitě mnohonásobně zvětšuje svůj objem. Z tohoto důvodu je při jejím podání velmi důležitý dostatečný přísun tekutin. V tlustém střevě je střevními bakteriemi fermentována [13, 15].

#### Funkce:

Rozpustná vláknina příznivě ovlivňuje metabolismus cukrů a tuků – snižuje hladinu cholesterolu nebo stabilizuje hladinu glukózy v krvi [15, 16]. Dále pak stimuluje peristaltiku střev, zpomaluje vyprazdňování střev a zředí stolicí [3].

Mezi rozpustnou vlákninu se řadí část hemicelulóz, které jsou obsažené v kukuřici a pšenici, pektin v ovoci, rostlinné slizy, guar, inulin, agar a karagenany mořských řas [3, 13].

Zdroje:

Rozpustná vláknina je obsažena v ovesných vločkách, ječmeni, fazolích spolu s pektinem a gumou guar, mohou být také ve směsích přidávaných do potravin [11, 12, 16]

Ve většině potravin je vláknina přítomná v rozpustné i nerozpustné formě [14]. V potravinách je většinou vláknina přítomna buď v přirozené formě jako součást potravin rostlinného původu nebo jako doplněk potravin, které mohou být použity s koncentrací nepřevyšující 5 % jako přísady nebo přídatné látky s koncentrací vlákniny nad 5 % [1].

V současnosti existují tři pojetí definice vlákniny, které vychází z různých hledisek:

- z botanického hlediska je vláknina definována hlavně jako složky rostlinných buněčných stěn,
- z chemického hlediska je vláknina definována na základě použitých metod při jejím stanovení v potravinách, většinou u neškrobových polysacharidů (Tabulka 1),
- z fyziologického hlediska termín vláknina zahrnuje i další uhlovodíkové polymery, které nejsou stravitelné a v přijímané potravě se přirozeně nevyskytují. Látky musí vykazovat jeden nebo více prospěšných fyziologických účinků, mezi které patří např.: zkrácení doby průchodu střevy, zvýšení objemu stolice, prebiotický efekt, apod. [1].

Tabulka 1: Složky vlákniny podle metod jejího stanovení – (A) neutrálně-detergentní vláknina, acido-detergentní vláknina, (B) metoda stanovení podle Trowella, (C) metoda stanovení podle Proskyho, (D) metoda stanovení neškrobových polysacharidů [12]

nestavitelné nutrienty						
nestavitelné sacharidy						
komplexní sacharidy				oligosacharidy	mono- a disacharidy #	syntetické a modifikované sacharidy #
hrubá vláknina (A)		dietační vláknina (B)				
dietační vláknina (C)						
nesacharidové látky	neškrobové polysacharidy (D)		rezistentní škrob			
	nerozpustná vláknina	rozpustná vláknina				
fytyáty, ligniny*, saponiny, taniny, některé lipidy a bílkoviny	celulóza, hemicelulóza B	hemicelulóza A, pektiny, gumy, muciny	mleté obilí, škrob z brambor a banánů, považovaný škrob	frukto- a galakto-oligosacharidy (FOS, GOS), inulin	laktóza, fruktóza, laktulóza	glukózové polymery, maltodextriny, modifikovaný škrob
zdroje						
cereálie, buněčné stěny	cereálie, otruby, zelenina	zelenina, ovoce, luštěniny, oves	kukuřice, těstoviny, brambory, banány	čekanka, cibule, mateřské mléko, některé formule	mateřské mléko, formule, džusy, projímadla	průmyslově vyráběné potraviny

### 1.3 Výživová doporučení

Z důvodu rozmanitosti příznivých účinků při příjmu vlákniny ve stravě člověka je určení jejího množství ve stravě důležité [17]. Protože vláknina potravy nepatří mezi nutričně významné látky, nejsou pro ni stanoveny doporučené denní dávky, ale pouze doporučená množství. Podle WHO se tato doporučení pohybují v rozmezí 27 – 40 g/den. Vzhledem k různým stravovacím návykům jednotlivých států a možnostem různé dostupnosti potravin, které obsahují vlákninu, se skutečné příjmy vlákniny v různých zemích velmi liší [1].

Značnou rozdílnost v doporučeních lze vysvětlit zejména různými analytickými metodami při stanovování vlákniny [18].



V tabulce č. 2 je uveden pohled doporučených příjmů vlákniny ve vybraných státech. Doporučené denní příjmy se liší podle jednotlivých států. V některých státech je rozlišen příjem vlákniny pro ženy a muže, přičemž pro ženy jsou doporučovány nižší hodnoty než pro muže [1, 18].

*Tabulka 2: Doporučený příjem vlákniny v různých státech [19] (DF) – potravinová vláknina stanovená nedefinovanou metodou, (TDF) celková potravinová vláknina [20] (NSP) neškrobové polysacharidy [21]*

Krajina	Doporučený příjem	Druh vlákniny	Zdroj
Celý svět	27 – 40 g 16 – 24 g	TDF NSP	WHO
ČR	30 g	DF	—
Francie	25 – 30 g	DF	French gastroenterologist (nepublikované)
Belgie	26 – 38 g (muži) 19 – 28 g (ženy)	DF DF	National Council for Nutrition (neoficiálně)
Velká Británie	18 g	NSP	Department of Health Committee on Aspect of Food Policy, Department of Health Dietary Reference Values, report
Německo	30 g	DF	Germany Society of Nutrition
Itálie	19 g	TDF	National Nutrition Institute
USA	25 g/ 2000 kcal (průměr) 3 – 20 - ročních	DF	American Health Foundation
	0,5 g /1 kg hmotnosti nebo do 25 g/den (adolescenti)	DF	American Academy of Pediatrics
Japonsko	20 – 25 g	TDF	Ministry of Health and Welfare

V **ČR** je doporučován denní příjem vlákniny pro dospělé 30 g, z toho nejméně 6 g by měla činit vláknina rozpustná, přičemž poměr nerozpustné a rozpustné složky vlákniny by měl být 3 : 1 [22].

V České republice z průzkumu Centra výživy Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze bylo zjištěno, že u 98 % respondentů je příjem vlákniny nižší než 25 g na den, u 1,38 % respondentů činí denní dávka vlákniny 25 – 60 g a denní dávku vlákniny nad 30 g přijímá jen 0,6 % respondentů, přičemž doporučená hodnota denního příjmu je 30 g [22, 23].

Americká potravní asociace (APA) doporučuje alespoň 20 – 35 g denně pro zdravého dospělého člověka v závislosti na příjmu energie (např. příjem 8400 kJ ve stravě by měl zahrnovat 25 g vlákniny). Doporučený příjem vlákniny pro děti je podle této asociace možné vypočítat taky, že k věku dítěte je přičteno číslo 5 (např. čtyřleté dítě by mělo sníst alespoň 9 g vlákniny denně) [22].

Na trhu jsou dostupné různé přípravky, které obsahují směs různých typů vlákniny, která je podobná té, která je konzumována v běžné stravě. Jedná se o směs oligofruktózy, inulinu, arabské gumy, sojových polysacharidů nebo rezistentního škrobu (škroby, které odolávají trávení a dostávají se do tlustého střeva, kde působí jako dietní vláknina) [24] [1]. Tyto přípravky mohou být z důvodu rovnovážného poměru těchto vláknin vhodnější.

Nařízení evropského parlamentu a rady č. 1924/2006 [25] stanovuje, že výrobek, u kterého výrobce deklaruje obsah vlákniny (např. výrobek obsahuje vlákninu) musí tento výrobek obsahovat ve 100 g minimálně **3 g** vlákniny [12].

## 2 CHARAKTERIZACE INULINU

Inulin a levany (fleiny) patří do skupiny fruktanů, což jsou polymery a oligomery D-fruktózy [3].

Inulin je polymer, který je složen z lineárních řetězců fruktózy. Je to jemný bílý prášek, bez zápachu, který vykazuje sladkou chuť. Není štěpen amylázou, proto ho lidský organismus nedokáže využít. Vzhledem k jeho rozpustnosti je řazen mezi rozpustnou vlákninu [26, 27]. Avšak z důvodu jeho prebiotických účinků je hojně využíván v lidské výživě, zejména v západních zemích je součástí mnoha pokrmů [3, 28].

Levany jsou větvené polymery, které jsou syntetizovány např. bakteriemi *Bacillus subtilis*. Podle některých výzkumů, které byly provedeny na potkanech, jsou levany schopny snižovat hladinu cholesterolu v krvi [3, 29].

Inulin byl poprvé izolován v roce 1804 z omanu pravého (*Inula helenium*) německým vědcem Rosem [17, 27]. Byl znám pod pojmy alantín, meniantín, sinanterin, sinisterin a dahlin [27].



Obrázek 1: Oman pravý (*Inula helenium*) [25]

Názvem inulin byl pojmenován Thomsonem až v roce 1818 [17]. Jedním z průkopníků ve výzkumech fruktanů byl německý rostlinný fyziolog Julius Sachs, který objevil inulin v hlízách jirín, artyčoku jeruzalémském (*Helianthus tuberosus L.*). První fyziologické účinky inulinu objevil Külz v roce 1874, který zpozoroval, že moč diabetiků konzumujících denně 50 – 120 g inulinu, neobsahuje žádné jednoduché sacharidy. Tento

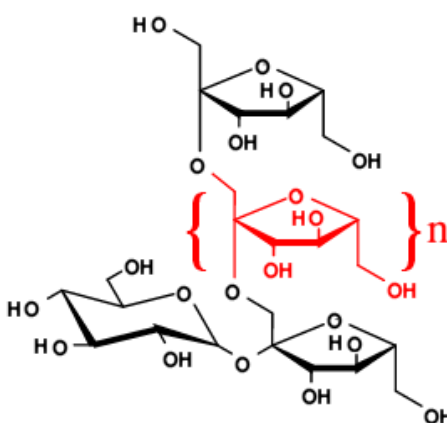
poznatek je dodnes využíván v lékařství při diagnostickém vyšetření ledvin. Na počátku 20. století se účinky inulinu staly předmětem dalších vědeckých studií [17, 27].

## 2.1 Struktura inulinu

Přírodní inulin je polydisperzní oligosacharid, který může být složen buď z  $\alpha$ -D-glukopyranozyl-[- $\beta$ -D-fruktofuranozyl] $_{n-1}$ - $\beta$ -D-fruktofuranozid ( $G_{py}F_n$ ) nebo  $\beta$ -D-fruktopyranozyl-[- $\beta$ -D-fruktofuranozyl] $_{n-1}$ - $\beta$ -D-fruktofuranozid ( $F_n$ ). Přičemž fruktozylglukóza je vždy vázán vazbou  $\beta$  (2 $\leftrightarrow$ 1), jako u sacharózy a fruktozyl-fruktóza je vázán vazbou  $\beta$  (1 $\leftarrow$ 2) [30].

Přírodní inulin v čekance je tvořen směsí oligomerů a polymerů se stupněm polymerace (DP) od 2 – 70 molekul s průměrným počtem ( $DP_{av}$ ) 12 fruktózových jednotek [24, 28, 29, 30, 107]. Přibližně 10 % fruktanových řetězců v přírodním inulinu má  $DP_{av}$  v rozmezí  $F_2$  a  $GF_4$  [30]. Na konci molekuly může být přítomná glukóza [24, 28, 29, 30]. Jedná se o lineární molekulu s minimálním větvením v rozsahu 1 – 2 %. Stupeň polymerace a rozsah větvení však ovlivňuje funkčnost inulinu [29].

Syntetický inulin se liší od přírodního inulinu stupněm polymerace, který se pohybuje od 2 – 4 molekul s průměrným počtem 3,6 fruktózových jednotek nebo všechny oligomery jsou typu  $G_{py}F_n$ . V potravinářském průmyslu pomocí separačních technologií je vyráběn inulin s dlouhými řetězci s DP 10 – 60 jednotek s  $DP_{av}$  25 fruktózových jednotek [30].



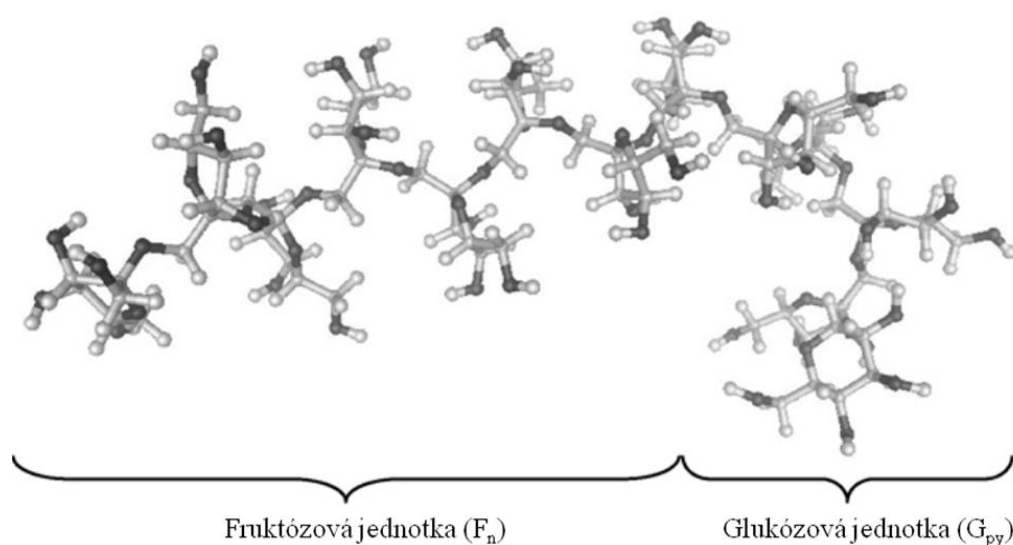
Obrázek 2: Chemická struktura inulinu [31]

Částečnou enzymovou hydrolýzou inulinu přirozenými endoglykozidázami rostlin, tzv. *endo-inulinázou*, vznikají oligofruktany [32]. Ty mohou být získány také enzymatickou

syntézou za použití funkčního enzymu  $\beta$ -fruktozidázy získanou z plísně *Aspergillus niger*. Oligofruktany jsou směsí typu  $G_{py}F_n$  a nebo typu  $F_n$ , se DP v rozmezí 2 – 7, které vznikají hydrolyzou glukózy [30].

Produktem úplné hydrolyzy inulinu jsou glukóza a fruktóza [32].

Ve vztahu k inulinu je často používán termín fruktooligosacharidy (FOS), což je termín pro krátké řetězce inulinu syntetizované ze sacharózy. Oligofruktany a FOS jsou synonyma pro fruktany, které se liší stupněm polymerace. Oligofruktóza má polymerační stupeň 2 – 8, FOS mají 2 – 4 [30, 32].



Obrázek 3: Prostorová struktura inulinu [33]

## 2.2 Fyziologické účinky inulinu

Inulin vykazuje značné množství příznivých účinků na lidský organizmus [34].

Energetická hodnota inulinu je 1,6 kJ, má tedy třetinovou energetickou hodnotu ve srovnání se sacharózou, proto příznivě působí na hladinu glykemického indexu a snižuje hladinu cholesterolu v krvi [1].

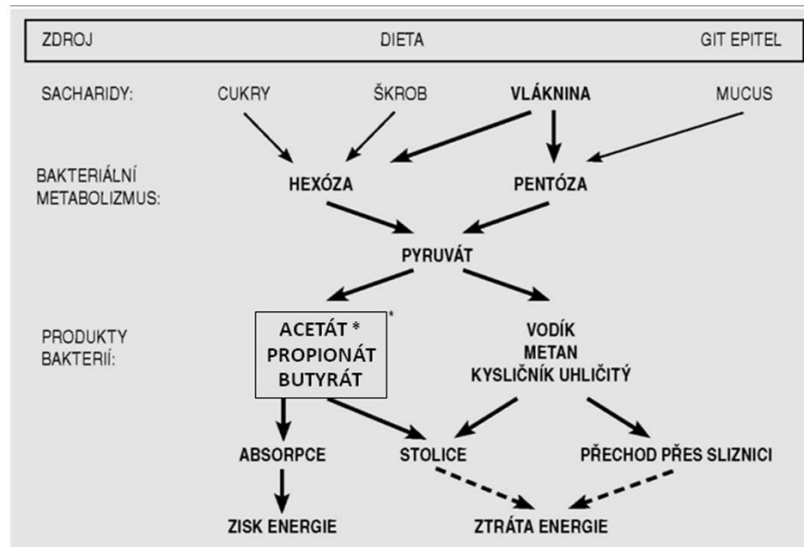
Ovlivňuje také střevní mikroflóru a podporuje růst bakterií v tlustém střevě, zamezuje růst patogenních nebo potenciálně patogenních mikrobů [12]. Inulin zlepšuje vstřebávání vápníku a hořčíku z potravin zejména v dospívajícím věku [35, 36]. Celkově se podílí na zlepšení imunitního systému člověka [37].

### 2.2.1 Prebiotický efekt inulinu v trávicím traktu

Rozpustná vláknina svou schopností poutat vodu vytváří viskózní roztoky a podle svého složení různým způsobem ovlivňuje proces trávení. Rozpustná, někdy označována jako viskózní, vláknina způsobuje zpomalení vyprazdňování žaludku, mechanicky brání přístupu enzymů k živinám, zhoršuje difúzi produktů trávení k povrchu střevní sliznice a tím mění jejich absorpci, prodlužuje dobu kontaktu tuku se střevní stěnou a dobu pasáže tráveniny tenkým střevem. Viskózní vláknina snižuje míru absorpce a snižuje postprandiální glykémii a reaktivní vzestup inzulinémie [3]. Postprandiální glykémie znamená změnu hladiny glukózy v krvi po jídle, jejíž vzestup začíná s určitým odstupem od začátku jídla, přičemž maxima dosahuje mezi 30. a 60. minutou po jídle a v dalších hodinách se vrací k původním hodnotám [38].

Inulin je považován za rozpustnou vlákninu ve vodě a je nazýván také jako fruktózový škrob. Inulin nepodléhá trávení v žaludku ani v tenkém střevě [39]. Trávicí systém člověka neobsahuje enzym *inulázu*, který štěpí inulin v tenkém střevě. Z tohoto důvodu se inulin dostává do tlustého střeva, kde je téměř stoprocentně fermentován bakteriální činností střevní mikroflóry na krátké řetězce organických kyselin [3], které působí protektivně (mají ochranný účinek) [40] na buňky střevní sliznice, ale portální žilou (vzniká spojením žil vedoucích krev ze sleziny a střev do jater) [41] se mohou přímo dostat do jater, kde mohou být energeticky využity. Konečnými produkty fermentace jsou krátké mastné kyseliny, především acetát, propionát a butyrát a také plyny jako je vodík, oxid uhličitý a v některých případech metan [1].

Krátké mastné kyseliny (SCFA) mohou představovat 10 – 20 % energetických potřeb člověka [9]. Přičemž acetát a propionát jsou absorbovány sliznicí tlustého střeva a metabolizovány v játrech. Propionát se následně podílí na metabolismu lipidů, cholesterolu a acetát se účastní zpětné resorpce vody a elektrolytů. Butyrát je téměř zcela metabolizován působením kolonocytů a podílí se na regulaci růstu a diferenciaci kolonocytů a rozvoji imunity tlustého střeva. Ve studiích *in vitro* bylo zjištěno, že butyrát může inhibovat rychlost přeměny nádorových buněk a normalizovat jejich buněčnou diferenciaci [34, 42].



Obrázek 4: Produkce MK s krátkým řetězcem\* [12]

Vznik SCFA v tlustém střevě navozuje kyselé prostředí, které brání růstu patogenních (hnilobných) anaerobů a naopak podporuje růst nepatogenních (kvasných) bakterií, jako jsou bifidobakterie a laktobacily, čímž je podporována mikrobiální rovnováha (eubióza), která zabraňuje dysmikrobii a napomáhá modulaci imunity [9].

Střevní flóra je pozitivně ovlivněna podporou růstu a aktivity užitečných bakterií v tlustém střevě, které vykazují tzv. prebiotický efekt [43, 44].

Prebiotické účinky inulinu závisí jak na složení střevní mikroflóry každého jedince, tak na stupni polymerace fruktózových řetězců [28].

Tenké střevo může plnit funkci zásobního orgánu, který zvolna uvolňuje glukózu do portálního oběhu. Málo stravitelné sacharidy (LDC) mají příznivé účinky na membránu střevní sliznice, tím že regulují účinky kolísajícího množství SCFA a zlepšují absorpci některých minerálních látek, především železa, vápníku a hořčíku [10, 39, 45].

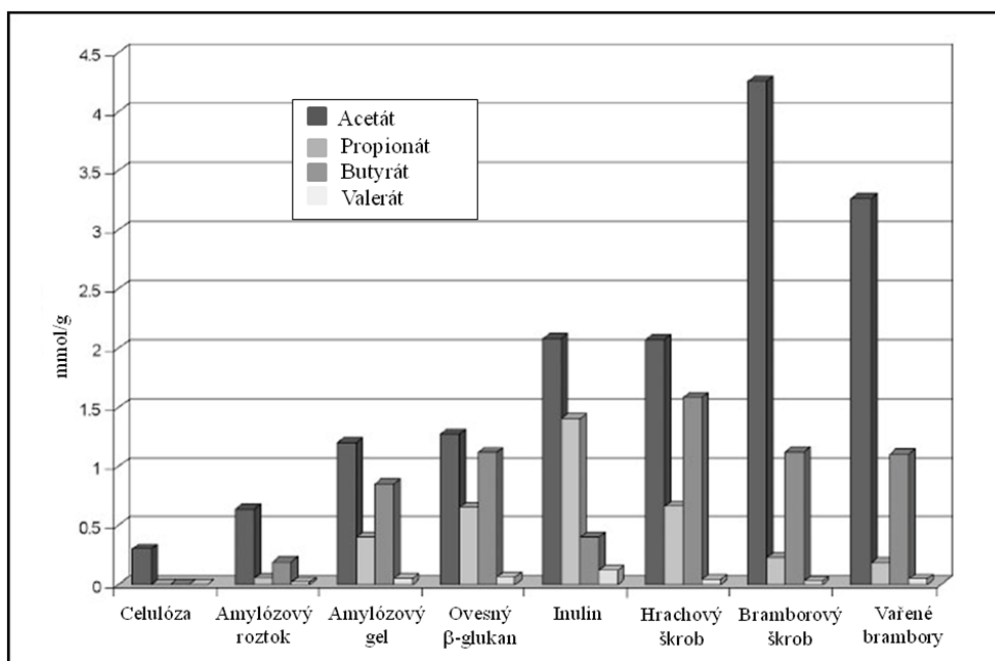
Příjem vlákniny ve formě ovoce, zeleniny a obilné vlákniny snižuje stravitelnost bílkovin a lipidů. U některých typů rozpustné vlákniny (vláknina řepy cukrovky, inulin) bylo zjištěno, že zvyšují u zdravých osob energetický výdej na rozdíl při příjmu málo stravitelných sacharidů (LCD) [10, 39, 46].

Studiem metabolismu inulinu v různých částech zažívacího ústrojí bylo zjištěno, že nízkoreťezcové fruktany se vyskytují ve větší míře v centrálních částech střev a inulin více v periferních oblastech střev. Bylo také zjištěno, že užívání směsi oligofruktóz a inulinu ve stravě pomáhá zvýšit efektivitu střev [28, 47].



Při zjišťování rozsahu fermentace inulinu s různými polymeračními stupni bylo metodou *in vitro* zjištěno, že délka řetězce inulinu má vliv na jeho fermentaci. Přičemž krátké řetězce jsou fermentovány rychle a dlouhé řetězce inulinu plynule. Rovněž bylo prokázáno, že příjmem inulinu s krátkými a dlouhými řetězci vznikne významně více acetátu a SCFA [24, 48].

Rozsah štěpení v tlustém střevě závisí také na druhu přijaté vlákniny, jejím tepelném zpracování a době průchodu tlustým střevem. Bylo zjištěno, že stupeň fermentace a koncentrace různých konečných produktů, zejména SCFA, vede ke změnám struktur a povahy jednotlivých složek přijaté vlákniny [3, 49].



Obrázek 5: Fermentace různých druhů vlákniny *in vitro* [3]

Na obrázku 6 jsou znázorněny rozdíly koncentrací jednotlivých produktů fermentací různých druhů vlákniny. Zatímco špatně fermentovatelnou celulózou je během fermentace produkováno velmi malé množství SCFA, fermentací inulinu, bramborového škrobu nebo vařených brambor je získáno vysoké množství acetátu, propionátu a butyrátu, které okyselují prostředí tlustého střeva a tím podporují růst střevní mikroflóry bifidobakterií [3].

### 2.2.2 Adsorpce, vaznost iontů a žlučových kyselin na inulin

Schopnost některých vláknin, adsorbovat nebo vázat žlučové kyseliny a fosfolipidy, byla zjištěna u vláknin, které ve své struktuře obsahují uronové nebo fenolové kyseliny, které

následně mohou zvýšit vylučování vyššího množství žlučových kyselin a cholesterolu stolicí [1].

Přesné mechanismy vázání žlučových kyselin nejsou známy, domněnky se opírají o názor, že příčinou může být přítomnost fenolických hydrofóbních vazeb ve struktuře vláknin a vznik iontových interakcí uronových kyselin [1].

### 2.2.3 Vliv inulinu na vstřebávání minerálních látek

Již dříve byl zkoumán vliv inulinu na zvýšení absorpce některých minerálních látek zejména vápníku, hořčíku a fosforu a stopových prvků především mědi, železa a zinku po příjmu inulinu [50].

Mechanismus zvýšení vstřebávání minerálních látek je způsoben rozsáhlou fermentací SCFA, která způsobuje okyselení střevního obsahu, zvýšení absorpční plochy střeva, následné zvýšení přístupnosti vápenato-vazebných proteinů v tlustém střevě, naopak potlačení kostní resorpce a prostřednictvím stimulace prospěšných komenzálních mikroorganismů dochází ke zvýšení vstřebání vápníku i jiných minerálních látek do enterocytů [50].

SCFA přímo přispívají k zvýšení absorpce Mg a Ca přes mechanismus kationtové výměny, přičemž SCFA v protonové formě jsou vstřebávány přes apikální (luminární) membránu, které přechází do intracelulárního prostředí buňky, kde je zvýšená hodnota  $H^+$ . Ty jsou vylučovány z buňky do lumenu střeva výměnou za  $Mg^{2+}$  nebo  $Ca^{2+}$  iontů [52]. Zvýšením osmotického efektu dochází k zvýšené rozpustnosti minerálních látek a následně k zlepšení pasivní difuze [51, 52]. Několika studiemi bylo prokázáno, že vstřebávání vápníku je zvýšeno v přítomnosti inulinu [51, 53, 54].

## 2.3 Zdroje inulinu

Inulin je v přírodě značně rozšířen v řadě rostlin a některých bakteriích. Je obsažen ve více než 1200 druzích trav a 3500 druzích kvetoucích rostlin z čeledi *Liliaceae* a 25000 druzích rostlin z čeledi *Asteraceae* [27]. Významným zdrojem inulinu jsou kořeny čekanky obecné (15 – 20 %), topinamburu hlíznatého (16 %) a květy artyčoku zeleninového (3 – 15 %). V menším množství je inulin přítomen v cibuli (1 – 5 %), česneku (4 – 12 %), banánu (0,2 %), pampelišce lékařské a omanu pravém [27, 55, 56, 57].

### 2.3.1 Čekanka obecná (*Cichorium intybus*)

Konzumní částí čekanky obecné jsou bílé až nažloutlé rychlené puky vypěstované z kořenů a sklizené v prvním roce této dvouleté rostliny. Čekankové puky jsou dobrým zdrojem minerálních látek, obsahují inulin a glykozid intybin, který jim dodává typickou jemnou a nahořklou chuť [58].

V čekance je inulin tvořen 3 – 60 monosacharidovými jednotkami fruktóz s průměrným polymeračním stupněm 10 jednotek fruktózy [56]. Obsah inulinu v čekance je proměnlivý, v závislosti na podmínkách vnějšího prostředí je ovlivněn místem pěstování. Množství inulinu v čekance kolísá v rozmezí 15 – 20 %. Průměrné výnosy čekanky v tunách na hektar se pohybují kolem 45 t na hektar [27].



Obrázek 6: Čekankové kořeny, čekankové květy a puky [59, 60, 61]

Čekanka je doporučována při jaterních nemocech, zlepšuje trávení a snižuje hladinu nežádoucího cholesterolu v krvi. Patří mezi lahůdkovou zeleninu, která se konzumuje jako čerstvý salát nebo se může vařit, dusit a smažit [58].

### 2.3.2 Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.)

Konzumní částí jsou oddenkové hlízy s červenou nebo bílou slupkou [58]. Mají vysoký obsah inulinu, který z topinamburu činí nízkoenergetickou dietní potravinu [62]. Hlízy obsahují až 16 % inulinu, proto se doporučují pro diabetiky a lidem při redukčních dietách [15].



Obrázek 7: Nať, květ a kořen topinamburu hlíznatého[63, 64]

Pravidelná konzumace topinamburu působí preventivně proti revmatizmu, mírným žlučovým kolikám a má prokazatelný protiastmatický účinek. Hlízy lze jíst syrové nebo tepelně upravené. V současnosti je topinambur vyhledávaná zelenina v restauracích v zahraničí, např. Francii, Německu, Rakousku [62].



### 2.3.3 Artyčok zeleninový (*Cynara scolymus*)

Jedlé části artyčoku jsou velké nezralé květy, které jsou sklizeny v raných fázích jejich růstu. Květy představují 30 – 40 % hmotnosti celé rostliny v závislosti na odrůdě artyčoku a období sklizně. Listy, stonky a kořeny jsou využívány jako surovina pro výrobu inulinu nebo ke krmení hospodářských zvířat. Artyčok je bohatým zdrojem nejenom inulinu, jehož obsah se pohybuje ve výši 3 – 15 % a molekuly dosahují stupně polymerace až 200 jednotek fruktózy, ale také bioaktivních fenolických sloučenin, vlákniny a minerálních látek [27, 65].



Obrázek 8: Květ, úbor a listová růžice artyčoku zeleninového [61, 66, 67]

Jeho příznivé účinky na organizmus jsou známy již od 4. století před naším letopočtem. Extrakty z listů artyčoku jsou již dlouhá léta využívány v lidovém léčitelství na pročistění jater, na podporu tvorby a vylučování žluči i trávicích enzymů. Má i účinky protialergické, což se uplatňuje při léčbě ekzémů. Artyčoky představují důležitou součást především středomořské stravy. Středomořské státy, jako je Itálie, Španělsko, Francie a Řecko, mají roční produkci artyčoku až 770 000 tun, což představuje více než 60 % celkové světové produkce [65].

## 2.4 Vlastnosti inulinu

Různorodost chemického složení vlákniny je hlavním důvodem jejich odlišných funkčních vlastností v potravinách [14]. Funkční vlastnosti vlákniny ovlivňují následně technologické vlastnosti během zpracování výrobku a také kvalitu finálních výrobků [3].

Vlastnosti inulinu závisí na:

- chemické struktury, která zahrnuje přítomnost polymerních, hydrofilních a hydrofóbních oblastí v molekule, dále pak náboje polymerů a počet amorfních nebo krystalických oblastí;
- na fyzikální struktury, která je dána porézností a velikostí částic;
- na fyzikálně – chemickém prostředí, ve kterém je inulin rozpouštěn, do kterého zahrnuje pH, teplotu, přítomnost iontů a dalších molekul; fyzikálně chemické vlastnosti inulinu se podílí také na jeho fyziologických účincích [1].

Rozdílné vlastnosti inulinu jsou dány množstvím hexóz, pentóz a uronových kyselin v řetězci, přítomností funkčních skupin a jejich umístěním. V menší míře jsou vlastnosti inulinu ovlivněny povrchovou aktivitou, přítomností iontových a nekovalentních vazeb, umístěním glykozidických vazeb a stupněm větvení [14].

### 2.4.1 Krystalizace inulinu

Inulin může tvořit dvě struktury, které vytváří orthorhombickou (kosočtverečná) strukturu. Obě struktury ovlivňují technologické využití inulinu.

Krystalická struktura inulinu, která má pravidelnou vnitřní strukturu, může tvořit pravidelné krystaly, na rozdíl od amorfni struktury inulinu, která je kineticky nerovnovážnou strukturou. Krystalizace inulinu může ovlivnit technologické vlastnosti výrobků, do nichž je přidáván jako vláknina [33].

- Krystalická polymorfní struktura inulinu

Krystalická polymorfní struktura je monohydratovaná forma. Bylo zjištěno, že inulin ve formě krystalu, který je získán z velmi zředěných roztoků, má převážně vysokou molekulární hmotnost z důvodu rozpojení krátkých a dlouhých řetězců inulinu [33].

- Amorfnní pevná struktura inulinu

Amorfnní pevná struktura je obvykle tvořena rychlým zchlazením kapaliny na určitou teplotu, takže molekuly nemají dostatek času na vytvoření krystalické struktury a jsou uspořádány do své původní podoby. Vzniklá amorfnní pevná látka je kapalina v pevné fázi [33].

Inulin v podobě amorfnní látky je schopen se fyzikálně měnit pro docílení rovnovážného termodynamického stavu, tzn. entalpické rovnováhy nebo krystalizace, a to zejména v závislosti na vlhkosti inulinu a tzv. teplotě skelného přechodu ( $T_g$ ) [33]. Při teplotě skelného přechodu dochází k výrazným strukturním změnám – k přechodu látky z pevného do pružného (kaučukovitého) stavu. Tyto změny jsou doprovázeny makroskopickými změnami pevnosti a nejvíce je ovlivněna ohebnost řetězce polymeru. Jako teplota skelného přechodu u polymerů je brána teplota pokojová [68].

Podle studií [27, 33, 69] je vliv přítomné vody v inulinu na jeho krystalizaci a na  $T_g$  amorfnního inulinu rozdělen do 3 zón, přičemž bylo zjištěno, že teplota skelného přechodu u inulinových vzorků se snižuje s rostoucí vlhkostí inulinu [27, 69].

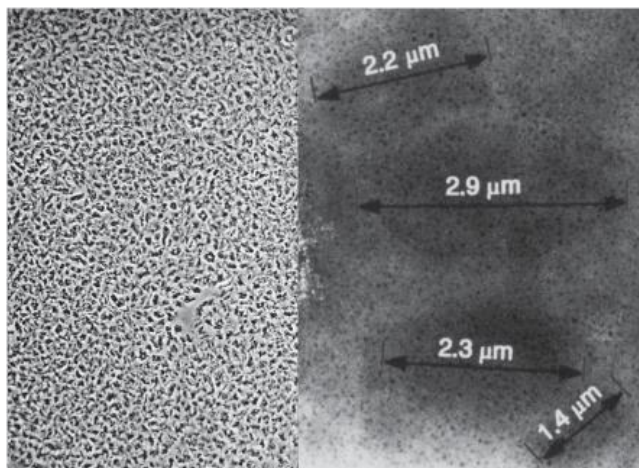
Přítomný obsah vody v inulinovém prášku je důležitý pro následné využití inulinu a pro jeho skladování [33].

#### **2.4.2 Tvorba inulinového gelu**

Důležitou vlastností inulinu je schopnost tvořit gel. Jeho gelující schopnost ovlivňuje technologické vlastnosti finálních výrobků, zejména jejich konzistenci a pevnost [45, 70].

Inulinové gely zapouzdřují vodu a další složky z roztoků [3, 33, 71]. Tyto inulinové gely vytvářejí trojrozměrnou síť z hydratovaných inulinových částic ve vodě, které vytváří síť malých krystalků, které mají průměr 1 – 3  $\mu\text{m}$ , což je patrné z obrázku č. 10 [3, 27, 71]. Optimální pevnosti gelu je dosaženo asi po 24 hodinách [27].





Obrázek 9: Elektronová mikroskopie hydratovaného inulinu [27]

Charakter tvorby gelu inulinu může být ovlivněn:

- Délkou řetězce inulinu – na tvorbě gelu se podílí pouze molekuly, které jsou složeny z více než 10 jednotek fruktózy a spolu tvoří pevnější strukturu inulinového gelu. Menší molekuly zůstávají rozpuštěny. Inulin s vyšší délkou řetězce tedy tvoří pevnější inulinové gely [71].
- Koncentrací inulinu – pevnost gelu se zvyšuje s rostoucí koncentrací inulinu [71]. Přibližně 15 % je minimální koncentrace nutná k tvorbě gelu [3, 71]. Při koncentracích vyšších než 15 % vytváří inulin krémové a gelové pasty. V menších koncentracích je schopen inulin zahřátím a následným zchlazením roztoků vytvářet suspenze [29].
- Přídavkem další složky, jako je cukr, nebo maltodextriny. Tyto látky pevnost inulinového gelu zvyšují [3].
- Teplotou – maximální pevnosti gelu může být dosaženo, pokud během výrobního procesu dojde k hydrataci všech molekul inulinu, s výjimkou několika krystalů, které jsou zodpovědné za zahájení želírovacího procesu; míra hydratace je ovlivněna nejenom teplotou např. při přípravě gelu nebo způsobem zpracování, ale také koncentrací inulinu [71].
- Přítomnost iontů, hodnota pH, reologické vlastnosti výrobku (pevnost a měkkost) patří mezi další faktory ovlivňující tvorbu gelu [3].

Příprava gelu z inulinu je jednoduchá. Inulin je rozpuštěn v horké vodě. Během chlazení dochází k tvorbě sraženin a krystalizaci. Míra vysrážení a krystalizace částic inulinu je ovlivněna teplotou, jeho koncentrací a délkou chlazení [71].

### 2.4.3 Zvyšování viskozity roztoků

Viskozita inulinu je dána chemickou strukturou a vzájemnými vazbami mezi molekulami v řetězci. Viskozita roztoků inulinu je zvyšována jeho molekulární hmotností. Dlouhé polymerní řetězce inulinu vážou větší množství vody a tím zvyšují viskozitu roztoku, proto jsou používány k zahušťování potravin, naopak polymery inulinu s krátkými řetězci nebo vysoce větvené polymery snižují viskozitu [1].

Viskozita inulinu je využívána k dosažení změny textury a zlepšení prodejnosti potravin z důvodu prospěšnosti pro zdraví [3].

Na různé viskozitě inulinu se podílí i teplota, iontová koncentrace, pH a asociace (shlukování) s bílkovinami [1].

## 2.5 Faktory ovlivňující rozpustnost inulinu

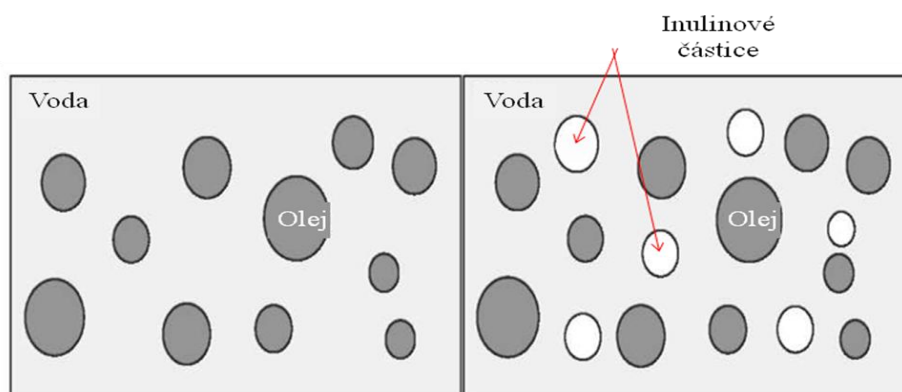
Rozpustnost polysacharidů a jejich další funkční vlastnosti závisí na jejich struktuře molekul [3].

Lineární polysacharidy se rozpouštějí hůře nebo jsou zcela nerozpustné, naopak vysoce větvené polysacharidy jsou lépe rozpustné. Rozpustnost vlákniny je zvýšena nejenom větším větvením polysacharidů, ale i přítomností ionizujících skupin, jako jsou  $COOH^-$  nebo  $SO_4^{-2}$  [3, 72].

Pro rozpustnou vlákninu, kde je řazen i inulin, jsou klíčovými vlastnostmi rozpustnost, viskozita, schopnost zadržování vody, vaznost a absorpční schopnost a velikost částic. Na charakteru inulinu potom závisí také jeho fermentace za vzniku produktů, které ovlivňují střevní mikroflóru [1].

### 2.5.1 Teplota při zpracování inulinu

Teplota je důležitým faktorem, který ovlivňuje rozpustnost inulinu ve vodě. Při teplotách v rozmezí 20 – 25 °C je inulin špatně rozpustný ve vodě (Obrázek 10) [69, 73].



Obrázek 10: Chování inulinových částic s olejem ve vodě [27]

Při teplotách nad 50 °C se rozpustnost významně zvyšuje, přičemž velký nárůst rozpustnosti inulinu byl zaznamenán při teplotách v rozmezí 60 – 100 °C, při teplotě 90 °C rozpustnost inulinu se zvyšuje až o 34 % [69, 72].

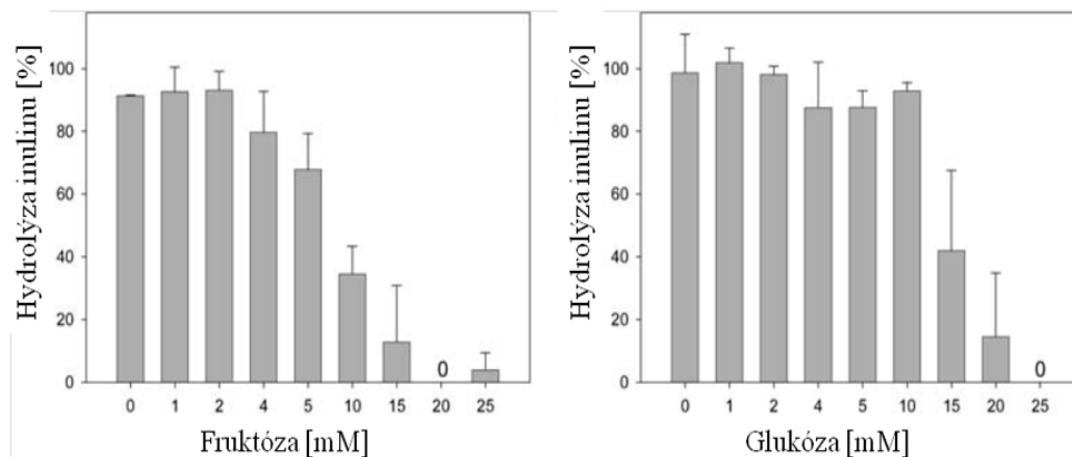
Při rozpouštění inulinu při teplotě 60 – 70 °C a koncentraci 15 – 20 % je již obtížné určit pomocí vizuálního posouzení, zda se jedná o roztok, či suspenzi [69].

Inulin je stabilní až do teplot 140 °C v rozpouštědlech v blízkosti neutrálního pH, může být proto zpracováván ve všech potravinářských aplikacích. Rozkládá se při teplotách nad 140 °C. V práškové formě je inulin tepelně stabilnější než v podobě sirupu [74].

### 2.5.2 Množství sacharidů

Inulin může ve vodných roztocích nebo potravinách podléhat větší hydrolyze v přítomnosti sacharidů [75].

Hydrolyza inulinu může být negativně ovlivněna obsahem vyššího množství glukózy nebo fruktózy ve vzorcích, které způsobují malou výtěžnost inulinu – pouze 23 %, přičemž větší inhibiční účinek vykazuje fruktóza, což je patrné z obrázku č. 11 [75].



Obrázek 11: Vliv koncentrace fruktózy a glukózy na hydrolyzu inulinu [75].

K hydrolyze inulinu dochází také v kyselém prostředí s hodnotami pH nižšími než 3 nebo působením teplot, vyšších než 100 °C [76].

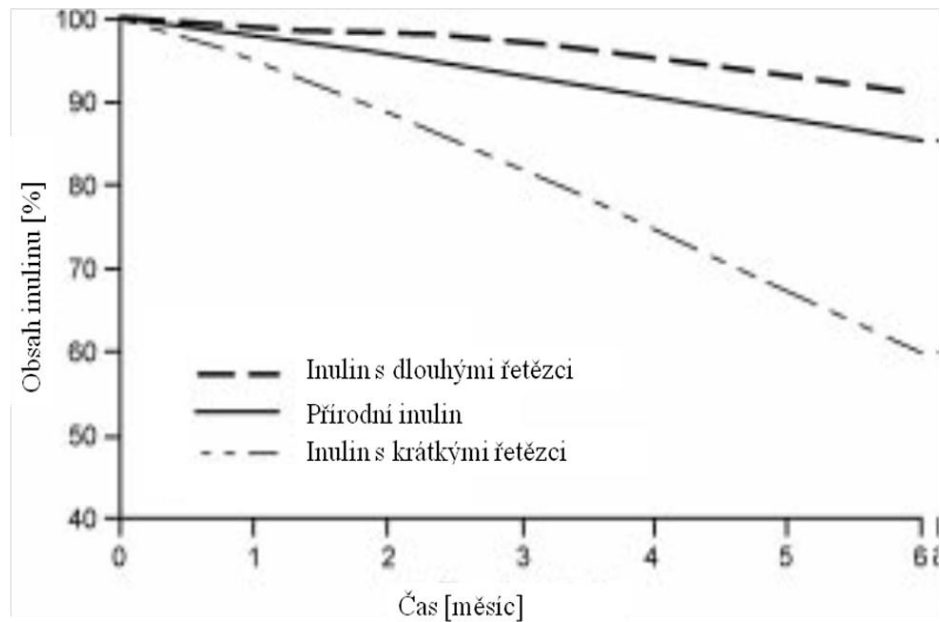
### 2.5.3 Chemické prostředí

#### o Hodnota pH

Glykozidické vazby  $\beta$  (2→1) v řetězci inulinu jsou citlivé na vliv kyselého prostředí, kdy v tomto prostředí dochází ke kyselé hydrolyze. Stupeň hydrolyzy inulinu závisí na hodnotě pH, složení potravinářských výrobků, jejich obsahu sušiny, teplotním režimu při tepelném zpracování výrobků [74].

Obecně platí, že k hydrolyze inulinu nedochází při hodnotě pH vyšší než 4. U potravin, které mají pH nižší než 4 může dojít k jeho hydrolyze.

Na hydrolyzu má vliv nejenom pH, ale i teplota. Například při teplotě kolem 10 °C a pH mezi 3 – 7,5 byla pozorována žádná hydrolyza inulinu. Při zvýšení teploty na 25 °C a pH 3 dochází k 10 %-ní hydrolyze inulinu během 1 týdne [74].

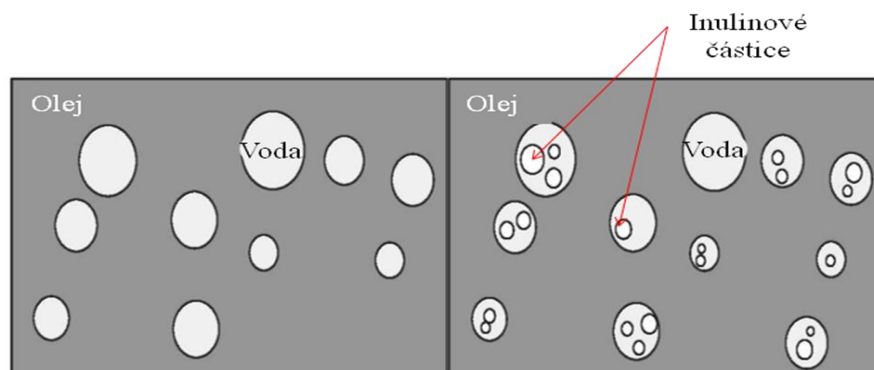


Obrázek 12: Inulinová hydrolyza různých typů inulinu při pH 3,5 a 20 °C [74].

Na obrázku č. 12 je ukázán synergický vliv pH, teploty a doby skladování na hydrolyze inulinu. Byly připraveny 1% roztoky inulinu v pufru s pH 3,5 a skladovány při 20 °C. Výsledky byly získány pomocí permeační chromatografie [74].

#### o Prostředí oleje

Inulin není rozpustný v oleji (Obrázek 13). V olejových fázích je inulin přítomen ve vodních kapičkách, které jsou obklopeny olejem a přispívají ke stabilitě emulze, prostřednictvím zvýšení viskozity vodní fáze [27].

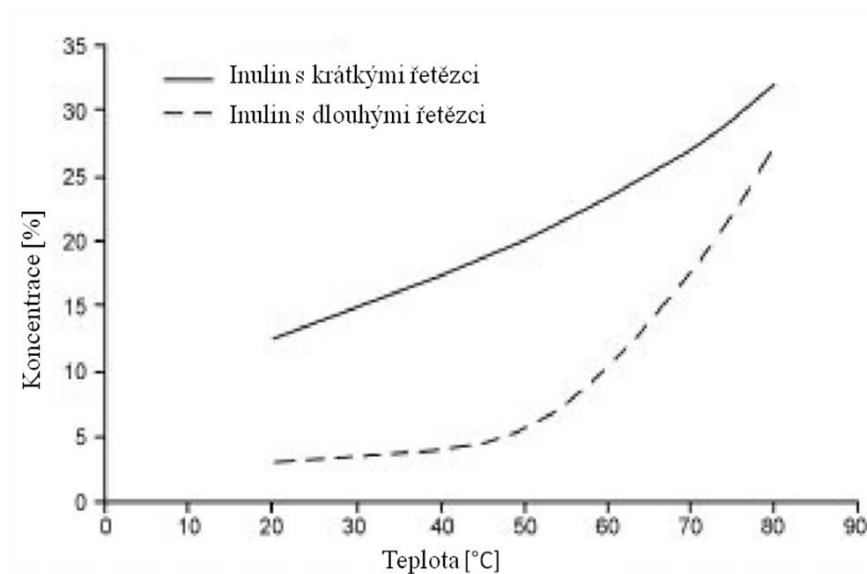


Obrázek 13: Chování inulinových částic v oleji s přítomností vody [27]

#### 2.5.4 Stupeň polymerace inulinu

Rozpustnost inulinu je ovlivněna také stupněm polymerace [29]. Délka řetězce má vliv na různé technologické vlastnosti, které určují následné využití inulinu [28, 74].

Vliv délky řetězce na rozpustnost inulinu je zobrazena na obrázku č. 14, přičemž krátké řetězce inulinu nebo oligofruktózy jsou lépe rozpustné a sladčí než přírodní inulin [28, 27, 73, 74]. Dlouhé řetězce inulinu jsou teplotně stabilnější, méně rozpustné a více viskózní než přírodní inulin [28, 77]. Proto je používán tento typ inulinu jako modifikátor [27, 29, 74].



Obrázek 14: Maximální rozpustnost krátkého inulinu a inulinu s dlouhým řetězcem v závislosti na teplotě [74]

#### 2.5.5 Koncentrace inulinu

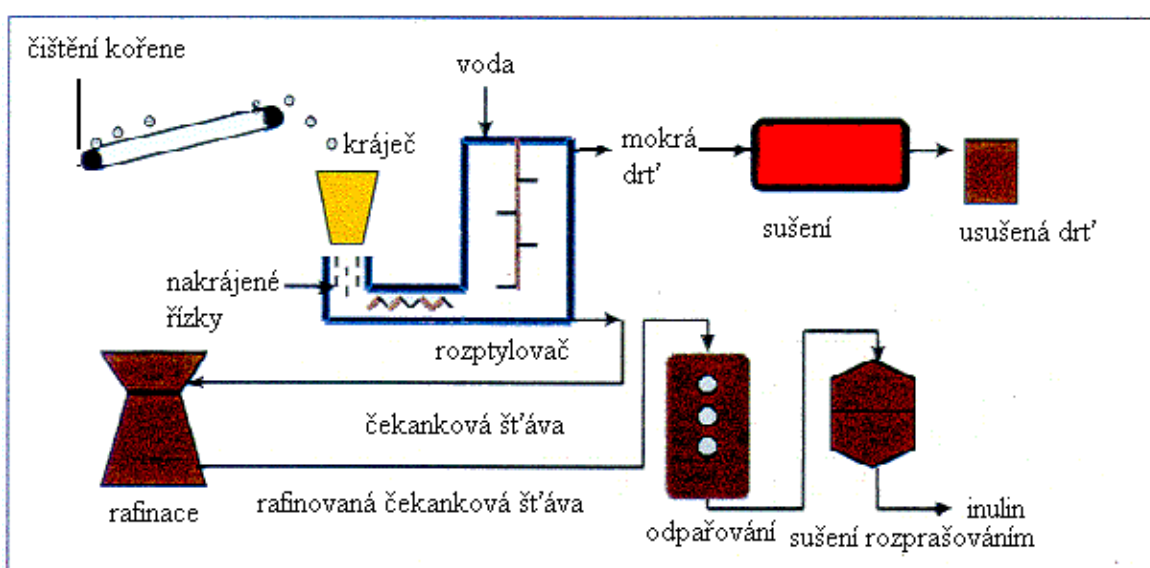
Molekula inulinu je mnohem menší než ostatní hydrokoloidy a ve vodě má nízkou schopnost vázat vodu. Při koncentracích 15 % je schopen tvořit gel, při nižších tvoří viskózní roztoky.

Vzhledem k vysokému počtu hydroxylových skupin v řetězci inulinu je používán jako návazná složka dalších stabilizátorů – karagenan, pektin, škrob [74].

## 2.6 Výroba inulinu

Inulin je získáván nejčastěji z čekanky. Výrobní proces inulinu z čekanky zahrnuje 3 fáze:

- extrakce surového inulinu teplou vodou – fáze je podobná zpracování cukrové řepy, kdy kořeny jsou sklizeny a transportovány do 7 dnů do továrny na další zpracování, zváženy, omyty a nakrájeny;
- čištění surového inulinu – extrakce surového nečistého sirupu na čistotu 99,5 %;
- sušení rozprašováním vyčištěné šťávy do podoby prášku [27, 78].



Obrázek 15: Schéma výroby inulinu z čekanky [27]

Komerčně vyráběné produkty obsahují pouze fruktooligosacharidy složené z 2 – 7 jednotek nebo dlouhé řetězce inulinu skládající se z 22 – 25 jednotek, které jsou průmyslově získávány z přírodního inulinu [28].

V současnosti je snaha vytvořit modifikovaný inulin, z důvodu zvýšení jeho rozpustnosti ve vodě a tvorby stabilních systémů po jeho přidavku zejména v kosmetice. Jsou zkoumány také možné způsoby výroby modifikovaného inulinu. Inulin je extrahován frakcionací z čekanky, čímž je získáno vysokomolekulární inulin se stupněm polymerace vyšším než 23 jednotek. K výrobě amfipatické molekuly inulinu je řetězec upraven zavedením alkylových skupin (C4 – C18) na polyfruktózovou páteř za vzniku hydrofóbního modifikovaného inulinu. Jsou prováděny také experimenty, které jsou zaměřeny na chování inulinu v různých disperzních systémech [79].

## 2.7 Využití inulinu

Použití inulinu jako potravinářské přídatné látky je schváleno vládami devíti evropských států (Belgie, Dánsko, Francie, Lucembursko, Nizozemsko, Portugalsko, Španělsko, Švédsko a Švýcarsko) a Japonska. V těchto zemích má inulin široké zastoupení v potravinách [73]. V posledních letech je inulin používán s cílem inovace potravin obohacených vlákninou [29].

V potravinářském průmyslu je inulin přidáván do potravin z důvodu zlepšení organoleptických vlastností a zlepšení nutričního složení potravin [27, 70].

Vzhledem k jeho snížené kalorické hodnotě je používán také jako náhražka tuku a sacharózy pro potraviny určené pro diabetiky [57]. Důležité jsou i jeho prebiotické vlastnosti. Inulin je nestravitelnou složkou potravin, která příznivě působí na stimulaci růstu nebo činnosti bakterií v tlustém střevě a tím může přispívat ke zlepšení zdravotního stavu člověka [1, 29].

Pro **potravinářský průmysl** je inulin získáván nejčastěji z kořene čekanky v podobě sušeného prášku, jehož výrobní náklady jsou velmi nízké v porovnání s ostatními technikami (sušení lyofilizací) [33].

### 2.7.1 Možnosti využití inulinu do ovocných výživ

Do dětských ovocných výživ je inulin přidáván z důvodu dodání vlákniny do stravy malých dětí. Inulin je prebioticky aktivní látkou, která podporuje činnost střev a je důležitou živnou půdou pro probiotika [27].

Je přidáván v takovém množství, aby výrobek splňoval předepsanou hodnotu pro označení výrobek s vlákninou. Dle vyhlášky O označování výživové hodnoty potravin obecně platí, že pro toto označení musí výrobce deklarovat množství vlákniny nejméně 3 g na 100 g ve finálním výrobku [7, 26].

### 2.7.2 Možnosti využití inulinu do mléčných výrobků

Inulin je přidáván do mléčných výrobků, kde slouží jako tuková náhražka, která přispívá ke zvýšení krémovitosti a lahodnosti konečného výrobku [27, 80].

Bylo zjištěno, že přídavek 1 – 5 % inulinu zlepšil zpracování mléčných výrobků a zmrazených dezertů při zachování jejich typické struktury a konzistence [27, 81]. Přidáním inulinu do jogurtu se dosáhne lepší využitelnosti vápníku v organizmu [82, 83].



Tyto výrobky jsou vhodné zejména pro diabetiky a osoby s oslabenou činností slinivky břišní. Inulin s vyšším stupněm polymerace má dvakrát vyšší účinnost ve srovnání s nižším stupněm polymerace [27].

Přídavek 5 % inulinu do majonézy měl za následek vytvoření stabilní nízkotučné majonézy bez nakyslé chuti [71, 80, 81, 84].

Přídavkem 7,5 % inulinu do roztíratelných tuků nebo mléčných pomazánek s 20 – 40 % tuku byla docílena dobrá struktura výrobku s perfektní roztíratelností a skvělou chutí [71, 81]. Inulin také zvyšuje stabilitu pěn a krémů [27]. Smícháním 12 % inulinu, cukru, kakaového prášku, mléčných bílkovin a lískových ořechů vzniká nízkotučná oříšková pomazánka. Suché přísady jsou rozemlety a jemně rozptýleny v tukové fázi. Ve srovnání s běžně vyrobenými pomazánkami, může být přídavkem inulinu dosaženo snížení kalorické hodnoty pomazánky až o 45 % [78].

### **2.7.3 Možnosti využití inulinu do pekařských výrobků**

Inulin je používán do pekařských výrobků a snídaňových cereálií, kde zvyšuje jejich křehkost a množství vlákniny. U extrudovaných výrobků zvyšuje expanzi a prodlužuje jejich trvanlivost [27, 72, 83].

Při výrobě jemného pečiva je inulinový gel používán jako částečná náhrada margarínu, což má za následek snížení obsahu tuku ve výrobcích při zachování sensorických vlastností a prodloužení jejich trvanlivosti [71].

Bylo zjištěno, že konzumace tří krajíčků chleba denně s minimálním obsahem inulinu 5 g ve 100 g výrobku, podporuje správné složení, vyváženost střevní mikroflóry a funkci střev [82].

### **2.7.4 Možnosti využití inulinu do masných výrobků**

Inulin je také používán při výrobě jemných masných výrobků, jako jsou párky, kde z důvodu lepší imobilizace vody je docíleno jemnější a šťavnatější konzistence s lepší stabilitou výrobků [27, 70, 72]. Tyto masné výrobky jsou také lépe stravitelnější [82].

Do některých výrobků je inulin používán s přídavkem cukralózy, z důvodu zvýšení jeho tepelné stability a zvýšení rozpustnosti ve vodě [78].

### 3 KOJENECKÁ VÝŽIVA DO 1 ROKU DÍTĚTE

Strava dětí musí obsahovat dostačující množství živin v podobě makronutrientů a mikronutrientů k uspokojení jejich potřeb, k podpoře dobrého zdraví a snížení oslabení organismu [85, 86].

Mezi **makronutrienty** patří proteiny, tuky a sacharidy, které dodávají tělu energii a které tělo potřebuje v přiměřeném množství. Každá tato skupina plní v těle specifické fyziologické funkce [85, 86].

Růst a rozvoj dětí závisí také na příjmu **mikronutrientů**, jako jsou vitaminy, minerální prvky, které jsou odpovědné za přenos živin do buněk a působí jako katalyzátory metabolických reakcí [85, 86].

Komplementární výživa, neboli zavádění nemléčných porcí do výživy kojenců, se diferencuje v rámci Evropy. Ve většině rozvinutých zemí neexistují oficiální doporučení pro přesnou výživu kojenců [87].

Doplňková komplementární strava (příkrm) je potravina, která je vyráběna průmyslově nebo připravována doma, je vhodná jako doplněk k mateřskému mléku, v době kdy mateřské mléko přestane být dostačující k uspokojení potřeb výživy kojence [89].

Výživu dětí do jednoho roku věku je možné rozdělit do tří období [90].

1. Období výhradně mléčné výživy
2. Přejídné období
3. Období smíšené stravy

#### 3.1 Období výhradně mléčné výživy

Optimální způsob výživy kojence v prvních šesti měsících života je kojení [87]. Množství mléka pro zdravého kojence je přibližně 1/6 jeho hmotnosti, což představuje 150 – 170 ml/kg/den. Maximální množství přijatého mléka by nemělo překročit 1 litr denně [90].

Mateřské mléko v tomto období zajišťuje dostatek živin pro růst a vývoj kojence. Mléko je velmi dobře stravitelné a snadno vstřebatelné. Obsahuje řadu látek, které dítě chrání před infekčním i neinfekčním onemocněním. Kojení brání překrmování kojence [76, 91].

## 3.2 Období přechodné

Přechodné období zahrnuje období od 6. – 12. měsíce života kojence. Dávky mléka jsou nahrazovány za dávky příkrmů a kojenci si začínají zvykat na nové chutě. Mezi příkrmy jsou zařazována pokračovací mléka, nemléčné příkrmy a obilné kaše. V průběhu přechodného období kojence by se měl příjem mateřského mléka snižovat a nahrazovat různými druhy příkrmů [89].

### 3.2.1 Pokračovací mléka

Dle vyhlášky O označování výživové hodnoty potravin 330/2009 [7] jsou pokračovací mléka určena pro výživu kojenců do 3 let, kdy tvoří základní část tekutého podílu stravy [81]. Pokračovací mléko odpovídá potřebám starších kojenců vyšším obsahem bílkovin a minerálních látek. Obsahuje obvykle i vitaminy (A, D, C, E) a některá pokračovací mléka jsou obohacena i prebiotiky nebo probiotiky (Bifidus) [92]. Pokračovací mléka jsou označována číslem 2 nebo slovem plus [90, 92].

### 3.2.2 Nemléčné příkrmy

Nemléčné příkrmy jsou doporučovány podávat dětem nejdříve po ukončení 4. měsíce života [90, 92].

Na českém trhu existuje mnoho druhů nemléčných příkrmů.

Mezi nejznámější nemléčné druhy patří: zeleninové pyré, masozeleninové a ovocné příkrmy [93].

#### o Zeleninové pyré

Jako první příkrm je doporučováno monokomponentní zeleninové pyré z nedráždivé zeleniny, jako je mrkev, hrášek nebo dýně. V průběhu dalších měsíců jsou zařazovány vícesložkové zeleninové příkrmy i s přidavkem masa [90]. Energie příkrmu by neměla přesahovat hodnotu 100 kcal/100 g [4].

#### o Masozeleninové příkrmy

Postupně asi v průběhu měsíce je doporučováno přidat přibližně 20 g libového masa, jehož množství se v druhé polovině prvního roku života zvyšuje na 35 g. K dispozici jsou průmyslově vyráběné masozeleninové příkrmy s udáním vhodného měsíce zavádění. Tyto

příkrmy dodají kojenci potřebný přísun nejen bílkovin, ale i minerálních látek a mastných kyselin pro správný růst dítěte. Potřeba bílkovin ve výživě postupně klesá, z 2 g/kg v dětství, 1 - 1,5 g/kg v dospívání, na 0,8 - 1 g/kg v dospělosti. Bílkoviny by neměly převyšovat 15 % denního energetického příjmu [94].

#### o **Ovocné příkrmy**

Další zaváděný příkrm bývá obvykle ovocné pyré, jehož obsah sacharidů by neměl překračovat 20 g/100 g, tj. nepřislazuje se. Podobně jako zelenina je každý druh zaváděn samostatně k odhalení eventuelní intolerance. Později je možno přidávat k ovocnému pyré jogurt [4, 94].

Veškerá oficiálně distribuovaná kojenecká výživa podléhá kromě hygienické garance i schválení Pracovní skupinou pro dětskou gastroenterologii a výživu České pediatrické společnosti, která dbá na dodržování stávajících doporučení, která jsou nyní petrifikována i v zákonných ustanoveních (1616) [12, 95].

#### **3.2.3 Mléčné obilné kaše**

Mléčné obilné kaše musí být podávány do konce 6. měsíce kaše bez obsahu lepku, který je obsažen ve všech dostupných obilninách, kromě kukuřice a rýže. Kaše musí být až do věku 10 měsíců připravovány z kojeneckého mléka [90].

### **3.3 Období smíšené stravy**

V tomto období je kojenci obohacován jídelníček o další druhy příkrmů. Jídelníček se začíná podobat jídelníčku dospělého člověka. Jsou zařazovány obilniny, těstoviny, ovoce, zelenina a vaječný žloutek. Potrava musí být měkká, nekořeněná a nesolená [90].

## 4 KOJENECKÁ VÝŽIVA ŘADY HAMÉ

Na českém trhu je velké množství kojeneckých ovocných výživ vyrobených z různého ovoce a zeleniny, ale také různé kvality a ceny [92].

Nejznámější společností v České republice vyrábějící dětské příkrmy je **Hamé s. r. o.**

Hamé s.r.o. je přední česká potravinářská firma, která se zabývá výrobou trvanlivých a chlazených potravin. Hlavní společnost sídlí v Kunovicích u Uherského Hradiště. Společnost své výrobky nabízí pod řadou obchodních značek, jako jsou Otma, Veselá pastýřka, Znojmia, Hamánek a Hamé Life Style. Společnost je známá i v zahraničí, kde exportuje 43 % svých produktů [93].

### 4.1 Kojenecké ovocné výživy

Výrobou kojeneckých výživ, povidel, džemů a marmelád se zabývá podniková prodejna FRUTA Podivín, a. s. sídlící v Podivíně [92].



Obrázek 16: Logo kojeneckých výživ [92]

První kojenecké ovocné výživy byly na trh zavedeny už v roce 1998. Sortiment byl a je neustále rozšiřován. Dnes jsou pro děti od dokončeného 4. měsíce určeny ovocné přesnídávky, kojenecké nápoje a ovocné svačinky různých druhů a příchutí, pro děti od 1. roku jsou vyráběny masozeleninové výživy. Firma vyrábí většinu těchto produktů v bio kvalitě [92].

V současnosti je v ČR velmi nízký příjem vlákniny ve všech věkových. Z tohoto důvodu je přidávána vláknina i do dětských ovocných výživ v podobě prebiotik jako je inulin, pektin nebo ovesné vločky [62].

V potravinách i kojeneckých ovocných výživách, které jsou označovány jako zdroj vlákniny, je deklarován obsah vlákniny alespoň 3 g na 100 g nebo alespoň 1,5 g na 100 kcal [7].



Obrázek 17: Kojenecká výživa s inulinem řady Hamánek [92]

Jako zdroj vlákniny v kojeneckých výživách je především pektin. Zdrojem pektinu v ovocných výživách jsou především jablka. Pektin pročišťuje organismus a přispívá k optimalizaci metabolických procesů, brzdí množení škodlivých mikroorganismů ve střevech, upravuje trávení. Jablka mají celkový posilující účinek. Léčivý účinek mají nejen syrová, ale i zpracovaná jablka. Z tohoto důvodu jsou jablka základní surovinou kojeneckých výživ. Dalším ovocem, které je používáno pro výrobu kojeneckých výživ, jsou meruňky, broskve, banány, apod., které jsou používány jako doplňková přísada [44].

Pro zvýšení množství rozpustné vlákniny v kojeneckých výživách je přidáván inulin [42, 44]. Inulin je prebioticky aktivní látkou, která podporuje činnost střev a má významný vliv na celkovou obranyschopnost organismu. Prebiotika jsou důležitou živnou půdou pro probiotika (například bifidobakterie), která mají pozitivní vliv na zdraví samotných střev [42, 70].

Společnost Hamé navíc garantuje, že nakupované ovoce i zelenina, které je zpracováváno do kojeneckých výživ, je pěstováno v tzv. speciálních režimech, které minimalizují množství škodlivých látek, jako jsou obsah pesticidů a mykotoxinů, a při výrobě jsou kontrolovány řadou kontrolních mechanismů, které zabezpečují, že kojenecká výživa vyhovuje nejpřísnějším pravidlům stanovené vyhláškou [93].

## 4.2 Technologie výroby kojeneckých výživ

V současnosti společnost Hamé s.r.o. vyrábí 4 druhy kojeneckých výživ (KV) s inulinem: jablečnou, jablečnou s jahodami, jablečnou s broskvemi a jablečnou s meruňkami. Tyto KV obsahují 60 % ovocné složky, u dvou-druhových KV tvoří 45 % jablka a 15 % dalšího ovoce. Jedná se o kyselou potravinu s hodnotou pH menší než 4 [93].

Ovocná dřeň je smíchána s 10 % pitné vody a ohřáta na 60 – 70 °C. Následně je přidáno 7 % inulinu, cukr a další komponenty. Tato směs je zahřívána na teplotu 85 °C (dosáhnutí této teploty do 30 minut). Po dokonalém promíchání je ovocná směs přepuštěna do duplikátoru a z něho je plněna do sklenic při stálé teplotě 85 °C. Vyprázdnění celého zásobníku trvá 30 – 50 minut. Sklenice jsou uzavřeny a sterilovány při teplotě 89 °C 25 minut, po uplynutí této doby jsou výživy ihned chlazeny na 35 °C do 25 minut. Nakonec jsou kojenecké výživy etiketovány a skupinově baleny [93].

Tabulka 3: Ukázka druhů vyráběných kojeneckých výživ řady Hamé [93]

Výrobek	Název	Od... měsíce	Obsah živin ve 100 g				
			KJ/kcal	Sacharidy	Tuky	Bílkoviny	Vitamin C
Hamánek	s jablky	4.	341/81	19,9 g	0,3 g	0,3 g	10 mg
Bio Hamánek	s jablky	4.	270/65	16,6 g	0,2 g	0,2 g	10 mg
Hamánek	s broskvemi	4.	343/82	19,9 g	0,3 g	0,3 g	10 mg
Bio Hamánek	s broskvemi	4.	273/65	16,7 g	0,2 g	0,2 g	10 mg
Bio Hamánek	se švestkami	4.	296/71	18,1 g	0,1 g	0,2 g	10 mg
Bio Hamánek	s hruškami	4.	270/65	16,5 g	0,2 g	0,2 g	10 mg
Bio Hamánek	s meruňkami a jogurtem	4.	302/72	17,1 g	0,5 g	0,8 g	10 mg
Bio Hamánek	s jahodami a jogurtem	5.	309/74	18,3 g	0,4 g	0,4 g	10 mg
Bio Hamánek	s jablky a banány	5.	272/65	16,7 g	0,2 g	0,2 g	10 mg
Bio Hamánek	s jablky, hruškami a mrkví	5.	270/65	16,4 g	0,2 g	0,3 g	10 mg
Bio Hamánek	s banány a broskvemi	5.	266/64	16,3 g	0,1 g	0,4 g	10 mg

## 5 METODY STANOVENÍ VLÁKNINY

Stanovení vlákniny v potravinách je založeno na odstranění lipidů ze vzorku, následné hydrolýze a solubilizaci ostatních látek (schopnost rozpuštění nerozpustných látek v čistém disperzním prostředí) [96], jako jsou bílkoviny a sacharidy a zvážení nerozpustného zbytku [97].

První pokusy stanovení vlákniny v potravinách se objevili začátkem 19. století. V roce 1806 provedl H. Einhof kyselou a zásaditou hydrolýzu. H. Davy roku 1814 izoloval vlákninu varem ve vodě a alkoholu. Roku 1832 se Sprengel snažil izolovat celulózu hydrolýzou v prostředí kyseliny, zásady a chlorové vody. V roce 1857 Schulze stanovil vlákninu oxidační hydrolýzou v prostředí kyseliny dusičné a chlorečnanu draselného [98].

V současné době je nejvíce používanou metodou enzymaticko-gravimetrická metoda (AOAC), která je schválena jako právoplatná a doporučovaná metoda nejméně v 10 státech (např. i v USA) a enzymaticko-chemická Englystova metoda, která je doporučovanou metodou ve Velké Británii a která stanovuje množství vlákniny jako neškrobové polysacharidy bez stanovení ligninu [99, 100, 101, 102].

Metody stanovení vlákniny lze rozdělit do tří skupin:

1. *neenzymaticko-gravimetrické,*
2. *enzymaticko-gravimetrické,*
3. *enzymaticko-chemické,* které zahrnují enzymaticko-kolorimetrickou a enzymaticko-chromatografickou metodu (GLC/HPLC) [19, 99, 103].

Vzhledem k tomu, že inulin patří mezi rozpustnou vlákninu, je možné jej pomocí některých vybraných metod, které jsou určeny pro stanovení vlákniny, zjistit.

Inulin je polyfruktan, který obsahuje 35 molekul, které jsou spojeny  $\beta(1\rightarrow2)$  glykozidickými vazbami. Pro jeho stanovení je možné použít různé metody, jako např. vážkovou (po srážení etanolem), titrační (po hydrolýze na D-fruktózu), spektrofotometrickou (po hydrolýze za vzniku 5-hydroxymetyl-2-furfuralu), případně chromatograficky na tenké vrstvě (TLC) nebo kapalinovou chromatografií (HPLC) [104].



## 5.1 Neenzymaticko-gravimetrická metoda

Jedná se o nejstarší metodu pro stanovení vlákniny, pomocí níž byla stanovena hrubá vláknina, která je tvořena celulózou, ligninem a některými hemicelulózami [98].

Metoda zahrnuje **Weende**-metodu, která určuje množství hrubé vlákniny (celulóza a lignin) v potravinách [99]. Jedná se o dvoustupňovou hydrolýzu varem v slabě kyselém a slabě zásaditém prostředí. Metoda je však nepřesná, protože neurčuje aktuální množství vlákniny [98, 103].

Druhá metoda je podle **Van Soesta**, která je využívána pro stanovení neutrálně detergentní vlákniny (celulóza, hemicelulóza a lignin) a acido-detergentní vlákniny (celulóza a lignin) [99].

## 5.2 Enzymaticko-gravimetrická metoda

Enzymaticko-gravimetrická metoda byla vyvinuta v 80. letech 20. století. Touto metodou byly stanoveny jak rozpustné a nerozpustné polysacharidy, jako je celulóza, hemicelulóza, pektin a rezistentní škrob [98]. Metoda vychází z podstaty rezistence analytu (vlákniny) k trávicím enzymům [105]. Dochází k enzymatické eliminaci doprovodných složek vlákniny pomocí tří enzymů: termostabilní  $\alpha$ -amylázy, proteázy a amyloglukozidázy při různých teplotních záhřevech a po konkrétních časových inkubacích dle podmínek účinnosti enzymu [99, 105].

Termostabilní  $\alpha$ -amyláza je účinná při teplotách 95 – 100 °C. Po jejím přidavku do vzorků způsobí zgelovatění, hydrolýzu a depolymeraci přítomného škrobu ve vzorcích [99, 106]. Pomocí proteázy dochází k rozpuštění a depolymeraci proteinů při teplotě 60 °C. Amyloglukozidáza způsobuje hydrolýzu zbylých fragmentů škrobu na jednotky glukózy.

Po enzymatickém rozkladu se k zfiltrovanému podílu přidá přibližně čtyřnásobek hmotnosti etanolu (95 %), aby došlo k vysrážení rozpustné vlákniny a k odstranění depolymerizovaných proteinů a glukózy. Po temperaci při 40 °C je vzorek zfiltrován, promyt etanolem a acetonem. Filtr je 4 hodiny sušen při teplotě 105 °C a poté zvážen. Stanovení se provádí současně dvakrát, z nichž zbytek na filtru z jedné analýzy je použit na stanovení bílkovin a z druhé analýzy pro stanovení popela, jejichž hodnoty musí být odečteny od hmotnosti vzorku po filtraci a vysušení [99, 106, 107].

U vzorků s obsahem tuku nad 10 % musí být provedena extrakce tuku petroléterem v Soxhletově extraktoru [97, 99, 106, 107].

### 5.3 Enzymaticko-chemická metoda

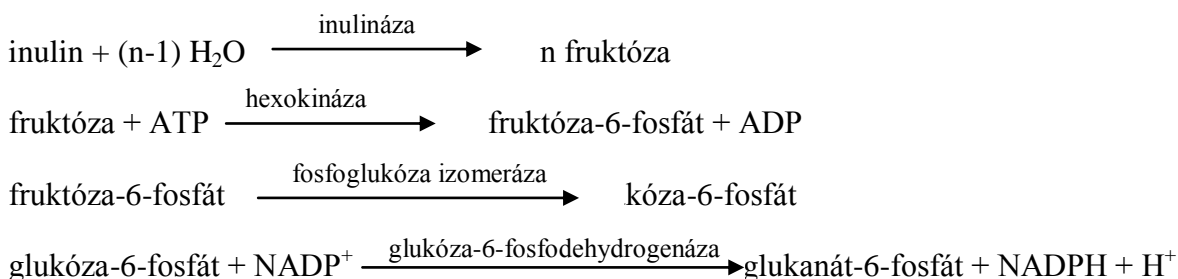
Pomocí enzymaticko-chemické metody se škrob stanovuje enzymaticky a cukry jsou analyzované kolorimetricky, nebo plynovou (GLC) či vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) [99].

Kolorimetrickými metodami jsou stanoveny na základě barevných reakcí celulóza, necelulósová polysacharidy a lignin. Vysokoúčinnou chromatografií jsou stanoveny jednotlivé monomerické složky vlákniny [82, 99, 101, 102].

#### 5.3.1 Stanovení inulinu enzymatickou metodou

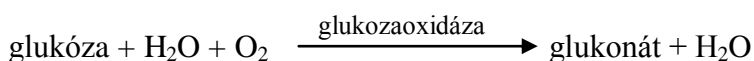
Inulin je enzymaticky hydrolyzován na fruktózu pomocí enzymu *inulinázy*. Fruktóza je následně fosforylována na fruktózu-6-fosfát v přítomnosti adenosin-5'-trifosfátu (ATP) za účasti enzymu *hexokinázy* (HK). Fruktóza-6-fosfát je izomerován na glukózu-6-fosfát pomocí *fosfoglukózoizomerázy*. Glukóza-6-fosfát je poté oxidována na glukonát-6-fosfát nikotinamidadeninukleotidfosfátem (NADH) za přítomnosti *glukózy-6-fosfát dehydrogenázy* (G6P-DH). Množství vyredukovaného NADPH, který je vytvořen během reakce, je stanoven fotometricky absorbcí při 340 nm a je ekvivalentem k množství inulinu v původním vzorku [108, 109].

Princip metody je možné znázornit pomocí chemických rovnic:



Pro zjištění obsahu inulinu je nutné stanovit množství glukózy a fruktózy ve vzorku. Pokud je ve vzorku velké množství glukózy, je stanovení inulinu méně přesné. Glukóza je stanovena oxidací v přítomnosti *glukózaoxidázy* (GOD) před stanovením inulinu [108, 109].

Princip metody je založen na následující reakci:



### 5.3.2 Stanovení inulinu kapalinovou chromatografií (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) byla použita pro stanovení přídatných látek  $\beta$ -fruktanů v mase a masných výrobcích [110].

Metoda je založena na extrakci inulinu teplou vodou, následné hydrolýze přidavkem enzymu *inulinázy*. Z uvolněného množství fruktózy je stanoven pomocí HPLC metody index lomu světla. Ke kvantifikaci fruktózy je použit jako standard ramnóza. Od každého vzorku je odečteno množství volné fruktózy a fruktózy ze sacharózy. Jako slepý vzorek je použit vzorek bez přidavku *inulinázy* [14, 110].

Výsledky vykazují velmi dobrou přesnost, jelikož doba analýzy trvá 1 – 2 minuty. Tato krátká doba analýzy snižuje případné změny inulinu během ní [14, 110].

### 5.3.3 Stanovení inulinu ionexovou chromatografií (IEC)

Pro měření inulinu v moči a plazmě je využívána metoda ionexové vysokoúčinné chromatografie (IEC-HPLC). Mobilní fází je deionizovaná voda. Jako vnitřní standard se používá směsný roztok smíchaný z denaturovaných vzorků, octanu zinečnatého a kyseliny fosfowolframové za přidavku melezitózy. Separace je provedena během 16 minut při průtoku 0,6 ml/min. Z důvodu vyšší přesnosti měření byly analyzovány ve čtyřech různých koncentracích. 0,050 mg.ml<sup>-1</sup>, 0,150 mg.ml<sup>-1</sup>, 0,300 mg.ml<sup>-1</sup> a 1,200 mg.ml<sup>-1</sup>. V těchto koncentracích se množství inulinu v krevní plazmě pohybovalo v rozmezí 1,7 % až 3,4 % a od 1,5 % do 3,5 % v moči.

Metoda je jednoduchá a citlivá bez ovlivnění výsledků množstvím přítomných hexóz nebo léků. Je výhodná pro většinu pacientů s onemocněním ledvin. Před vlastním stanovením inulinu, nemusí se provádět před vlastním stanovením inulinu jeho hydrolýza [111].

### 5.3.4 Stanovení inulinu v rostlinných materiálech Fruktan metodou (AOAC 999.03)

Metoda je založena na měření obsahu fruktózy a glukózy po hydrolýze fruktanů. Považením vzorků v destilované vodě dochází k vyextrahování sacharidů do roztoku. Vzorky se poté nechají zchladnout a přefiltrují se přes papírový filtr. Následuje přidavek enzymů (Megazyme), které při teplotě 40°C odstraní poly-, di- a monosacharidy [112]. Působením specifického enzymu *sacharázy* (sublimačně sušený prášek, jehož součástí je vysoce čistá  $\beta$ -amyláza, pullulanáza a maltáza) je sacharóza hydrolyzována na glukózu a fruktózu, škrob a maltosacharidy se hydrolyzují na glukózu. Tyto redukující cukry jsou

redukovány při 40 °C alkalickým boranem na cukerné alkoholy. Pomocí zředěné kyseliny octové je roztok zneutralizován a odstraněn přebytek boranu [112].

Hydrolyza fruktanů na fruktózu a glukózu je způsobena přidavkem enzymu *fruktanázy* (sublimačně vysušený prášek skládající se z *exo-inulinázy* a *endo-inulinázy*) s následnou inkubací při 40 °C. Tyto redukující cukry se redukují pomocí pracovního činidla PAHBAH, který je připraven smícháním roztoku A – roztok hydrazidu kyseliny p-hydroxybenzoové s kyselinou chlorovodíkovou a roztoku B – roztok citrátu trisodného s dihydrátem vápenatým těsně před analýzou. Zkumavky jsou inkubovány při 100 °C, přičemž dochází k vytvoření žlutého zbarvení, které je po zchlazení vzorků následně změřeno při vlnové délce 410 nm. Vzhledem k tomu, že barevný komplex není stálý, je nutné provést změření absorbance do 10 minut [112].

Metoda je použitelná pro stanovení fruktanů v rostlinných materiálech a potravinách. Je doporučena pro stanovení inulinu [112].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 CÍL PRÁCE

Cílem praktické části diplomové práce bylo stanovení inulinu v dětské ovocné výživě.

- Vybrat vhodnou metodu pro stanovení inulinu v dětských ovocných výživách. Obsah inulinu byl zjišťován pomocí dvou enzymatických metod – Total dietary Fibre (TDF metoda) a metoda AOAC 999.03 (Fruktan metoda). Výsledky těchto dvou metod byly následně srovnány.
- Zjistit vliv obsahu různých koncentrací sacharidů (sacharózy, glukózy a fruktózy) a teplotního režimu při výrobě dětských ovocných výživ na rozpustnost inulinu.

## 7 METODIKA PRÁCE

### 7.1 Použitý materiál

Pro vlastní analýzu byly použity vzorky dětské jablečné výživy (Fruta Podivín, a.s.) a komerční preparát inulinu Orafiti GR (Azelis Czech Republic s.r.o, Praha), u něhož je deklarováno složení s obsahem více než 90 % inulinu, dalšími složkami jsou glukóza a fruktóza ( $\leq 4$  %) a sacharóza ( $\leq 8$  %).

### 7.2 Použité přístroje a pomůcky

#### Standardní laboratorní vybavení a pomůcky:

- vodní lázeň s třepacím nástavcem (Memmert)
- sušárna Venticell (BMT, Pardubice)
- analytické váhy (Explorer Pro model EP 214 CM)
- předvážky (KERN KB 600-2610)
- chladnička AFG F
- digestoř
- elektrický vaříč
- pH-metr
- běžné laboratorní pomůcky a sklo

#### Přístroje a pomůcky pro stanovení inulinu metodou TDF:

Kromě standardního vybavení laboratoře byly použity při stanovení inulinu tyto přístroje a pomůcky:

- elektrická muflová pec 018 LP (Elektrické pece Svoboda, ČR)
- mineralizátor Bloc Digest 12 (Obrázek 18)
- aparatura Parnas Wagnera
- mineralizační zkumavky
- exsikátor
- porcelánové kelímky



Obrázek 18: Mineralizátor Bloc Digest 12 [113]

### **Přístroje a pomůcky pro stanovení inulinu Fuktan metodou:**

Při stanovení inulinu Fuktan metodou byly dále použity tyto přístroje a pomůcky:

- spektrofotometr s kyvetami (DR/2500 Odyssey, Hach, Německo)
- vortex třepačka (BIOSAN VORTEX V-1 plus, Brno)
- ependorfky

### **7.3 Použité chemikálie**

**Chemikálie ke stanovení inulinu enzymatickou metodou TDF podle [114, 115]:**

- set Megazyme Total Dietary Fiber Assay Kit (Sigma-Aldrich), jehož součástí jsou enzymy:  $\alpha$ -amyláza, proteáza, amyloglukozidáza
- MES-TRIS směsný roztok pufru (pH = 8,2; Sigma-Aldrich)
- HCl (0,561 mol·l<sup>-1</sup>; 0,1 mol·l<sup>-1</sup>; 5 %; dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- NaOH (5 %, 30 %; dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- aceton (dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- etanol (95 %; Penta, dodavatel Ing. Petr Švec, Chrudim)
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98 %; Penta, dodavatel Ing. Petr Švec, Chrudim)
- H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2 %; dodavatel Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- směsný katalyzátor Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub> v poměru 10:1



- indikátor Tashiro

### **Chemikálie pro stanovení inulinu enzymatickou metodou Fruktan metodou**

- set Megazyme K-FRUC (Noack ČR, Brno), jehož součástí byly činidla enzym A – sacharáza, enzym 2 – fruktanáza, fruktan kontrolní moučka, sacharóza kontrolní moučka a standardní roztok fruktózy
- pufr sodné soli kyseliny butendiové (100 mM; pH 6,5)
- pufr 2 – pufr octanu sodného (100 mM; pH 4,5;)
- činidla PAHBAH (roztok A – roztok hydrazidu kyseliny p-hydroxybenzoové s kyselinou chlorovodíkovou a roztok B – roztok citrátu trisodného s dihydrátem vápenatým)
- pracovní činidlo PAHBAH bylo připraveno smícháním roztoku A a roztoku B v poměru 1 : 9 těsně před analýzou
- činidlo 3 – alkalický boran (10 mg/ml boranu sodného v 50 mM hydroxidu sodném)
- činidlo 4 – kyselina octová (200 mM)

## **7.4 Příprava vzorků**

K 1 g jablečné výživy (*n*) bylo přidáno 0,05 g inulinu, což odpovídá přídatku 5 % inulinu. Následně byly vzorky podrobeny působení teplotního režimu, který je používán při výrobě dětské výživy. Dále byl zjišťován vliv přítomnosti sacharidů ve vzorku jablečné výživy na hydrolýzu inulinu. Postup přípravy vzorků s uvedením teplotních režimů a přídatků jednotlivých druhů sacharidů jsou pro jednotlivé metody uvedeny v tabulkách č. 4, 5, 6 a 7.

### **Příprava vzorků pro stanovení inulinu Fruktan metodou**

Pro simulaci teplotních režimů při výrobě dětských ovocných výživ byly vzorky podrobeny působení různých teplot v závislosti na různých časových intervalech podle schématu uvedeného v tabulce č. 4.

*Tabulka 4: Příprava vzorků pro stanovení vlivu teplotního režimu*

Teplota [°C]	Doba inkubace [min]
85 °C	0, 5, 10, 15, 20, 25
95 °C	

Přítomnost sacharidů v ovocných výživách má také vliv na hydrolyzu inulinu a na jeho zůstatkové množství ve výživě. V tabulce č. 5 jsou zaznamenány použité koncentrace vybraných sacharidů ke vzorkům výživ pro zjištění míry jejich působení na množství inulinu.

*Tabulka 5: Příprava vzorků pro stanovení vlivu přídavku sacharidů*

Druh sacharidu	Koncentrace sacharidu [%]
sacharóza	0, 5, 10, 15
glukóza	
fruktóza	

Při výrobě ovocných výživ s přídavkem inulinu na něho působí oba faktory (teplota i množství sacharidů) společně. Pro zjištění jejich synergického účinku byly vzorky vystaveny působení teplot s přídavky jednotlivých sacharidů o různých koncentracích podle tabulky č. 6.

*Tabulka 6: Příprava vzorků pro stanovení vlivu přídavku sacharidů a teplotního záhřevu*

Teplota [°C]	Doba inkubace [min]	Druh sacharidu	Koncentrace sacharidu [%]
85 °C a 95 °C	po 25 minutách	sacharóza	0, 5, 10, 15
		glukóza	
		fruktóza	

### Příprava vzorků pro stanovení inulinu TDF metodou

Pro přípravu vzorků, u nichž byl obsah inulinu stanoven pomocí TDF metody byl použit stejný postup jako u předešlé metody. Parametry použitých teplot a koncentrací sacharidů jsou uvedeny v tabulce č 7.

Tabulka 7: Příprava vzorků pro stanovení nerozpustné a rozpustné vlákniny TDF metodou

Teplota [°C]	Doba inkubace [min]	Druh sacharidu	Koncentrace sacharidu [%]
85 °C a 95 °C	po 25 minutách	sacharóza	0, 5, 10, 15
		glukóza	

## 7.5 Postupy stanovení

### 7.5.1 Postup pro stanovení inulinu Total dietary fibre (TDF metoda)

#### Stanovení nerozpustné vlákniny ve vzorcích

K připraveným vzorkům bylo přidáno 40 ml směšného roztoku pufru MES-TRIS. Pro lepší promíchání navážek (jednotlivých komponent) byla každá baňka opatřena míchadlem a umístěna na magnetické míchadlo. Za pomalého míchání bylo do směsi odpipetováno 50  $\mu$ l enzymu  $\alpha$ -amylázy. Baňky byly přikryty hliníkovou fólií a vloženy do třepací lázně vyhřáté na teplotu 100 °C na dobu 35 minut. Po inkubaci byly baňky vyjmuty. Lázeň byla zchlazena na teplotu 60 °C. Ke zchlazeným vzorkům na teplotu 60 °C bylo následně přidáno 100  $\mu$ l enzymu proteázy, opět byly přikryty hliníkovou fólií a vloženy do třepací lázně na dobu 30 minut. Po 30 minutách byly baňky vyjmuty z lázně, hliníkové fólie odstraněny. Za stálého míchání bylo odpipetováno do každé baňky 5 ml 0,561 M HCl a následně bylo upraveno pH na hodnotu v rozmezí 4,1 – 4,8 přidávkem 5 % NaOH případně 5 % HCl. Poté bylo ke vzorkům napipetováno 200  $\mu$ l enzymu amyloglukozidázy a následovala hydrolýza vzorků ve vodní lázni při teplotě 60 °C po dobu 30 minut. Po enzymatickém rozkladu byla provedena filtrace vzorků přes předem vysušený a zvážený filtr. Následně byly filtry s nerozpustnou vlákninou sušeny 4 hodiny při teplotě 105 °C a poté zváženy ( $m_{IDF}$ ). Stanovení bylo provedeno současně dvakrát. Filtry byly následně použity pro stanovení popela ( $m_P$ ) a celkový obsah dusíkatých látek ve vzorcích ( $m_B$ ).

Stanovení nerozpustné vlákniny ve vzorcích

Inulin byl stanoven jako rozpustná vláknina z filtrátu, ke kterému byl přidán přibližně čtyřnásobek hmotnosti etanolu (95 %), který byl přehřátý na 60 °C. Baňky byly zakryty hliníkovou fólií a vloženy do vodní lázně o teplotě 45 °C na 1 hodinu. Po temperaci při 40°C byla sraženina zfiltrována přes předem vysušený a zvážený filtr, promyta etanolem a acetonem. Zbytek na filtru byl 4 hodiny sušen při teplotě 105 °C a poté zvážen ( $m_{SDF}$ ). Stanovení bylo provedeno současně dvakrát, z nichž zbytek na filtru z jedné analýzy byl použit na stanovení bílkovin ( $m_{BR}$ ) a z druhé analýzy pro stanovení popela ( $m_{PR}$ ), jejichž hodnoty musí být odečteny od hmotnosti vzorku po filtraci a vysušení.

Stanovení obsahu dusíkatých látek podle Parnas-Wagnerovy metody

Nejdříve byla provedena mineralizace filtračních papírů s vlákninou, které byly získány podle výše uvedeného postupu. Ty byly vloženy se zbytky rozpustné vlákniny do mineralizačních zkumavek. V digestoři bylo přidáno 10 ml  $H_2SO_4$  (98 %), 5 kapek  $H_2O_2$  a 1 malá lžička směsného katalyzátoru ( $Na_2SO_4 + CuSO_4$  v poměru 10:1). Zkumavky byly vloženy na topnou desku mineralizátoru Bloc Digest 12 s přídatným zařízením umožňujícím odsávání par vznikajících zplodin. Byl zapnut vyhřívací blok, pračka plynů a digestoř. Teplota ohřevu byla nastavena na 400 °C. Po vyhřátí topného zařízení byla mineralizace prováděna 1 hodinu. Mineralizát byl po zchlazení ze zkumavek přelit do 25 ml odměrných baněk a množství bylo doplněno po rysku destilovanou vodou.

Jednotlivé vzorky byly destilovány s vodní parou v přístroji Parnas-Wagnera. Do destilační baňky bylo odpipetováno 10 ml mineralizátu, k němuž bylo připipetováno 20 ml 30 hmot. % NaOH. Vznikající amoniak byl jímán do titrační baňky s 50 ml 2 hmot. %  $H_3BO_3$ , do které bylo ponořeno ústí chladiče, a kyselina boritá byla probublávána přítomným amoniakem ve vzorcích. Po 20 minutách byla destilace ukončena, konec chladiče byl opláchnut destilovanou vodou. Do titrační baňky byly přidány 4 kapky Tashiro indikátoru a destilát byl titrován  $0,025 \text{ mol.l}^{-1} H_2SO_4$  do červenofialového zbarvení. Z množství spotřebované kyseliny sírové byl vypočten obsah dusíku ve vzorcích ( $m_B, m_{BR}$ ) [106].

Stanovení obsahu popela

Do zvážených předžíhaných kelímků byly vloženy vysušené filtrační papíry se zbytky nerozpustné a rozpustné vlákniny. Mineralizace probíhala v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po vychladnutí byly kelímky zváženy ( $m_P$ ,  $m_{PR}$ ).

○ **Výpočet obsahu nerozpustné vlákniny ve vzorcích jablečné výživy**

Obsah nerozpustné vlákniny byl vypočítán podle rovnice [%]:

$$\mathbf{IDF} = \frac{m_{IDF} + m_B + m_P + m_{SP}}{n} \cdot 100$$

kde:  $IDF$  je obsah nerozpustné vlákniny [%]

$m_{IDF}$  je hmotnost vysušeného filtračního papíru s nerozpustnou vlákninou [g]

$m_B$  je hmotnost bílkovin (vysušený filtrační papír s nerozpustnou vlákninou) [g]

$m_P$  je hmotnost popela (vysušený filtrační papír s nerozpustnou vlákninou) [g]

$m_{SP}$  je součet hmotnosti bílkovin a popela u slepého pokusu (prázdný filtrační papír) [g]

$n$  je navážka vzorku [g] [106].

○ **Výpočet obsahu rozpustné vlákniny ve vzorcích jablečné výživy**

Obsah rozpustné vlákniny byl vypočítán podle rovnice [%]:

$$\mathbf{SDF} = \frac{m_{SDF} + m_{BR} + m_{PR} + m_{SP}}{n} \cdot 100$$

kde:  $SDF$  je obsah rozpustné vlákniny [%]

$m_{SDF}$  je hmotnost vysušeného filtračního papíru s rozpustnou vlákninou [g]

$m_{BR}$  je hmotnost bílkovin (vysušený filtrační papír s rozpustnou vlákninou) [g]

$m_{PR}$  je hmotnost popela (vysušený filtrační papír s rozpustnou vlákninou) [g]

$m_{SP}$  je součet hmotnosti bílkovin a popela u slepého pokusu (prázdný filtrační papír) [g]

$n$  je navážka vzorku [g] [106].

### 7.5.2 Postup stanovení pro metoda Fruktan metodou (AOAC 999.03)

Nejdříve byla připravena všechna činidla a enzymy dle návodu dodávaného v soupravě Megazyme K-FRUC (enzym A, enzym 2) [112].

Pro kontrolu účinnosti látek v soupravě (setu) byl stejný postup jako u vzorků proveden také u *extraktu kontrolního vzorku fruktan/celulóza*. Bylo naváženo 0,196 g moučky fruktan/celulózy, které odpovídá 5 % -ní koncentraci fruktanu [112].

Ke vzorkům, které byly upraveny podle postupů uvedených v tabulkách č. 4., 5. a 6. bylo přidáno 80 ml destilované vody předehřáté na 80 °C. Vzorky byly zahřívány 15 minut. Po zchlazení na pokojovou teplotu byly vzorky přelity do 100 ml odměrných baněk a doplněny po rysku, následně byly vzorky zfiltrány přes filtrační papíry. Z každého filtračního podílu bylo odebráno 200 µl vzorku do skleněných zkumavek, do nichž bylo přidáno 200 µl enzymu A, zkumavky byly inkubovány při 40 °C po dobu 30 minut. Po inkubaci bylo přidáno 200 µl činidla 3 a byla provedena hydrolyza při teplotě 40 °C po dobu 30 minut. Dále bylo ke vzorkům odpipetováno 500 µl činidla 4 a obsah byl následně protřepán na Vortex třepačce. Z každé zkumavky bylo odpipetováno 200 µl podílu směsi na dno tří zkumavek. Do dvou těchto zkumavek bylo přidáno 100 µl enzymu 2. Do třetí zkumavky bylo přidáno 200 µl pufru 2. Všechny zkumavky byly poté inkubovány při teplotě 40 °C 20 minut [112].

Současně se vzorky bylo provedeno stanovení se *standardem fruktózy a slepým činidlem*.

*Standard fruktózy* byl připraven smícháním 200 µl roztoku standard fruktózy a 900 µl pufru 2 a dobře protřepán. Poté bylo odebráno 200 µl na dno tří zkumavek. K těmto zkumavkám bylo přidáno 100 µl pufru 2. *Slepé činidlo* bylo připraveno odpipetováním 300 µl pufru 2 do jedné zkumavky [112].

Během inkubace bylo připraveno *pracovní činidlo PAHBAH* smícháním roztoku A a roztoku B v poměru 1 : 9. Vzhledem k tomu, že toto činidlo je nestálé, musí být připraveno těsně před analýzou. Toto činidlo bylo přidáno v objemu 5 ml do všech zkumavek se vzorky, slepými vzorky, standardy fruktózy, slepým činidlem a vzorky fruktan/celulózy. Následně byla provedena inkubace v lázni při teplotě 100°C po dobu 6 minut. Po 6 minutách byly vzorky rychle zchlazeny ve studené vodní lázni s ledem. Vzhledem k nestálosti barevného komplexu, muselo zchlazení vzorků i následné měření

absorbance proběhnout do 10 minut. Absorbance vzorků byla změřena proti slepému činidlu při 410 nm [112].

o **Výpočet obsahu inulinu ve vzorcích jablečné výživy**

Množství fruktanu ve vzorcích bylo vypočteno podle vztahu [%]:

$$\text{Fruktan} = \Delta E \cdot F \cdot \frac{V}{W} \cdot 2,48$$

kde:  $\Delta E$  je rozdíl absorbance vzorku a absorbance slepého vzorku (obě odečteny proti slepému činidlu)

F je faktor po převedení hodnot absorbance na  $\mu\text{g}$  fruktózy

V je objem použitého extraktu [ml]

W je hmotnost extrahovaného vzorku [mg]

2,48 je přepočítací faktor, který zahrnuje faktor pro převod volné fruktózy na bezvodou fruktózu (a bezvodou glukózu), jak se vyskytuje ve fruktanech (162/180) a zřed'ovací faktor (1,1/0,2) [112]

## 8 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro stanovení inulinu v dětské jablečné výživě byly použity dvě různé enzymatické metody. Výsledky obou metod byly následně srovnány.

Enzymatickou metodou Total dietary fibre (TDF metoda) byl stanoven vliv přísadků různých koncentrací sacharidů (sacharózy a glukózy), které jsou součástí jablečné výživy, v kombinaci s teplotním záhřevem pro posouzení rozsahu hydrolyzy inulinu.

Pomocí metody AOAC 999.03 (Fruktan metoda) byl stanoven obsah inulinu po jeho přísadku do vzorků jablečné výživy ve výši 5 %. Tato metoda byla použita i pro sledování různých faktorů, které mohou ovlivnit koncentraci inulinu ve finálním výrobku. Byl zkoumán teplotní účinek, kterému je podrobena ovocná výživa při výrobě jablečné výživy, a samostatný vliv přísadků jednotlivých sacharidů na hydrolyzu inulinu a jeho množství v konečném výrobku. Dále byl zjišťován vliv obsahu různých koncentrací (5 %, 10 % a 15 %) sacharidů (sacharózy, glukózy a fruktózy) v kombinaci s teplotním záhřevem, který napodoboval tepelné záhřevy při výrobě, na výtěžnost inulinu.

### 8.1 Obsah inulinu pomocí TDF metoda (Total dietary fibre)

Inulin byl stanoven jako rozpustná vláknina po enzymatické hydrolyze enzymy – termostabilní  $\alpha$ -amylázou, proteázou a amyloglukozidázou při různých teplotních záhřevech a časových inkubacích dle podmínek účinnosti enzymu [112].

#### 8.1.1 Vliv teploty a přísadků sacharidů

##### 8.1.1.1 Nerozpustná vláknina

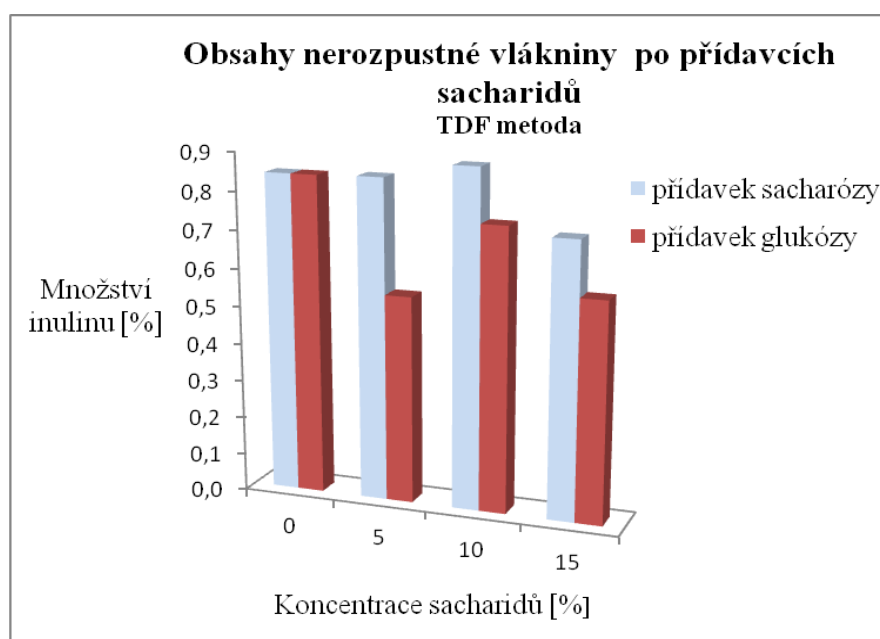
Nerozpustná vláknina je tvořena zejména celulózu, ligninem a částmi hemicelulóz [3]. Byl zjišťován její obsah v jablečné dětské výživě a její výsledky, s ohledem na různý obsah sacharidů, jsou zaznamenány v tabulce č. 8 obsahy a graficky jsou znázorněny na obrázku 19.



Tabulka 8: Obsah nerozpustné vlákniny po přidavcích sacharidů a teplotním záhřevu

Enzymatická metoda – nerozpustná vláknina		
Přidavky sacharidů s teplotním záhřevem 85 °C a 95 °C po 25 minutách		
Koncentrace sacharidů [%]	Množství nerozpustné vlákniny po přidavcích sacharózy [%]	Množství nerozpustné vlákniny po přidavcích glukózy [%]
0	0,84	0,84
5	0,85	0,55
10	0,89	0,75
15	0,72	0,58

Množství nerozpustné vlákniny v jablečné výživě bylo stanoveno v malém množství a nebyl prokázán vliv obsahu jednotlivých sacharidů ani jejich rozdílných koncentrací na obsah nerozpustné vlákniny ve vzorcích jablečné výživy. Rozdíly v jednotlivých stanoveních mohou být zatíženy chybou stanovení. Tato chyba může být zapříčiněna vznikem gelu, který se vytvořil během inkubace a velmi ztěžoval filtraci enzymové směsi. Filtrace musela být provedena přes několik filtračních papírů, což mohlo vést k ovlivnění výsledků.



Obrázek 19: Obsah nerozpustné vlákniny v jablečné výživě

### 8.1.1.2 Rozpustná vláknina

Mezi rozpustnou vlákninu jsou řazeny pektiny, slizy, gummy a také inulin [3, 13].

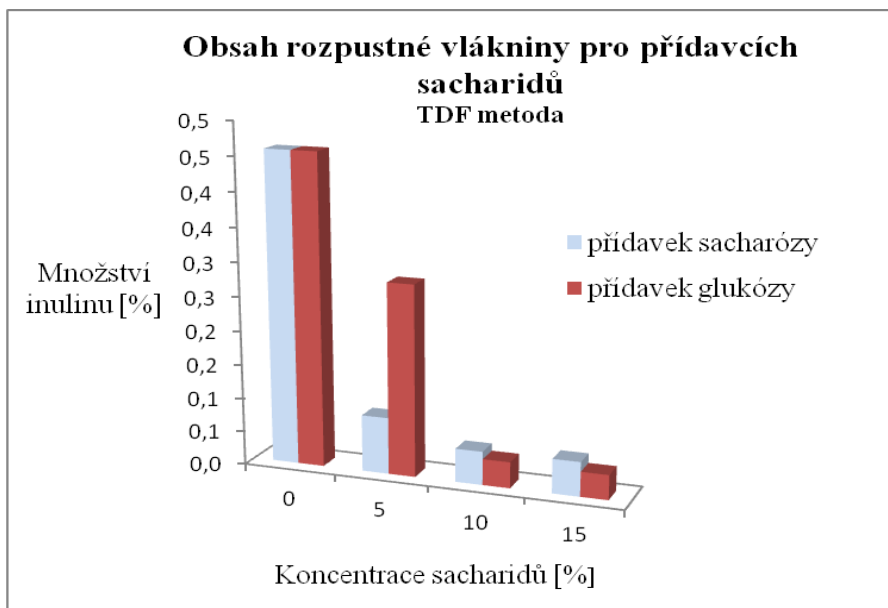
V tabulce 9 jsou uvedeny výsledky obsahů inulinu, který byl stanoven jako rozpustná vláknina po přidavku různých koncentrací sacharidů v dětské jablečné výživě pomocí TDF metody a graficky jsou znázorněny na obrázku 20.

Tabulka 9: Obsah rozpustné vlákniny po přidavcích sacharidů a teplotním záhřevu

<b>Enzymatická metoda – rozpustná vláknina</b>		
<b>Přídavky sacharidů s teplotním záhřevem 85 °C a 95 °C po 25 minutách</b>		
Koncentrace sacharidů [%]	Množství inulinu po přidavcích sacharózy [%]	Množství inulinu po přidavcích glukózy [%]
<b>0</b>	0,46	0,46
<b>5</b>	0,08	0,28
<b>10</b>	0,05	0,04
<b>15</b>	0,05	0,04

TDF metodou bylo stanoveno množství inulinu, jako rozpustná vláknina, ve vzorcích jablečné výživy v zanedbatelném množství. Vzhledem k rozpustnosti inulinu v 95 % etanolu mohlo dojít k ovlivnění výsledků jeho stanovení. Z těchto výsledků nelze odvodit závislost vlivu jednotlivých sacharidů ani jejich rozdílných koncentrací na obsah inulinu ve vzorcích podrobených uvedenému teplotnímu režimu.

I přesto, po vyšších přidavcích sacharidů má množství stanoveného inulinu klesající tendenci. Po přidavcích 10 % a 15 % obou sacharidů došlo k výraznému snížení obsahu inulinu až na 0,05 %, přičemž celkový inhibiční účinek obou sacharidů byl srovnatelný.



Obrázek 20: Vliv sacharidů a teplot na výtěžnost inulinu

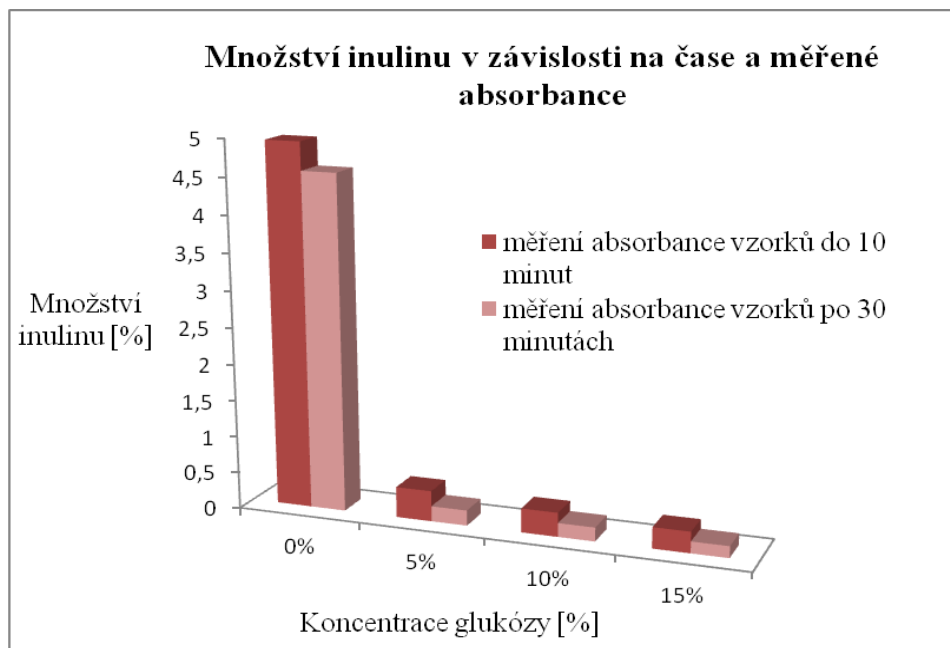
Z důvodu vysoce podhodnocených výsledků při stanovení obsahu inulinu v dětské výživě metodou TDF, další stanovení touto metodou nebyly provedeny.

## 8.2 Obsah inulinu pomocí metody Fruktan metoda (AOAC 999.03)

Metoda je založena na měření obsahu fruktózy a glukózy ve vzorcích po hydrolýze fruktanů přídavkem enzymů, které při teplotě 40 °C odstraní poly-, di- a monosacharidy [106].

### 8.2.1 Ověření stability barevného komplexu

Metoda AOAC 999.03 je velmi specifická, časově náročná a měření absorbance vzorků musí proběhnout do 10 minut, neboť barevný komplex časem slábně, což způsobuje chybu při stanovení obsahu fruktanů ve vzorcích. Proto byla ověřena časová závislost při měření absorbancí na jejich hodnoty pro zajištění správnosti výsledků při stanovení inulinu ve vzorcích jablečné výživy. Na obrázku 21 je zobrazen úbytek stanoveného inulinu při měření absorbance po 30 minutách.



Obrázek 21: Časová závislost na hodnotu měření absorbance po 30 minutách

U vzorku samostatné výživy s obsahem inulinu 5 % došlo ke snížení inulinu o 0,08 % oproti hodnotě změřené do 10 minut. V případě přísadků obsahu glukózy vykazoval barevný komplex větší intenzitu a také jeho stabilita byla mnohem menší. Množství stanoveného inulinu se snížilo v závislosti i na její koncentraci sacharidů, a to o 46 %.

### 8.2.2 Vliv teploty na obsah inulinu

Rozpustnost inulinu je zvyšována s rostoucí teplotou. Inulin může být stabilní až do teplot 140 °C v rozpouštědlech v prostředí neutrálního pH [74].

Výsledky obsahu inulinu v závislosti na různých teplotních režimech jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka 10: Obsah inulinu po teplotních záhřevech

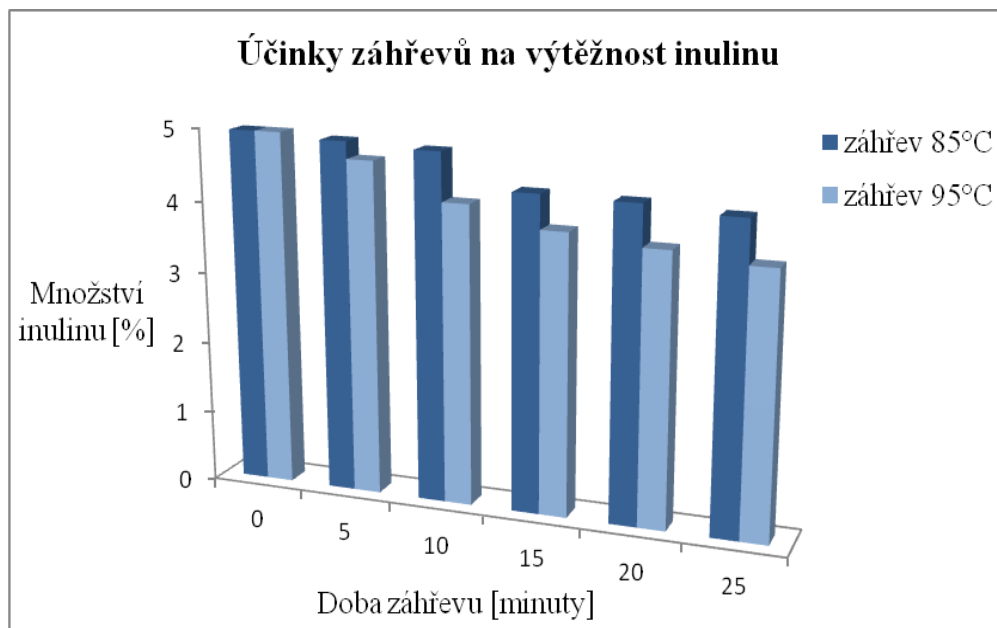
<b>Fruktan metoda</b>		
<b>Vliv teploty 85 °C a 95 °C</b>		
Doba záhřevu [min]	Množství inulinu po záhřevu 85 °C [%]	Množství inulinu po záhřevu 95 °C [%]
<b>0</b>	4,96	4,96
<b>5</b>	4,89	4,65
<b>10</b>	4,83	4,16
<b>15</b>	4,36	3,89
<b>20</b>	4,33	3,76
<b>25</b>	4,24	3,64

Ve vzorku jablečné výživy s přidavkem 5 % inulinu bez působení teplot byl stanoven obsah inulinu ve výši 4,96 %. Menší ztráta inulinu mohla být způsobena vlivem přidavku destilované vody předeřáté na 80 °C, který také mohl způsobit částečnou hydrolyzu inulinu.

Z výsledků je patrné, že časový interval působení daných teplot ovlivňuje hydrolyzu inulinu a tím také jeho obsah ve vzorku. Působením teplot 85 °C a 95 °C po určitou dobu docházelo k postupnému snižování obsaženého inulinu, přičemž teplota 95 °C měla vyšší inhibiční účinek než teplota 85 °C.

Po 25 minutách obsah inulinu poklesl vlivem teploty 85 °C celkem o 15 %, působením teploty 95 °C po stejnou dobu poklesl až o 27 %.

Klesající tendence obsahu inulinu po záhřevu na 85 °C a 95 °C v závislosti na době působení těchto teplot je patrná z obrázku 22.



Obrázek 22: Teplotní vliv na výtěžnost inulinu

### 8.2.3 Vliv přísadků sacharidů na obsah inulinu

Inulin může ve vodných roztocích nebo potravinách podléhat větší hydrolyze v přítomnosti sacharidů [75]. Vzhledem ke skutečnosti snadnější hydrolyzy, byl zkoumán inhibiční účinek sacharózy, glukózy a fruktózy, které byly přidány ke vzorkům v různých koncentracích, na obsah inulinu ve vzorcích jablečné výživy.

Výsledky obsahu inulinu jsou uvedeny v tabulce č. 11. Grafické znázornění vlivu různých koncentrací glukózy, sacharózy a fruktózy na obsah inulinu v dětské jablečné výživě je znázorněno na obrázku 23.

Tabulka 11: Obsah inulinu po přidavku různých koncentrací sacharidů

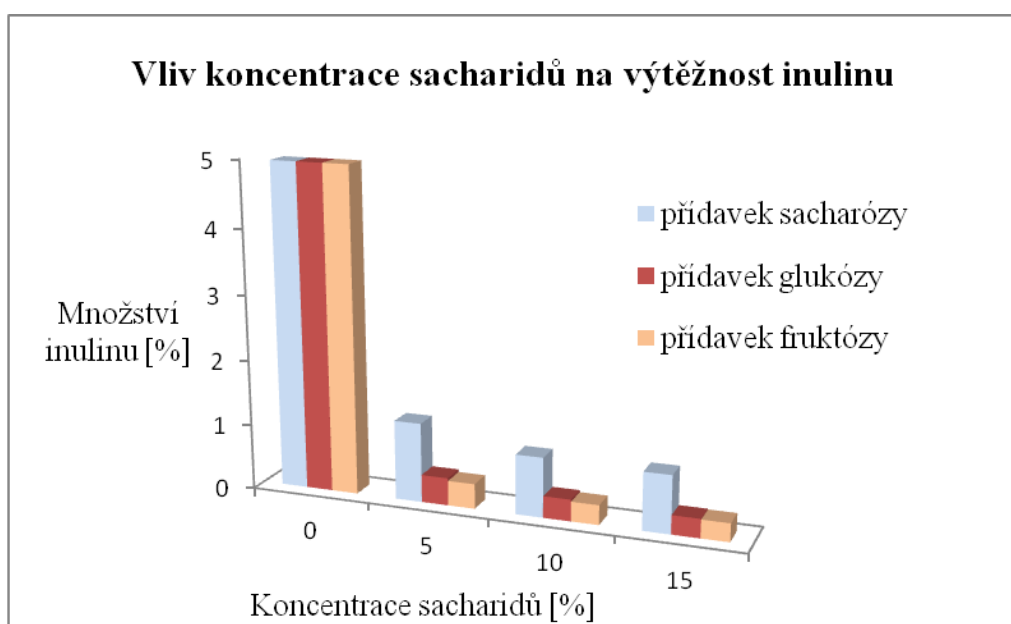
<b>Fruktan metoda</b>			
<b>Přídavky sacharidů</b>			
Koncentrace sacharidů [%]	Množství inulinu po přídavcích sacharózy [%]	Množství inulinu po přídavcích glukózy [%]	Množství inulinu po přídavcích fruktózy [%]
<b>0</b>	4,96	4,96	4,96
<b>5</b>	1,21	0,42	0,38
<b>10</b>	0,91	0,33	0,30
<b>15</b>	0,88	0,29	0,28

Ve vzorku dětské jablečné výživy s 5 % přídavkem inulinu byl zjištěn pomocí Frukταν metody obsah inulinu ve výši 4,96 %.

Po přídavku různých koncentrací (5, 10 a 15 %) sacharózy, glukózy a fruktózy došlo k velkému snížení obsahu inulinu ve všech případech. Přičemž nejnižší inhibiční účinek vykazovala sacharóza. Již přídavek 5 % sacharózy ke vzorku způsobil snížení obsahu inulinu o 75 %, zatímco u dalších dvou sacharidů – glukózy a fruktózy představovalo snížení dokonce 92 %.

V případě přídavků sacharidů v koncentracích 10 % již pokles nebyl tak razantní a u sacharózy činil 82 %, u glukózy došlo ke snížení o 93 % a přídavkem fruktózy byl pokles nejvyšší o 94 %.

Po přídavku sacharidů v koncentraci 15 % se obsah inulinu snížil o 83 % v případě sacharózy a u glukózy a fruktózy o 95 %.



Obrázek 23: Vliv přídavků sacharidů na výtěžnost inulinu

Vysoký inhibiční účinek vykazovaly fruktóza i glukóza. Podle publikovaných údajů byl zjištěn větší inhibiční účinek fruktózy než glukózy [75]. V případě námi použité nízké koncentrace inulinu 5 %, nebyl zjištěn rozdíl v inhibičním účinku těchto dvou sacharidů.

#### 8.2.4 Synergický účinek teploty a přídavků sacharidů na obsah inulinu

K hydrolyze inulinu dochází především v kyselém prostředí s hodnotami pH nižšími než 3 nebo dlouhodobým působením vyšších teplot [76].

Vzhledem k tomu, že hodnota pH ve vzorku jablečné výživy byla menší než 4, která podporuje hydrolyzu inulinu, byl zjišťován i synergický účinek teploty a přísadků různých koncentrací sacharidů na obsah inulinu. Výsledky tohoto stanovení jsou uvedeny v tabulce 12. Grafické znázornění vlivu přísadků různých sacharidů a teplotního záhřevu na obsah inulinu v dětské ovocné výživě je provedeno na obrázku 24.

Tabulka 12: Synergický účinek sacharidů a tepelného záhřevu na obsah inulinu

<b>Fruktan metoda</b>			
<b>Přísadky sacharidů s teplotním záhřevem 85 °C a 95 °C po dobu 25 minut</b>			
Koncentrace sacharidů [%]	Množství inulinu po přísadkách sacharózy [%]	Množství inulinu po přísadkách glukózy [%]	Množství inulinu po přísadkách fruktózy [%]
<b>0</b>	4,06	4,06	4,06
<b>5</b>	0,84	0,39	0,35
<b>10</b>	0,58	0,31	0,26
<b>15</b>	0,48	0,26	0,22

Vzorky jablečné výživy, které obsahovaly různé přísadky sacharózy, glukózy a fruktózy byly podrobeny tepelnému režimu, který odpovídá technologickým požadavkům při její výrobě. Byly vystaveny působení teplot 85 °C a 95 °C vždy po 25 minutách. Vlivem působení obou faktorů, přísadkem sacharidů i teploty, byly zjištěny vyšší poklesy obsahu inulinu v jablečné výživě, než účinek samostatného působení sacharidů nebo teplotního režimu.

Pouhý účinek teploty a doby (25 minut 85 °C a následně 25 minut 95 °C), kterým byl vzorek výživy vystaven, bez přísadku sacharidů způsobil snížení obsahu inulinu z původního přísadku 5 % na 4,06 %.

Avšak, radikální inhibiční účinek na obsah inulinu v jablečné dětské výživě byl zjištěn kombinací účinku teplot s přísadkem různých sacharidů, a to již v koncentraci 5 % pro všechny tři použité sacharidy. Podobně jako tomu bylo u předchozí zkoušky, vyšší inhibiční účinek vykazovaly glukóza a fruktóza, které způsobilý snížení obsahu inulinu o 93 %.

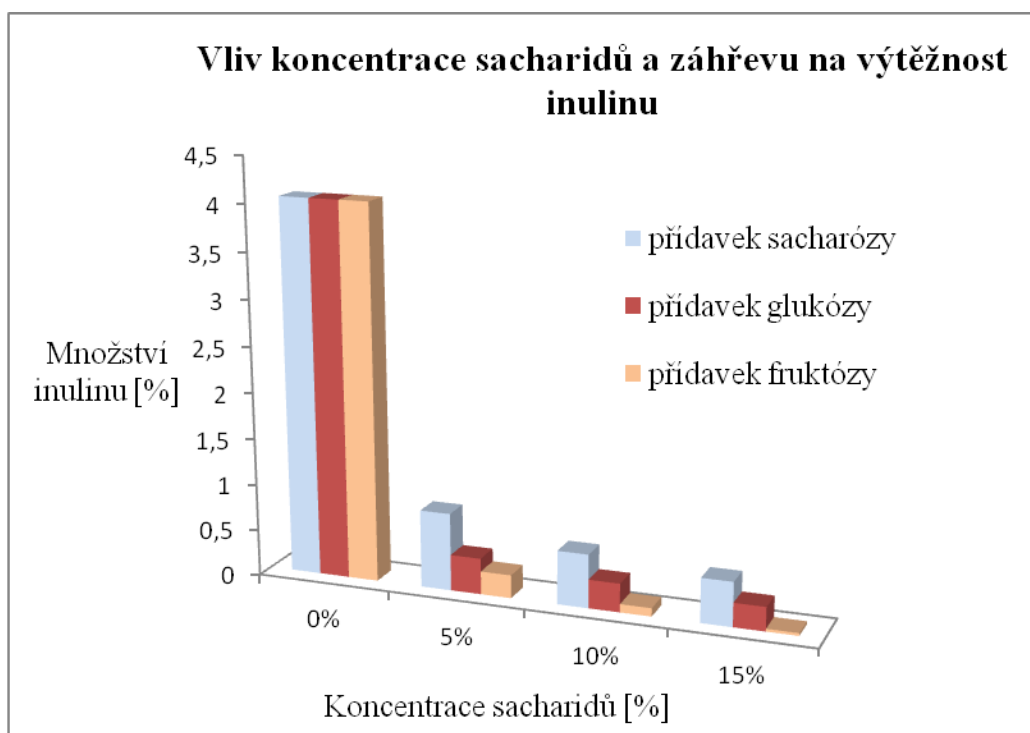
V případě přísadku 10 % koncentrace sacharidů se snížil obsah inulinu o 88 % přísadkem sacharózy, v případě glukózy o 94 % a o 95 % u fruktózy.



V případě synergického působení teploty a přídavku sacharidů, vyšší inhibiční účinek vykazovala fruktóza ve shodě s publikovanými údaji [75].

Největší snížení obsahu inulinu o 96 % bylo zaznamenáno přídavkem 15 % fruktózy a nejnižší 83 % u 5 % přídavku sacharózy.

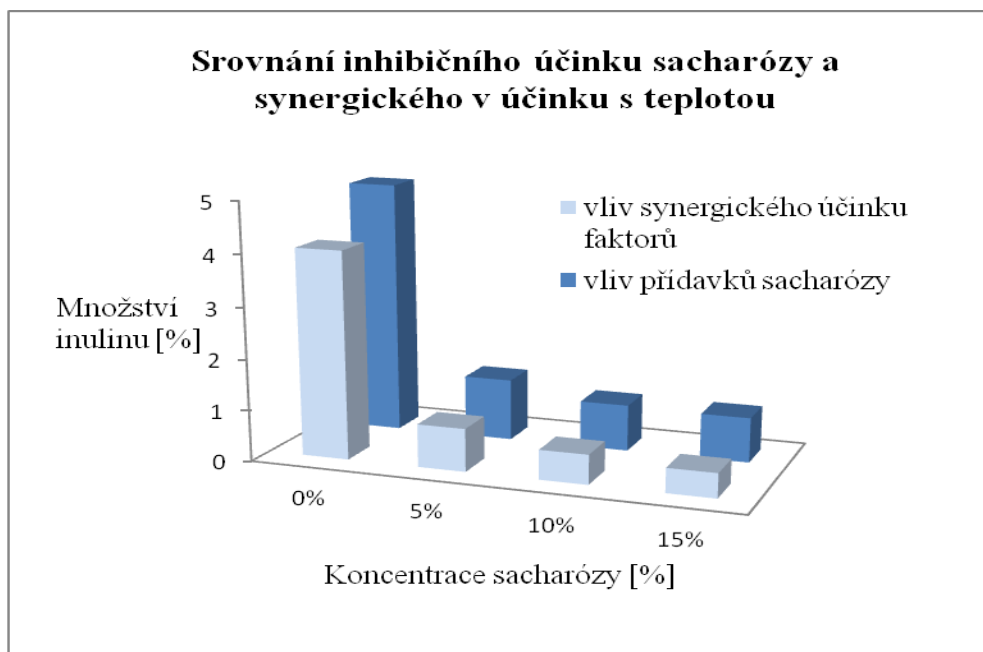
Na snížení množství stanoveného inulinu se může podílet i pH jablečné výživy. Hodnota pH výživy je 3,86. Kyselé prostředí podporuje hydrolyzu inulinu a tím i jeho snížení obsahu ve vzorcích.



Obrázek 24: Vliv sacharidů a teplot na výtěžnost inulinu

### 8.2.5 Srovnání vlivu přídavků sacharidů a synergického účinku teploty a přídavků sacharidů na obsah inulinu

Porovnání inhibičních účinků pouhých přídavků sacharidů a synergického účinku sacharidů a teploty na obsah inulinu ve vzorcích jablečné výživy je znázorněn na obrázku 25.



Obrázek 25: Srovnání přísad sacharózy a synergického vlivu sacharózy a teplot na výtěžnost inulinu

Z obrázku je patrné, že spolupůsobení těchto dvou faktorů má za následek vysokou hydrolyzu inulinu, což se projeví velmi negativním účinkem na jeho obsah ve finálním výrobku a může znamenat, že výrobek nemůže být označen jako výrobek s obsahem vlákniny, pokud dojde poklesu jeho hodnoty pod 3 g na 100 g výrobku [7].

Z dosažených výsledků je zřejmé, že metoda TDF není pro stanovení inulinu vhodná, na rozdíl od Fuktan metod. Fuktan metoda je enzymatická metoda, která je náročná na stanovení a přesnost prováděných analýz. Tato metoda poskytovala reprodukovatelné výsledky a s její pomocí byly zjištěny a ověřeny faktory, které se negativně podílí na hydrolyze inulinu v ovocných výživách, které vykazují kyselé pH, zvláště v přítomnosti dalších sacharidů. V případě jejich synergického působení, fruktóza vykazovala nejvyšší inhibiční účinek na obsah inulinu.

Ze zjištěných výsledků je patrné, že přísadek inulinu do ovocných výživ není vhodný při nutnosti splnění všech technologických náležitostí, jako je působení teploty po určitou dobu v případě výroby dětských výživ, které jsou uloženy normou. Bylo by vhodné se zaměřit na jiný typ rozpustné vlákniny, která by nepodléhala hydrolyze při těchto technologických podmínkách. Mezi takovou vlákninu patří např. ovesné vločky. Bylo by však nutné i v jejich případě ověřit podmínky, kterým jsou výrobky vystaveny při technologickém zpracování.

## ZÁVĚR

V současné době význam vlákniny neustále vzrůstá. Je důležitým zdrojem minerálních látek a vitaminů. V dnešní době je ale těžké obzvláště malým dětem podat vlákninu v přijatelné formě. Proto je přidávána do kojeneckých výživ ve formě rozpustné vlákniny – inulinu, který je nejenom zdrojem vlákniny, ale také zvyšuje nutriční hodnotu výrobku a působí prebioticky v tlustém střevě. Vzhledem k tomu, že se jedná o rozpustnou vlákninu, může být jeho obsah ve finálním výrobku ovlivněn různými faktory, kterým je podroben při technologické zpracování.

V práci byl sledován vliv přísad sacharidů (sacharózy, glukózy a fruktózy) v různých koncentracích na rozpustnost inulinu v jablečných dětských výživách. Dále byl zjišťován teplotní účinek a synergický vliv obou faktorů na rozpustnost inulinu v těchto výrobcích.

Inulin byl stanoven v kojenecké jablečné výživě pomocí dvou enzymatických metod – TDF a Fruktan metoda (AOAC 999.03). Druhá metoda byla určena jako vhodná pro stanovení inulinu v ovocných výživách.

Pomocí TDF metody bylo množství stanoveného inulinu ve vzorcích velmi nízké. Bylo potvrzeno, že tato metoda není vhodná pro stanovení fruktanů, jelikož dochází ke srážení rozpustné vlákniny etanolem. Z tohoto důvodu nebyla pro další stanovení inulinu použita.

TDF metodou byl stanoven pouze obsah nerozpustné vlákniny v jablečné výživě. Obsah nerozpustné vlákniny ve výživě činil 0,83 % po přidavku sacharózy. Po přidavku glukózy byl stanoven obsah nerozpustné vlákniny ve výši 0,63 %. Vliv přísad různých koncentrací na obsah inulinu však nebyl potvrzen, spíše se jednalo o odchylky způsobené při filtraci gelovitých směsí, které mohly být zdrojem chyb stanovení.

Fruktan metoda se ukázala být přesnější metodou, která je náročná na provedení a musí být zajištěno velmi rychlé měření absorbancí z důvodu nestability barevného zbarvení po vybarvení pracovním činidlem PAHBAH (vzniká smícháním roztoku A – roztok hydrazidu kyseliny p-hydroxybenzoové s kyselinou chlorovodíkovou a roztoku B – roztok citrátu trisodného s dihydrátem vápenatým těsně před analýzou). Bylo zjištěno, že absorbance musí být změřeny do 10 minut, aby nedošlo k ovlivnění výsledků.

Původní obsah 5 % inulinu, který byl přidán do jablečné výživy, byl Fruktan metodou stanoven ve výši 4,96 %. Působením teplot se původní množství inulinu neustále snižovalo. Z původního přísadku 5 % došlo působením teploty 85 °C po dobu 25 minut

ke snížení inulinu o 15 %. Účinkem teploty 95 °C po dobu 25 minut se snížil obsah inulinu o 27 %.

U všech použitých sacharidů bylo zjištěno snížení obsahu inulinu ve všech testovaných koncentracích. Nejnižší inhibiční účinek vykazovala sacharóza. Nejvyšší inhibiční účinek způsobila fruktóza, zejména při synergickém působení teplot a patrně i vlivem nízkého pH daného výrobku.

Společným působením obou faktorů, teploty i přidavkem jednotlivých sacharidů v různých koncentracích, byl inhibiční účinek na množství stanoveného inulinu větší i u dalších sacharidů, sacharózy a glukózy.

Z výsledků vyplývá, že obsah sacharidů, které mohou být ve vzorcích ovocných výživ přítomny, může negativně ovlivnit obsah inulinu ve finálním výrobku, přičemž inhibiční účinek fruktózy byl nejvyšší. Také působení teplot při technologickém zpracování napomáhá větší hydrolýze inulinu v jablečné výživě.

Z těchto důvodů musí být inulin přidáván ve vyšším množství, aby byla splněna podmínka obsahu nejméně 3 g vlákniny ve 100 g ve výrobku, aby mohl být označen jako „výrobek s vlákninou“, což může zvyšovat výrobní náklady.

Dalším řešením by mohlo být použití jiného typu rozpustné vlákniny, který nepodléhá hydrolýze v tak velkém rozsahu. Mezi takovou vlákninu je možné zahrnout ovesné vločky, které také vykazují prebiotický účinek. Účinky takové vlákniny by však bylo vhodné opět ověřit laboratorními zkouškami.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] GUILLON, F., M. CHAMP a J. – F. THIBAUT. Dietary fibre functional products. In: SUNGSOO CHO Susan, Leon PROSKY a Mark DREHER, editors. *Complex Carbohydrates in Foods*. 1999. New York: INTRA. 315 – 364.
- [2] ZAMRAZILOVÁ, Elvíra a Jaroslav MAYZLÍK. *Vláknina potravy – význam ve výživě a v klinické medicíně*. Praha: Avi-cenum, 1989, s. 39. ISBN 08-092-89.
- [3] TUNGLAND, B. C., D. MEYER. Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2002, vol. 3, s. 90 – 109.
- [4] FRÜHAUF, Pavel. Komplementární výživa kojenců a batolat. *Pediatricie po promoci*. 2004, 2, 42 – 45. Praha, Klinika dětského a dorostového lékařství, [online]. [2012-03-06]. Dostupné z: <http://kddl.lf1.cuni.cz/os/fruhauf.html>.
- [5] CHERBUT, C., J. L. BARRY, D. LAIRON a M. DURAND. Dietary fibre: mechanismus of action in human physiology and metabolism. Paris: John Libbey Eurotext, ©1997. s. 94. ISBN 978-274-200-096-8.
- [6] KRITCHEVSKY, David a Charles BONFIELD, CH. Dietary fiber in health & disease. Washington, D. C.: Eagan Pr, ©1995. s. 486. ISBN 978-09-624-4076-2.
- [7] Vyhláška 330/2009 Sb. ze dne 25. září 2009 o označování výživové hodnoty potravin. Dostupné z [www: http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:012:0003:0018:CS:PF](http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:012:0003:0018:CS:PF).
- [8] GRAY, J. *Dietary Fibre*. Belgium [etc]: ILSI Europe, ©2006. ISBN 90-78637-03-X.
- [9] GROFOVÁ, Zuzana. *Nutriční podpora: praktický rádce pro sestry*. Praha: Grada, ©2007, 237 s. ISBN 978-802-4718-682.
- [10] HAINER, Vojtěch. *Základy klinické obezitologie*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, ©2011, 422 s. ISBN 978-802-4732-527.
- [11] CLARK, Nancy. *Sportovní výživa – nové, přepracované vydání*. Praha: Grada, ©2009, 352 s. ISBN 978-802-4727-837.

- [12] FRÜHAUF, Pavel. Vlákna v dětské výživě. *Pediatric pro praxi*. 2007. Praha, Klinika dětského a dorostového lékařství. 12 – 16. [online]. [2012-01-26]. Dostupné z: [http://kddl.lf1.cuni.cz/download/fruhauf/vlaknina\\_v\\_detske\\_vyzive.pdf](http://kddl.lf1.cuni.cz/download/fruhauf/vlaknina_v_detske_vyzive.pdf).
- [13] ZELINKOVÁ, Lenka. *Vlákna a její příjem*. Brno, 2006. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Dostupné z [http://is.muni.cz/th/67375/lf\\_m/DIPLOMKA.txt](http://is.muni.cz/th/67375/lf_m/DIPLOMKA.txt).
- [14] SUNGSOO CHO Susan, Leon PROSKY a Mark DREHER. *Complex Carbohydrates in Foods*. New York: Marcel Dekker. 1999. 700 s. ISBN 0-8247-0187-9.
- [15] KUNOVÁ, V. *Zdravá výživa*. Praha: Grada, 2004. 136 s., ISBN 80-247-0736-5.
- [16] STŘEDA, Leoš. *Univerzita hubnutí*. Praha: Euroinstitut.eu spol.spol. s.r.o. 251 s. ISBN 978-80-873-7200-5.
- [17] RODRIGES, C. I. et. al. Stable isotope analysis for green coffee bean: A possible method for geographic origin discrimination. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, vol. 22, s. 463 – 471.
- [18] BUŇKA, František; Václav NOVÁK, a Helena KADIDLOVÁ. *Ekonomika výživy a výživová politika 1*. UTB ve Zlíně: Zlín 2006. ISBN 80-7318-429-X.
- [19] KOVAČIKOVÁ, Eva, Alexandra VOJTAŠŠÁKOVÁ a kol. Vlákna v potravinách. In: vup sk [online]. Bratislava: Výskumný ústav potravinársky, [cit. 2012-03-09].
- [20] THEANDER, O. et al. Total dietary fiber determined as neutral sugar residues, uronic acid residues, and Klason lignin (the Uppsala method): collaborative study. *Journal of AOAC International*, 1995, vol. 78, s. 1030 – 1044]
- [21] ENGLYST et. al. In: Gibson, G. R. a C. M Williams: *Functional foods Concept to product*. Cambridge, CRC Press, 1982, p. 350 – 353.
- [22] PRUGAR, Jaroslav. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, 2008. s. 327, ISBN: 978-80-86576-28-2.
- [23] KOHOUT, Pavel a Eva CHOČENSKÁ. Průzkum příjmu vlákniny v České republice. *Výživa a potraviny* 62, 2007, 9-10, s. 129, ISSN: 1211-846X.

- [24] ROKOSOVÁ, Monika. *Vláknina v potravinách a výživě vybraných věkových skupin*. České Budějovice, 2011. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Fakulta pedagogická. Katedra výchovy ke zdraví.
- [25] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o údajích týkajících se potravin z hlediska jejich nutriční hodnoty a vlivu na zdraví. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:012:0003:0018:CS:PDF>
- [26] ŠEBESTOVÁ, Eva. *Zdroje inulinu v potravě a jeho dietetický význam*. Brno, 2007. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta lékařská.
- [27] WOUTERS, Rudy. Inulin. In: Alan IMESON, editor. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. 2010. Iowa: John & Sons. s. 180 – 197. ISBN 14-051-3267-1.
- [28] TARREGA, A., A ROCAFULL. a E. COSTELL. Effect of blends of short and long-chain inulin on the rheological and sensory properties of prebiotic low-fat custards. *LWT-Food Science and Technology*. 2000, vol. 43, s. 556 – 562.
- [29] EVAGELIOU, V., G. TSELIU, I. MANDALA a M. KOMAITIS. Effect of inulin on texture and clarity of gellan gels. *Journal of Food Engineering*. 2010, vol. 101, s. 381 – 385.
- [30] GIBSON, R. Glenn et. al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 2004, vol. 17, s. 259 – 275.
- [31] Diabetic sweetener. Wild flowers. Dostupné z: <http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/E/Elecampane/Elecampane.htm>.
- [32] ROBERFROID, B. Marcel. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. *The Journal of Nutrition*. 2007. vol. 137, s. 2493S – 2502S.
- [33] RONKART, S. N., M. PAQUOT, CH. FOUGNIES, C. DEROANNE, J-C. VAN HECK a CH. BLECKER. Effect of water uptake on amorphous inulin properties. *Food Hydrocolloids*. 2009, vol. 70, s. 922 – 927.
- [34] HERMANS, D. a J.- P. BUTS. Střevní flóra: klíčový faktor zdraví kojenců. *Čtvrtletní noviny* [online]. 2002, č. 2. [cit. 2012-01-30]. Dostupné z: [http://www.nutriciamedical.cz/download/2\\_2002.pdf.cz//](http://www.nutriciamedical.cz/download/2_2002.pdf.cz//)

- [35] GREGER, L. J. Nondigestible Carbohydrates and Mineral Bioavailability. *The Journal of Nutrition*. 1999, vol. 129, s. 1434S – 1435S.
- [36] COUDRAY, CH., CH. DEMIGNÉ, a Y. RAYSSIGUIER. Effects of Dietary Fibers on Magnesium Absorption in Animals and Humans. *The Journal of Nutrition*. 2003, vol. 133, s. 1 – 4.
- [37] ZULETA, A. a M. E. SAMBUCETTI. Inulin Determination for Food Labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, vol. 49, s. 4570 – 4572.
- [38] PERUŠIČOVÁ, Jindřiška. Postprandiální glykémie. *Postgraduální medicína*. 2009, č. 4, ISSN 1214-7664. Dostupné z: <http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/postprandialni-glykemie-418772>.
- [39] RYBKA, Jaroslav. *Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění: diagnostické a léčebné postupy*. Praha: Grada, ©2007, 317 s. ISBN 978-80-247-1671-8.
- [40] ŠPAČKOVÁ, Nina. *Protektivní a rizikové faktory socializace dítěte*. Brno, 2007. Diplomová práce. Masarykova univerzita v Brně. Fakulta pedagogická, Katedra občanské výchovy.
- [41] JURÁNKOVÁ, Zdeňka. Portální žíla. In: *Velký lékařský slovník* [online]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/portalni-zila>.
- [42] GIBSON, Glenn. Prebiotika ve výživě. *Čtvrtletní noviny* [online]. 2002, č. 2 [cit. 2012-01-30]. Dostupné z: [http://www.nutriciamedical.cz/download/2\\_2002.pdf.cz//](http://www.nutriciamedical.cz/download/2_2002.pdf.cz//)
- [43] COUSSEMENT, P. A. A. Inulin and Oligofruktose: Safe Intakes and Legal Status. *The Journal of Nutrition*. 1999, vol. 129, s. 1412S – 1417S.
- [44] MORRIS, Cecile a Gordon A. MORRIS. The effect of inulin fructooligosaccharide supplementation on the textural, reological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chemistry*. 2012, s. 1 – 46.
- [45] KIM, Y., M. N. FAQIH a S. S. WANG. Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*. 2008, vol. 46, s. 135 – 145.
- [4] BURTON-FREEMAN, Britt, Dorothy W. GIETZEN a Barbara O. SCHNEEMAN. Cholecystokinin and serotonin receptors in the regulation of fat-induced satiety in



- rats. *American Journal Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1999, vol. 276, s. R429-R434.
- [5] BIEDRZYCKA, Elzbieta a Maria BIELECKA. Prebiotic effectiveness of fructans of different degree of polymerization. *Trends in Food Science and Technology*. 2004, vol. 15, s. 170 – 175.
- [46] STEVART, L. Maria, Derek A. TIMM a Joanne L. SLAVIN. Fructooligosaccharides exhibit more rapid fermentation than long-chain inulin in an in vitro fermentation system. *Nutrition Research*, 2008, vol. 28, s. 329 – 334.
- [7] BOTHAM, R. L., RYDEN P., ROBERTSON, J. A., RING, S. G.: Structural features of polysaccharides and their influence on fermentation behavior. In: F. Guillon, editor. *Functional Properties of Nondigestible Carbohydrates*. 1998. Nantes: INRA. 46 – 49.
- [50] SCHOLZ-AHRENS K. E. a J. SCHREZENMEIR. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *Journal Nutrition*. 2007, 137, 2513S – 2523S.
- [51] KOPÁČOVÁ, Olga. *Inulin napomáhá zvyšování vápníku v kostech*. UZPI, [online]. [cit. 2012-03-22]. Dostupný z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=32628&ids=147&cmo=4&cye=2011>.
- [52] YOUNES, Hassan et al. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *British Journal of Nutrition*. 2001, vol. 86, s. 479 – 485.
- [53] BOSSCHER, D., J. Van LOO a A. FRANCK. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal*. 2006, 16, 1092 – 1097.
- [54] LEVRAT, Marie-Anne, Christian RÉMÉSY a Christian DEMIGNÉ. High Propionic Acid Fermentations and Mineral Accumulation in the Cecum of Rats Adapted to Different Levels of Inulin. *Journal Nutrition*. 1991, vol. 121, s. 1730 – 1737.

- [55] KRAMER-PRIESCH, Herta, Ingrid KIEFER a Tereza SEMOTAMOVÁ. *Laktóza a fruktóza: [co smím vůbec jíst a co mám vařit?]*. Vyd. 1. Praha: Grada, ©2009, 127 s. ISBN 978-80-247-2487-4. [53]
- [56] MEYER, D., S. BAYARRI, A. TÁRREGA a E. COSTELL. Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*. 2011, vol. 25, s. 1881 – 1890.
- [57] BULÁNKOVÁ, Iveta. *Léčivé rostliny na naší zahradě*. 1. vyd. Praha: Grada, ©2005, 83 s. ISBN 80-247-1274-1.
- [58] KOPEC, Karel. *Zelenina ve výživě člověka*. Praha: Grada, ©2010, 159 s. ISBN 978-80-247-2845-2.
- [59] Inutec. Dostupné z: <http://www.beneo-bbc.com/OurProducts/INUTECA>
- [60] Chicory. Dostupné z: <http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/C/Chicory/Chicory.htm>
- [61] BUCHAROVÁ, Jana. Zahrada v prosinci. Dostupné z: <http://www.ireceptar.cz/zahrada/okrasna-zahrada/zahrada-v-prosinci/>
- [62] ELOY, Fernández a kol. *Netradiční plodiny pro diabetiky*. Praha: Grada, ©2010, 80 s. ISBN 978-80-247-2811-7.
- [63] SKLÁDANKA, Jiří a Jana VRZALOVÁ. Topinambur *Helianthus tuberosus L.* Multimediální učební texty pícninářství, Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně, 2006. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=topinambur.html](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=topinambur.html)
- [64] *Helianthus tuberosus* – Slunečnice topinambur/ Dostupné z: <http://www.naturabohemica.cz/helianthus-tuberosus/>
- [65] LATTANZIO, V., P. A. KROON, V. LINSALATA a A. CARDINALI. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of – functional Food*. 2009, 1, 131 – 144.
- [66] Artyčok zeleninový (*Cynara scolymus*). Dostupné z: <http://ovoce-zelenina.atlasrostlin.cz/artycok-zelinyy>
- [67] ŠUMBERA, Stanislav. A jako artyčok. *Dům a zahrada*. 2009. Dostupné z: <http://www.dumazahrada.cz/bydleni/kuchyne/2009/1/2/clanky/a-jako-artycok/>

- [68] NAVRÁTIL, Vladislav. Fyzikální základy vědy o materiálu. In: *CoPhys - International Physics: Workshop 2008*. Nitra: Constantine the Philosopher University in Nitra, Faculty of Natural Sciences, 2008, s. 209-216. ISBN 978-80-8094-355-4. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wphy/fyzvla/FMkomplet3.htm>.
- [69] GLIBOWSKI, P., PIKUS, S. Amorphous and crystal inulin behavior in a water environment. *Carbohydrate Polymers*. 2011, vol. 83, s. 635 – 639.
- [70] BOT, Arjen, Ulrich ERLE, Rob VREEKER a Wim G. M. AGTEROF. Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*. 2004, vol. 18, s. 547 – 556.
- [71] OPERATIONS, Sensus CV. Frutafit-inulin. In: G. O. Phillips a P. A. Williams, editors. *Handbook of hydrocolloids*. 2000. Woodhead Publishing. s. 398 – 403.
- [72] PHELPS, C. F.: The Physical Properties of Inulin Solutions. *Biochemistry Journal*. 1965, vol. 95, s. 41 – 47.
- [73] SILVER, S. Barnard. Inulin powders and compositions thereof. *U.S. Application Data*, 2008, vol. 356, s. 1 – 10.
- [74] MEYER, D. a J.-P. BLAAUWHOED. Inulin. In: F. Phillips, G. O. a William, P. A., editor. *Handbook of hydrocolloids*. 2009. Nantes: Woodhead Publishing. s. 829 – 848.
- [75] KORAKLI, M., C. HINRICHS, M. A EHRMANN a R. F. VOGEL. Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food. *Eur Food Res Technol*. 2003, vol. 217, s. 530 – 534.
- [76] ZIMERI, J. E., a J. L KOKINI. The effect of moisture content on the crystallinity and glass transition temperature of inulin. *Carbohydrate Polymers*. 2002, vol. 48, s. 299 – 304.
- [77] WADA, T., J. SUGATANI, E TERADA, M. OHGUCHL a M. MIWA. Physicochemical Characterization and Biological Effects of Inulin Enzymatically Synthesized from Sucrose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, vol. 53, s. 1246 – 1253.
- [78] SILVER, S. Barnard. Sweetener compositions containing fractions of Inulin. *U.S. Application Data*, 2003, vol. 935, s. 1 – 12.

- [79] TADROS, Tharwat a Bart LEVECKE. Dispersion Stabilizers Based on Inulin. In: Kjellin, Mikael a Ingegärd Johansson, editors. *Surfactants from Renewable Resources*, ©2010. John Wiley & Sons. s. 285 - 301.
- [80] PHILLIPS, Glyn O. a Peter A. WILLIAMS. Introduction to food hydrocolloids. In: G. O. Phillips a P. A. Williams, editors. *Handbook of hydrocolloids*. ©2000. Woodhead Publishing. s. 1 – 20.
- [81] GONZALES-TOMÁS, L., J. COLL-MARQUÉS a E. COSTELL. Viscoelasticity of inulin–starch-based dairy systems. Influence of inulin average chain length. *Food Hydrocolloids*. 2008, vol. 22, s. 1372 – 1380.
- [82] KUBÍČKOVÁ, Michaela. *Význam inulinu ve výživě*. Zlín, 2008. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Ústav potravinářského inženýrství.
- [83] GLIBOWSKI, P.: Effect of thermal and mechanical factors on rheological properties of high performance inulin gels and spreads. *Journal of Food Engineering*. 2000, vol. 99, s. 106 – 113.
- [84] ROBERFOID, M. B.: Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 2002, vol. 87 s. 39 – 143.
- [85] SVAČINA, Štěpán a kolektiv. *Klinická dietologie*. Praha: Grada Publishing a. s., ©2008. 381 s. ISBN 978-80-247-2256-6.
- [86] MAROTZ, R. Lynn. Children's dietary needs: nutrients, interactions and their role in health. In.: Marotz, R. Lynn, editor. *Health, Safety and Nutrition for the Young Child*. ©2011, Cengage Learning. s. 1 – 25.
- [87] FRÜHAUF, Pavel. Trendy ve výživě dětí po 6. měsíci života. *Pediatric pro praxi*. 2006, č. 1, 40 – 42. Praha, Klinika dětského a dorostového lékařství [online]. [2012-01-26]. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2006/01/09.pdf>.
- [89] KUDLOVÁ, Eva a Anna MYDLILOVÁ. *Výživové poradenství u dětí do dvou let*. Praha: Grada, ©2005, 148 s. ISBN 978-80-247-1039-6.
- [90] SEDLÁŘOVÁ, Petra a kol. *Základní ošetrovatelská péče v pediatrii*. Praha: Grada, ©2008, 248 s. ISBN 978-80-247-1613-8.

- [91] LEACHOVÁ, Penelope. Dítě a já – od narození do pěti let. Ottov: Cesty, ©1998, 544 s. ISBN 978-80-718-1203-6.
- [92] FRÜHAUF, P., J. NEVORAL a M. PAULOVÁ. *Výživa novorozenců a kojenců – současný pohled*. Olomouc: Solen, s.r.o, 2003. s. 1 – 80.
- [93] Ovocné přesnídávky s vlákninou. In: Hamánek [online]. [cit. 2012-02-09]. Dostupné z: <http://www.hamanek.cz/produkty/ovocne-presnidavky/s-vlakninou.html>.
- [94] RŮŽIČKA, David. Složení a energetická hodnota potravin se zaměřením na první dětské nemléčné příkrmy. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta sportovních studií. Katedra kineziologie.
- [95] Vyhláška Ministerstva zemědělství: č.23/2001, kterou se provádí § 18 písmeno a) až h) zákona č.110/1997Sb. (Problematika potravin určených pro zvláštní výživu). Dostupné z: <http://www.sagit.cz/pages/sbirkatxt.asp?zdroj=sb01023&cd=76&typ=r>
- [96] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Version 1.0. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2012-04-12]. Dostupné z: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-80-7080-579-X/pages-img/002.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/002.html). ISBN 80-7080-579-X.
- [97] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7.
- [98] KÁŠ, Jan, Milan KODLÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. 2006, 258 s. ISBN 80-7080-586-2.
- [99] JANČÁROVÁ, Martina. *Stanovení vlákniny v cereálních výrobcích*. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Ústav potravinářského inženýrství.
- [100] PROSKY, Leon a Hubert HOEBREGS. Methods to Determine Food Inulin and Oligofructose. *The Journal of Nutrition*. 1999, vol. 129, s. 1418S – 1423S.
- [101] MANAS, E., CALIXTO-SAURA, F. Ethanollic precipitation: A source of error in dietary fibre determination. *Food Chemistry*. 1993, vol. 47, s. 351 – 355.
- [102] MANAS, E., L. BRAVO a F. CALIXTO-SAURA. Sources of error in dietary fibre analysis. *Food Chemistry*. 1994, vol. 50, s. 331 – 342.

- [103] ŽÁKOVÁ, Petra. Význam vlákniny ve výživě člověka a metody stanovení v mořských a sladkovodních řasách. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Ústav potravinářského inženýrství
- [104] HAJŠLOVÁ, Jana. *Analýza potravin a přírodních produktů*. In: VŠCHT [online]. Praha: Ústav chemie a analýzy potravin, [cit. 2012-02-09]. Dostupné z: [www.vscht.cz/zkp/ustav/skripta/AP/02/AP\\_6.pdf](http://www.vscht.cz/zkp/ustav/skripta/AP/02/AP_6.pdf).
- [105] KOMPRDOVÁ, Jana. *Vláknina*. Závěrečná seminární práce. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Fakulta agronomická. Ústav technologie potravin.
- [106] Megazyme International Ireland Ltd. *Total Dietary Fibre Assay Procedure*. Bray (IRELAND): Bray Business Park, 2007, p. 19. - TDF
- [107] HRDINOVÁ, Zuzana. *Stanovení vlákniny ve vybraných druzích sladkovodních řas*. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Ústav potravinářského inženýrství.
- [108] HOFFER, Klaus a Dieter JENEWEIN. Enzymatic determination of inulin in food and dietary supplements. *Eur Food Res Technol*. 1999, vol. 209, s. 423 – 427.
- [109] MARTZ, W. a H. W. SCHÜTZ. Elimination of Glucose Interference in Enzymatic Determination of Inulin. *Clinical chemistry*. 1991, vol. 37, s. 2017 – 2018.
- [110] VENDRELL-PASCUAS, S., A. I. CASTELLOTE-BARGALLÓ a M. C LÓPEZ-SABATER. Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *Journal of Chromatography A*. 2000, vol. 881, s. 591 – 597.
- [111] MARSILIO, R. et al.. Rapid and simple determination of inulin in biological fluids by high-performance liquid chromatography with light-scattering detection. *Journal of Chromatography B*. 2000, vol. 744, s. 241 – 247.
- [112] Megazyme International Ireland Ltd. *Fruktany. Pracovní postup pro stanovení fruktooligosacharidů (FOS) a fruktanových polysacharidů*. Bray (IRELAND): Bray Business Park, 2004, p. 11. – Fructan
- [113] Mineralizátor Bloc Digest 12. Dostupný z: [http://www.alibaba.com/product-free/115011183/Block\\_digest.html](http://www.alibaba.com/product-free/115011183/Block_digest.html).

- [114] LEE, S. C., L. PROSKY a J. W DeVRIES. Determination of total, soluble, and insoluble, dietary fiber in foods - enzymaticgravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 1992, vol. 75, s. 395-416.
- [115] ASP, N. G., C. G. JOHANSSON, H. HALLMER. a M. SILJESTROM. Rapid Enzymatic Assays of Insoluble and Soluble Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1983, vol. 31, s. 476 - 482.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

APA	Americká potravní asociace
ČR	Česká republika
DP	stupeň polymerace
DP <sub>av</sub>	průměrný stupeň polymerace
F <sub>n</sub>	β-D fruktopyranozyl-[β-D-fruktofuranozyl] <sub>n-1</sub> -β-D-fruktofuranozid
G <sub>py</sub> F <sub>n</sub>	α-D-glukopyranozyl-[β-D-fruktofuranozyl] <sub>n-1</sub> -β-D-fruktofuranozid
FOS	fruktooligosacharidy
SCFA	krátké masné kyseliny
LDC	málo stravitelné sacharidy
NMK	nasycené masné kyseliny
T <sub>g</sub>	teplota skelného přechodu
KV	kojenecká výživa
GLC	plynová chromatografie
HPLC	kapalinová vysokoúčinná chromatografie
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
ATP	adenozin-5'-trifosfát
HK	<i>hexokináza</i>
NADH	nikotinamidadeniddinukleotidfosfát
G6P-DH	<i>glukóza-6-fosfát dehydrogenáza</i>
IEC-HPLC	ionexová vysokoúčinná chromatografie
TDF	Total Dietary Fiber
AOAC 999.03	Fruktan metoda



## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Oman pravý (Inula helenium) [25]</i> .....	18
<i>Obrázek 2: Chemická struktura inulinu [31]</i> .....	19
<i>Obrázek 3: Prostorová struktura inulinu [33]</i> .....	20
<i>Obrázek 4: Produkce MK s krátkým řetězcem* [12]</i> .....	22
<i>Obrázek 5: Fermentace různých druhů vlákniny in vitro [3]</i> .....	23
<i>Obrázek 6: Čekankové kořeny, čekankové květy a puky [59, 60, 61]</i> .....	25
<i>Obrázek 7: Nať, květ a kořen topinamburu hlíznatého [63, 64]</i> .....	26
<i>Obrázek 8: Květ, úbor a listová růžice artyčoku zeleninového [61, 66, 67]</i> .....	27
<i>Obrázek 9: Elektronová mikroskopie hydratovaného inulinu [27]</i> .....	30
<i>Obrázek 10: Chování inulinových částic s olejem ve vodě [27]</i> .....	32
<i>Obrázek 11: Vliv koncentrace fruktózy a glukózy na hydrolyzu inulinu [75].</i> .....	33
<i>Obrázek 12: Inulinová hydrolyza různých typů inulinu při pH 3,5 a 20 °C [74].</i> .....	34
<i>Obrázek 13: Chování inulinových částic v oleji s přítomností vody [27]</i> .....	34
<i>Obrázek 14: Maximální rozpustnost krátkého inulinu a inulinu s dlouhým řetězcem v závislosti na teplotě [74]</i> .....	35
<i>Obrázek 15: Schéma výroby inulinu z čekanky [27]</i> .....	36
<i>Obrázek 16: Logo kojeneckých výživ [92]</i> .....	42
<i>Obrázek 17: Kojenecká výživa s inulinem řady Hamánek [92]</i> .....	43
<i>Obrázek 18: Mineralizátor Bloc Digest 12 [113]</i> .....	53
<i>Obrázek 19: Obsah nerozpustné vlákniny v jablečné výživě</i> .....	62
<i>Obrázek 20: Vliv sacharidů a teplot na výtěžnost inulinu</i> .....	64
<i>Obrázek 21: Časová závislost na hodnotu měření absorbance po 30 minutách</i> .....	65
<i>Obrázek 22: Teplotní vliv na výtěžnost inulinu</i> .....	67
<i>Obrázek 23: Vliv přísad sacharidů na výtěžnost inulinu</i> .....	68
<i>Obrázek 24: Vliv sacharidů a teplot na výtěžnost inulinu</i> .....	70
<i>Obrázek 25: Srovnání přísad sacharózy a synergického vlivu sacharózy a teplot na výtěžnost inulinu</i> .....	71

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1: Složky vlákniny podle metod jejího stanovení – (A) neutrálně-detergentní vláknina, acido-detergentní vláknina, (B) metoda stanovení podle Trowella, (C) metoda stanovení podle Proskyho, (D) metoda stanovení neškrobových polysacharidů [12] .....</i>	<i>15</i>
<i>Tabulka 2: Doporučený příjem vlákniny v různých státech [19] (DF) – potravinová vláknina stanovená nedefinovanou metodou, (TDF) celková potravinová vláknina [20] (NSP) neškrobové polysacharidy [21] .....</i>	<i>16</i>
<i>Tabulka 3: Ukázka druhů vyráběných kojeneckých výživ řady Hamé [93].....</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka 4: Příprava vzorků pro stanovení vlivu teplotního režimu .....</i>	<i>55</i>
<i>Tabulka 5: Příprava vzorků pro stanovení vlivu přídatku sacharidů .....</i>	<i>55</i>
<i>Tabulka 6: Příprava vzorků pro stanovení vlivu přídatku sacharidů a teplotního záhřevu.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabulka 7: Příprava vzorků pro stanovení nerozpustné a rozpustné vlákniny TDF metodou .....</i>	<i>56</i>
<i>Tabulka 8: Obsah nerozpustné vlákniny po přídatcích sacharidů a teplotním záhřevu .....</i>	<i>62</i>
<i>Tabulka 9: Obsah rozpustné vlákniny po přídatcích sacharidů a teplotním záhřevu.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabulka 10: Obsah inulinu po teplotních záhřevch .....</i>	<i>66</i>
<i>Tabulka 11: Obsah inulinu po přídatku různých koncentrací sacharidů .....</i>	<i>67</i>
<i>Tabulka 12: Synergický účinek sacharidů a tepelného záhřevu na obsah inulinu .....</i>	<i>69</i>