

# **Polyfenolický profil a antioxidační aktivita netradičních müsli směsí**

Bc. Barbora Savarová

---

Diplomová práce  
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora Savarová**  
Osobní číslo: **T14425**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Polyfenolický profil a antioxidační aktivita netradičních müsli směsí**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Stručný popis a charakteristika vzorků bezlepkového müsli a müsli s lepkem.
2. Charakteristika jednotlivých druhů květů obsažených ve směsi.
3. Obecné principy použitých metod pro stanovení antioxidační aktivity a polyfenolického profilu.

### II. Praktická část

1. Extrakce jednotlivých vzorků bezlepkového müsli a müsli s lepkem.
2. Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody DPPH.
3. Stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuovy metody.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] BELTON, P. S. a John Reginald Nuttall TAYLOR. Pseudocereals and less common cereals: grain properties and utilization potential. Berlin: Springer, c2010, xv, 269 s. ISBN 978-3-642-07691-6.

[2] KUČEROVÁ, J., Technologie cereálií, Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. ISBN 978-80-7157-811-6.

[3] FIC, Vlastimil. Víno: analýza, technologie, gastronomie. Český Těšín: 2 THETA, 2015, 299 s. ISBN 978-80-86380-77-3.

[4] SNYDER, Lloyd R., J. J. KIRKLAND a Joseph L. GLAJCH. Practical HPLC method development. 2nd ed. New York: John Wiley, c1997, xxvi, 765 s. ISBN 0-471-00703-X.

[5] VELÍŠEK, Jan. The chemistry of food. Chichester, West Sussex: John Wiley, 2014, viii, 1113 s. ISBN 978-1-118-38384-1.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**2. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce:

**25. dubna 2018**

Ve Zlíně dne 2. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



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

Příjmení a jméno: SMAROVÁ BARBORA

Obor: TECHNOLOGIE POTRAVIN

## 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 23.4.2018

Smarová Barbora

<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 nevdělečně 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 okolnosti až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k vyšší výdělků dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá přípravou a analýzou netradičních müsli směsí bezlepkových i s obsahem lepku, jejichž součástí jsou jedlé květy. Teoretická část je věnována stručnému popisu a charakteristice polyfenolických látek a možnostem jejich stanovení a chemickému složení surovinových komponent analyzovaných müsli směsí. Praktická část je zaměřena na extrakci volných, konjugovaných a vázaných polyfenolů, na stanovení celkových polyfenolů a antioxidační aktivity a na stanovení profilu polyfenolických látek.

Klíčová slova: müsli, polyfenoly, antioxidační aktivita, netradiční obiloviny, jedlé květy

## **ABSTRACT**

The thesis deals with the preparation and analysis of non-traditional muesli mixtures (gluten-free and gluten containing mixtures) with edible flowers. The theoretical part is devoted to the brief description and properties of polyphenols and the possibilities of their determination and the chemical composition of the raw materials analysed. The experimental part is focused on the extraction of free, conjugated and bound polyphenols, to determination of total polyphenols and antioxidant activities and measurement of the polyphenols profile.

Keywords: muesli, polyphenols, antioxidant activity, non-traditional cereals, edible flowers

Tímto bych chtěla velmi poděkovat vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Daniele Sumczynski, PhD. za spolupráci, trpělivost, ochotu a odborné rady, které mi poskytovala při zpracování této práce. Dále bych moc ráda poděkovala Ing. Lence Fojtíkové za pomoc při práci v laboratoři.

Závěrem chci poděkovat také svému partnerovi a rodině, kteří mě během celého studia maximálně podporovali.

Práce byla podpořena grantem UTB ve Zlíně IGA/FT/2018/006.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>1. TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 POLYFENOLY</b> .....	<b>12</b>
1.1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA POLYFENOLICKÝCH LÁTEK A MOŽNOSTI JEJICH STANOVENÍ.....	12
1.1.1 Flavonoidy.....	14
1.1.2 Polyfenolické kyseliny .....	16
1.2 METODY STANOVENÍ POLYFENOLŮ .....	17
1.2.1 Stanovení flavonoidů spektrofotometricky .....	17
1.2.2 Stanovení polyfenolů spektrofotometricky Folin-Ciocalteuovou metodou.....	18
1.2.3 Stanovení profilu jednotlivých polyfenolů pomocí HPLC .....	18
1.3 ANTIOXIDANTY A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA, MOŽNOSTI JEJÍHO STANOVENÍ .....	20
<b>2 CHARAKTERISTIKA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ SUROVINOVÝCH KOMONENT ANALYZOVANÝCH CEREÁLNÍCH SMĚSÍ</b> .....	<b>22</b>
2.1 ZÁKLADNÍ NUTRIČNÍ CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH OBILOVIN.....	22
2.2 ZÁKLADNÍ NUTRIČNÍ CHARAKTERISTIKA OVOCE.....	25
2.3 NUTRIČNÍ BENEFITY OŘECHŮ A SEMÍNEK .....	25
2.4 JEDLÉ KVĚTY .....	26
<b>2. PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>27</b>
<b>3 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>28</b>
<b>4 METODIKA PRACOVNÍCH POSTUPŮ</b> .....	<b>29</b>
4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A LABORATORNÍ VYBAVENÍ.....	29
4.2 VÝROBA VLOČEK A PŘÍPRAVA VYSELEKTOVANÝCH VZORKŮ MÜSLI SMĚSÍ .....	30
4.2.1 Směsi müsli s obsahem lepku .....	31
4.2.2 Směs müsli bez obsahu lepku .....	32
4.3 EXTRAKCE POLYFENOLICKÝCH FRAKČÍ.....	33
4.3.1 Extrakce volných polyfenolů .....	33
4.3.2 Extrakce rozpustných vázaných (konjugovaných) polyfenolů .....	33
4.3.3 Extrakce vázaných (nerozpustných) polyfenolů .....	33
4.4 STANOVENÍ POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVY METODY .....	34
4.4.1 Stanovení celkových polyfenolů .....	34
4.4.2 Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení celkového obsahu polyfenolů .....	35
4.5 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ METODY S DPPH .....	35
4.5.1 Příprava zásobního a pracovního roztoku pro vlastní měření absorbance.....	36
4.5.2 Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH .....	36



4.6	STANOVENÍ PROFILU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK POMOCÍ METODY HPLC .....	36
4.6.1	Vyhodnocení kalibrační křivky standardů a jejich zpracování .....	37
4.7	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT .....	37
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>38</b>
5.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ .....	38
5.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	41
5.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ PROFILU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	44
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>57</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>58</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>65</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>66</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>67</b>
	<b>SEZNAM GRAFŮ .....</b>	<b>68</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>69</b>

## ÚVOD

Nelze si nevšimnout, že v poslední době značně roste zájem o „moderní“ gastronomii a s tím spojené přípravy netradičních druhů jídel. Lidé nejen, že chtějí stále zkoušet a objevovat něco nového, ale také se více zaměřují na využívání přírodních zdrojů a vracejí se zpět k původním plodinám, které pěstovali již naši předkové. Jedná se především o obiloviny a pseudoobiloviny nejrůznějších druhů, které hrály důležitou roli v potravě lidstva. Dnes se k nim znovu vracíme nejen díky gastronomickým trendům, ale také z důvodu možných zdravotních problémů, které mohou být zapříčiněny špatným, či nevhodným stravováním a které mohou způsobovat gastrointestinální poruchy. Patří zde např. dnes již tolik známá celiakie, která souvisí s přecitlivělostí organismu na gluten a kterou na základě jejího nárůstu lze zařadit mezi civilizační chorobu moderní doby. Obiloviny obsahující gluten však lze nahradit jinými nutričně či sensoricky obohacenými bezlepkovými obilovinami či pseudoobilovinami.

Své místo si v moderní gastronomii a potravinářském průmyslu našly také jedlé květy, které jsou využívány nejen díky svému atraktivnímu vzhledu a organoleptickým vlastnostem, ale také z nutričního hlediska. Vyznačují se vysokou antioxidační silou, která bývá způsobena vysokým obsahem antokyaninů v závislosti na pigmentaci jednotlivých květů. Kromě antioxidačních účinků mohou mít jedlé květy také účinky antimikrobiální.

Na základě výše zmíněných informací byly v rámci této práce připraveny modelové směsi složené právě z netradičních druhů obilovin, jedlých květů a dalších složek. Podle netradičních druhů obilovin a pseudoobilovin byly dané směsi rozděleny na lepkové a bezlepkové, přičemž ostatní složky byly totožné. Lepkové směsi obsahovaly vločky vyrobené z pšenice Dickkopf, kamut, Forhand, jednozrnky či špaldy a v bezlepkových směsích byly obsaženy jáhly, pohanka, amarant či quinoa. Co se týče jedlých květů, byly v těchto směsích použity druhy jako levandule, růže, ibišek, chrpa a měsíček.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 POLYFENOLY

Pod názvem polyfenoly se rozumí polyfenolické sloučeniny pocházející z jedné z hlavních tříd sekundárních metabolitů v rostlinách odvozených od fenylalaninu a u některých rostlin také méně z tyrozinu. Chemicky lze fenoly definovat jako látky mající aromatický kruh a zároveň jednu nebo více hydroxylových skupin, včetně jejich funkčních derivátů. Jejich výskyt v tkáních zvířete či nerostlinných materiálech lze zdůvodnit požitím potravy rostlinného původu. Lze však také získat syntetické fenolické látky, které se záměrně začleňují do potravy, aby se zabránilo oxidaci lipidických komponent (Shahidi and Naczk, 2003).

Vzhledem k jejich antioxidačním účinkům lze obsah antioxidačních látek v potravinách navýšit přidáním dalších antioxidantů za účelem prodloužení trvanlivosti, zabránění vzniku nežádoucí chuti a vůně, či pro dosažení vyšší nutriční hodnoty potravin obsahujících snadno oxidovatelné složky. V souladu s legislativou a správnou potravinářskou praxí by měly být antioxidanty přidávané do potravin zdravotně nezávadné, snadno aplikovatelné, neměly by vykazovat žádnou chuť a aroma, měly by být účinné při nízkých koncentracích a taktéž cenově dostupné (Jančová, 2013).

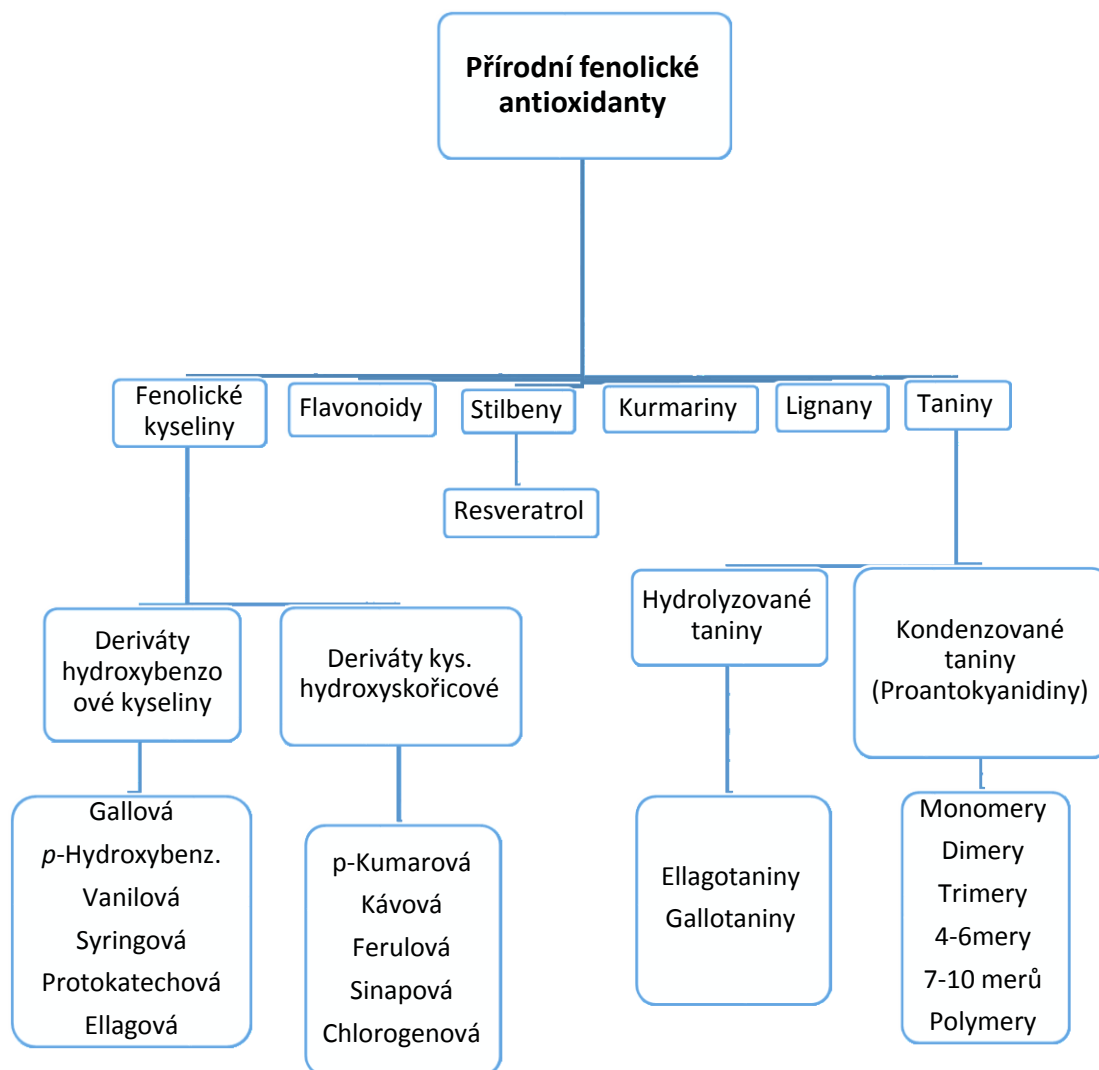
### 1.1 Stručná charakteristika polyfenolických látek a možnosti jejich sta- novení

V posledních letech je výzkum orientován na přírodní antioxidanty, které mohou sloužit k ochraně proti různým onemocněním indukovaným volnými radikály. Díky své mnohočetné aktivitě působí antioxidanty proti vylučování volných radikálů inaktivací kovových katalyzátorů chelací, redukcí hydroperoxidů na stabilní hydroxylové deriváty a interakcí synergicky s jinými redukčními sloučeninami. Přírodní antioxidanty nepředstavují prozatím pro spotřebitele žádné zdravotní riziko. Mezi nejznámější přirozeně se vyskytující antioxidační sloučeniny patří polyfenoly. Zdrojem přírodních antioxidantů jsou především rostlinné fenoly. Mohou se vyskytovat ve všech částech rostlin a dobře známý je také jejich vliv na pigmentaci rostlinných potravin. Tyto velmi rozmanité látky jsou nezbytné pro růst a rozmnožování rostlin a také působí jako antipatogeny. Lze je nalézt v ovoci, zelenině, oříšcích, semenech, listech, obilovinách atd. Navíc, fenoly fungují jako antibiotika, přírodní pesticidy, signální látky pro zavedení symbiózy s rizobii, atraktanty pro opylovače, ochranné prostředky proti UV světlu, izolační materiály buněčné stěny nepropustné pro

plyn a vodu a jako strukturní materiály poskytující rostlinám stabilitu (Shahidi and Naczki, 2003; Shahidi and Ambigaipalan, 2015).

Mnoho vlastností rostlinných produktů je spojeno s přítomností, typem a obsahem fenolických sloučenin. Některé fenolické sloučeniny jsou významné pro výrobce a spotřebitele potravin z hlediska zdraví prospěšných účinků či jejich potencionálních antinutričních vlastností, pokud se jedná o přítomnost velkého množství těchto sloučenin. V potravinách jsou dále široce distribuovány antokyaniny, které se vyskytují především v ovoci a rostlinných tkáních. Mohou být využívány také u nutraceutik jako sušená či práškovitá hmota některých druhů ovoce či vedlejších produktů z ovoce. Tyto antokyaniny jsou zodpovědné za červenou, modrou, vínovou a fialovou barvu většiny druhů rostlin, ovoce a jejich produktů. Díky extrakci antokyaninů tak mohou potravinářské podniky používat barviva vyrobená např. ze slupky hroznu révy vinné (Shahidi and Naczki, 2003; Shahidi and Ambigaipalan, 2015; Fic, 2015).

Přírodní antioxidanty se dělí na fenolické kyseliny, flavonoidy, stilbeny, kurmariny, lignany a taniny (Obrázek 1).



Obrázek 1: Dělení polyfenolů do jednotlivých podskupin (Shahidi and Ambigaipalan, 2015)

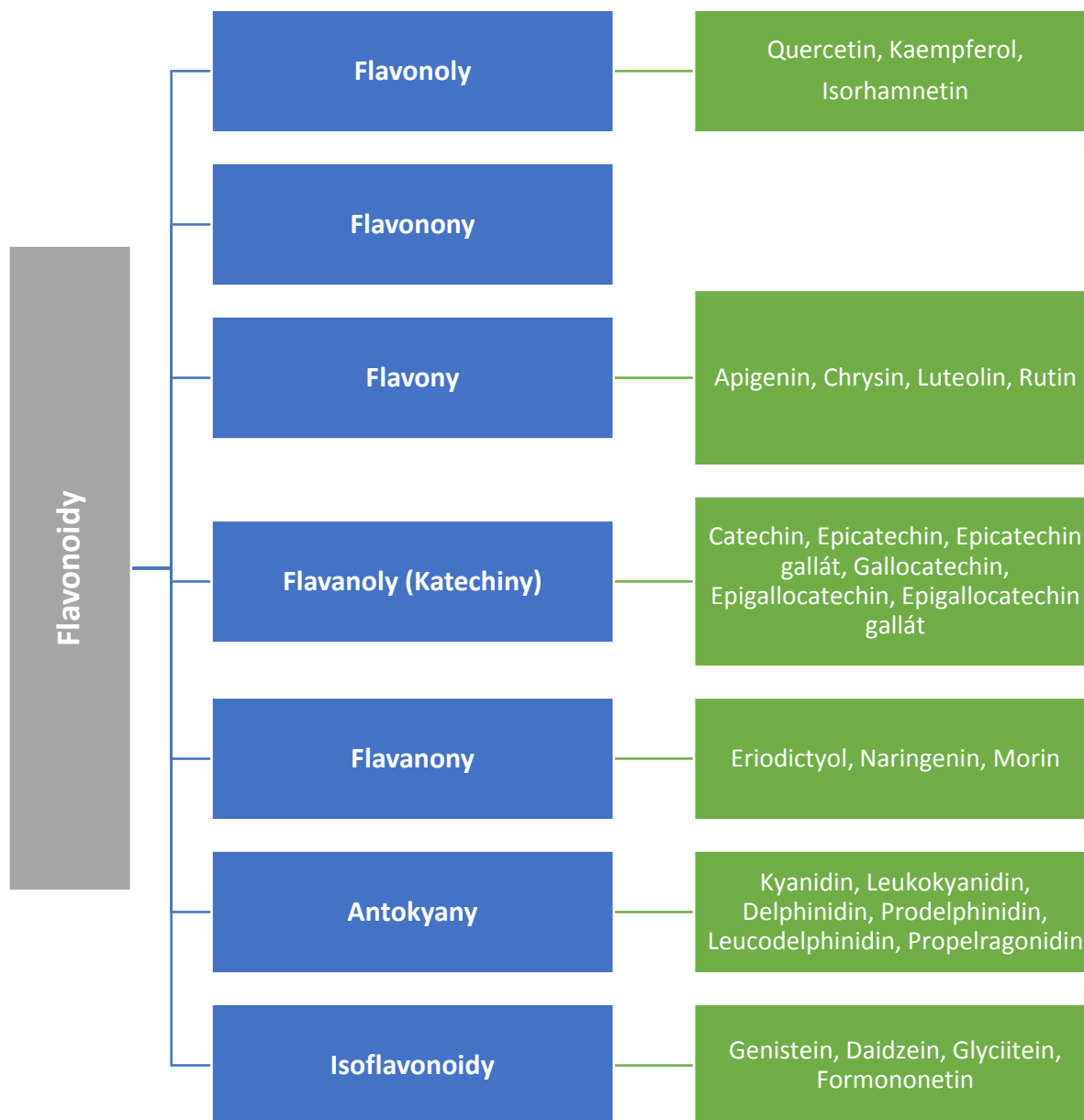
### 1.1.1 Flavonoidy

Flavonoidy jsou tvořeny na základě kondenzace fenylypropanové sloučeniny za účasti tří molekul malonylového koenzymu A, což vede k tvorbě chalkonů, a dále k následné cyklizaci molekul. Tak získají flavonoidy základní skelet difenylypropanů s různou oxidační úrovní. Flavony a flavonoly se vyskytují jako aglykony (tj. necukerné zbytky). Jednotlivé flavonoidy se mohou lišit v počtu a distribuci hydroxylových skupin stejně jako v jejich

stupni alkylace nebo glykosylace. Tvorba flavonolu a flavonové glykosidy závisí na působení světla, proto jsou zejména v listech a ovocných slupkách s pouze stopovými množstvími v částech rostlin blíže povrchu půdy. Flavonoly jsou přítomny převážně jako mono-, di- a triglykosidy. Monoglykosidy se vyskytují hlavně jako 3-O-glykosidy, rutin je příkladem diglykosidu nalezeného v ovoci a zelenině. Triglykosidy jsou prozatím nejméně uváděné flavonol glykosidy. Řada flavonolových glykosidů acylovaných fenolovými kyselinami, jako jsou kyseliny *p*-kumarová, ferulová, kafrová, *p*-hydroxybenzoová a gallová, byly nalezeny v ovoci (Shahidi and Naczk, 2003).

Na základě stupně oxidace pyranového C kruhu se zástupci flavonoidů rozlišují na flavonoly, flavonony, flavony, flavanoly (katechiny), flavanony, antokyanidiny a isoflavonoidy. (Velíšek, 1999; Shahidi and Ambigaipalan, 2015).

Pro uvedení konkrétních příkladů některých přirozeně se vyskytujících flavonoidů v použitých surovinách lze zmínit např. výskyt katechinu v meruňkách, kyanidinu v levanduli, propelargonidinu v ibišku, isorhamnetinu v mandlích, nebo glykosidů flavonů v rýžových otrubách a také u jednotlivých druhů pšenice (Obrázek 2) (Velíšek, 1999; Manach et al., 2004; Milbury et al., 2006).



Obr. 2: Přehled dělení flavonoidů do podskupin (Shahidi and Ambigaipalan, 2015)

### 1.1.2 Polyfenolické kyseliny

Polyfenolické kyseliny se nacházejí v řadě potravin a na základě současných poznatků tvoří zhruba jednu třetinu polyfenolů v potravě. Největší zastoupení fenolických kyselin ve stravě mají hlavně hydroxyskořicové kyseliny. Jedná se především o kyselinu ferulovou, kávovou nebo gallovou, které se ve většině případů nacházejí v rostlinách ve formě esterů,



v nichž se váží karboxylem na hydroxylové skupiny organických kyselin nebo sacharidů (Michálková, 2011).

Obvykle jsou fenylypropanoidy (tj. kyselina skořicová) a deriváty kyseliny benzoové společně označovány jako "fenolové kyseliny" (Shahidi and Naczk, 2003). Jak už bylo výše zmíněno, mohou být fenolové kyseliny přítomny v ovoci, zelenině, obilovinách, luštěninách nebo také v houbách. Tyto sloučeniny jsou však *in vivo* metabolizovány v organismu jako glukuronované, sulfátované a metylované metabolity a mohou vykazovat buď vyšší, nebo nižší bioaktivitu. Ve stravě představují tzv. reprezentativní molekuly, a jak už bylo řečeno, ihned po absorpci jsou v organismu ve velké míře metabolizovány. Na základě těchto biochemických reakcí dochází ke glukuronidaci, kdy glukuronované metabolity jsou známé tím, že mají antioxidační účinek *in vivo*, nebo sulfataci a metylaci, přičemž metylované a glukuronované deriváty jsou spojovány zase se zvýšením antimikrobiálních a protinádorových účinků (Heleno et al., 2015).

Co se týče konkrétních případů v souvislosti s touto prací, lze zmínit výskyt např. kyseliny ferulové u použitých druhů pšenice či rýže, kyseliny hydroxyskořicové v meruňkách, či kyseliny *p*-hydroxybenzoová v mandlích (Naczk, 2006; Milbury et al., 2006).

## 1.2 Metody stanovení polyfenolů

Polyfenolické sloučeniny lze stanovit několika možnými metodami. Mezi nejvyužívanější patří spektrofotometrické metody, kde velmi známou a hojně používanou je Folin-Ciocalteuova metoda. Jedná se o kolorimetrické reakce, které jsou hojně využívány pomocí spektrofotometrické metody ve VIS a UV oblasti spektra. Dalšími metodami pro stanovení polyfenolů jsou metody chromatografické, jako např. HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) atp. (Blainski et al., 2013).

### 1.2.1 Stanovení flavonoidů spektrofotometricky

Ke kvalitativnímu a kvantitativnímu stanovení flavonoidů je možné využít metody absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti. Podstatou této metody je měření absorbance vhodného elektromagnetického záření molekulami látek ve viditelné oblasti spektra, přičemž rozsah vlnových délek je 380 – 800 nm (Marešová, 2013). Z naměřených hodnot absorbance oproti standardu se pomocí rovnice lineární regrese vypočítá celkový obsah flavonoidů ve vzorku, který bývá vyjádřen jako ekvivalentní množství mg (např. rutinu či

katechinu) v 1 kg vzorku (Kotásková, 2014). Lze však použít i jiné standardy a množství, jako např. ekvivalenty katechinu, epikatechinu, eriodyctiolu, isoramnetinu v mg na 100 g vzorku apod. (Milbury et al., 2006). Celkový obsah flavonoidů je tak stanoven kolorimetrickou metodou, kdy vzniká růžově zbarvený komplex s  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Shen et al., 2009).

### 1.2.2 Stanovení polyfenolů spektrofotometricky Folin-Ciocalteuovou metodou

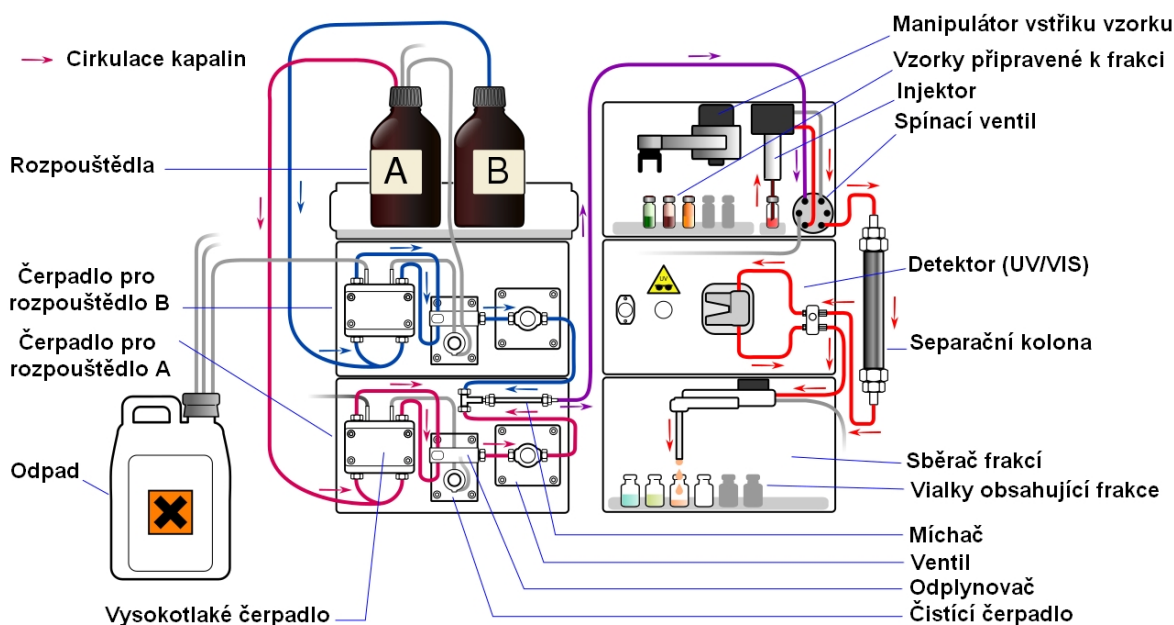
Stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuovy metody je velmi rozšířené. Principem této metody je využití uhličitanu sodného a Folin-Ciocalteuova činidla. Jedná se o komplex kyseliny fosforečno-wolframové a kyseliny fosforečno-molybdenové. Toto činidlo je však v alkalických roztocích velmi rychle rozkládáno, což vyžaduje použití velkého přebytku činidla k dosažení úplné reakce. Tento přebytek může způsobovat sraženiny a zákal, což v důsledku činí spektrofotometrickou analýzu nemožnou. Z toho důvodu jsou v reakčním činidle přidávány soli litia, které zákalu zabraňují (Blainski, 2013). Při reakci dochází k oxidaci fenolických sloučenin v zásaditém prostředí a zároveň dojde ke změně barvy ze žluté na modrou. Tyto modré pigmenty mají maximální schopnost absorpce v závislosti na kvalitativním či kvantitativním složení fenolovým směsí a na pH roztoku, který je upravován pomocí uhličitanu sodného (Kotásková, 2014). Z naměřených hodnot tak lze vypočítat celkový obsah polyfenolů ve vzorku, který je vyjádřen jako ekvivalentní množství mg (např. kyseliny gallové) v 1 kg vzorku (Attard, 2013). Stejně tak lze vyjádřit množství celkových polyfenolů za pomoci jiného standardu, např. kyseliny ferulové (v  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) (Prokopcová, 2008).

### 1.2.3 Stanovení profilu jednotlivých polyfenolů pomocí HPLC

Při kvalitativní analýze se přítomnost (identifikace) analytu provádí na základě srovnání retenčních časů analytu a standardu. U kvantitativních metod je koncentrace zkoumané látky úměrná ploše či výšce píku v daném retenčním čase, kvantitativní vyhodnocení probíhá nejčastěji přes kalibraci a následně metodu lineární regrese (Sun et al., 2017). Kvalitativní ukazatel, čili retenční čas, je tedy nezbytnou charakteristikou i při kvantitativním vyhodnocení (Kumar et al., 2008).

Zařízení pro separaci látek technikou HPLC se nazývá kapalinový chromatograf. Nejčastěji využívané detektory v oblasti stanovení profilu polyfenolických látek jsou DAD (Diode

Array Detector), ECD (Electrochemical Detector), ELSD (Evaporative Light Scattering Detector) a MS (Mass Spectrometry) (Seger et al., 2013; Swartz, 2010).



Obr. 3: Schéma kapalinového chromatografu ([www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))

Na začátku je nutné si z testovaného rostlinného materiálu připravit extrakt polyfenolů za pomoci extrakčních činidel jako např. metanolu, etanolu, acetonu, dietyléteru, hexanu, toluenu aj. U obilovin lze extrahovat frakce volných, rozpustných vázaných (konjugovaných) a vázaných nerozpustných polyfenolů.

Ve většině případů se jako mobilní fáze využívá metanol v kombinaci s daným pufrem, kterým může být třeba octan sodný, ale lze použít i jiná organická rozpouštědla. Nejčastěji používanými rozpouštědly jsou alkoholy (tzn. metanol, etanol, propanol, izopropanol), nitrily (acetonitril), étery (tetrahydrofuran, dioxan, dietyléter) a jejich směsi s vodou. Tato mobilní fáze je čerpána přes odplynovací zařízení a spolu se vzorkem pak protéká přes stacionární fázi, která tvoří náplň kolony (Yan et al., 2016).

Charakter stacionární fáze v koloně závisí na typu chromatografické metody, tzn., zda se jedná o kapalinový adsorpční (LSC), či rozdělovací (LLC) systém. U stacionární fáze pro

LSC chromatografii je nejhojněji používaným polárním materiálem silikagel, dalším možným je oxid hlinitý, či inertní materiály na bázi zirkonu či keramiky. Co se týče stacionární fáze pro LLC chromatografii, je zde podmínkou vzájemná nemísitelnost mobilní a stacionární fáze. Proto je nutné použít kapaliny, u kterých nedochází k jejich vymývání z nosiče, k částečnému rozpouštění, ani k mechanickému strhávání při velkém průtoku mobilní fáze. Základem většiny stacionárních fází je silikagel, jenž reaguje s použitými rozpouštědly. Těmi mohou být buď nepolární (např. oktadecyltrichlorsilan), nebo polární rozpouštědla (např. nitrily, amino skupiny apod.) (Snyder and Kirkland, 1997).

### 1.3 Antioxidanty a antioxidační aktivita, možnosti jejího stanovení

Antioxidanty lze definovat jako molekuly, které mohou zabránit či omezit oxidační destrukci látek, jež mají ochrannou funkci. Mezi takové molekuly se řadí endogenní nízkomolekulární antioxidanty, jako např. glutation, kyselina močová, koenzym Q atp., ale také látky přírodního původu, jež jsou do těla přijímány společně s potravou. Patří zde antioxidační vitaminy C, E a karotenoidy. V poslední době se však do centra pozornosti dostávají další přírodní látky, konkrétně polyfenolické sloučeniny. Tyto antioxidanty lze nejčastěji nalézt v obilovinách, ovoci a zelenině, víně, čaji a silné antioxidační účinky vykazují také některé byliny či koření. Mezi nejvýznamnější patří nejvíce zastoupené flavonoidy a fenolické kyseliny, dále jednoduché fenoly a stilbeny, katechiny atd. (Jančová, 2013; Paulová a kol., 2004).

Přibývajícím studiem týkajícím se antioxidantů a s tím spojené antioxidační aktivity by mohly být důležitým faktorem pro zkoumání odolnosti jedince vůči onemocněním, která mají souvislost s přibývajícím věkem (Ortembergová, 2003).

Celková antioxidační aktivita nebo také kapacita představuje souhrn všech látek s antioxidačním účinkem ve vzorku a lze ji stanovit několika možnými metodami a pracovními postupy (Jančová, 2013). V rámci této práce se jednalo o zkoumání několika druhů mšlí směsí pomocí metody DPPH, která je považována za jednu ze základních metodik pro posouzení antiradikálové aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Principem této metody je reakce testované látky se stabilním radikálem 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylem (DPPH). Tato reakce bývá nejčastěji sledována pomocí spektrofotometru na základě měření absorbance. Výsledná radikálová aktivita bývá vyjadřována v ekvivalentech kyseliny askorbové či v jednotkách standardu troloxu (Paulová a kol., 2004).

Další metodou pro posouzení antioxidační aktivity v této práci byla HPLC metoda s elektrochemickou detekcí. Pomocí speciálních detektorů tak lze velmi přesně a citlivě detekovat elektroaktivní látky na základě retenčního času, nebo určitého kladného potenciálu, při kterém jsou tyto látky oxidovány. To lze sledovat pomocí píků, jež nám umožňují analyzovat koObrázek 1Obrázek 2mplexní směsi a identifikovat v nich jednotlivé antioxidační komponenty na základě hodnoty potenciálu aplikovaného na elektrodu. Pro přesnost analýzy je nutné dodržet vysokou čistotu mobilní fáze včetně snížení koncentrace stopových prvků (Paulová a kol., 2004).

Přestože jakékoli použité metody poskytují cenné údaje o testovaných látkách, každá z nich nám poskytne zcela odlišné výsledky. Na druhou stranu je známa celá řada faktorů, které antioxidační aktivitu ovlivňují. Jedná se o koncentraci antioxidantu, přítomnost jiných antioxidantů, oxidovaný substrát, použité rozpouštědlo, homogenita, pH, přítomnost jiných složek, oxidační činidlo, fyzikální faktor, parciální tlak, teplota, přítomnost iontů kovů atd. (Jančová, 2013; Paulová a kol., 2004).

## 2 CHARAKTERISTIKA A CHEMICKÉ SLOŽENÍ SUROVINOVÝCH KOMPONENT ANALYZOVANÝCH CEREÁLNÍCH SMĚSÍ

Hlavními složkami analyzovaných cereálních müsli směsí byly v rámci této diplomové práce lepkové a bezlepkové obiloviny a pseudoobiloviny, které tvořily největší podíl směsi. Z lepkových obilovin se jednalo o Dickkopf, kamut, Forhand, jednozrnku a špaldu, zatímco u bezlepkových obilovin a pseudoobilovin, byla analyzována rýže, pohanka, jáhly, amarant a quinoa. Menší podíl směsí tvořilo ovoce (meruňka, jahoda a brusinka) a oříšky (mandle). Poslední složkou těchto analyzovaných cereálních směsí byly netradiční jedlé květy a jednalo se o levanduli, růži, ibišek, chrpu a měsíček. S výjimkou obilovin, které byly použity vždy pouze buď lepkové nebo bez lepku, byly ostatní složky směsi (oříšky, ovoce a jedlé květy) u každého vzorku vždy totožné a ve stejných poměrech.

### 2.1 Základní nutriční charakteristika použitých obilovin

Obiloviny, jež tvoří převažující část použitých müsli směsí, jsou podřízeny vyhlášce č. 333/1997 Sb. v platném znění. Mlýnskými obilnými výrobky se tedy mj. rozumí, že se jedná o výrobky získané zpracováním jednoho nebo více botanických druhů obilovin, pohanky nebo rýže víceetapovým mlýnským postupem. Také se zde uvádí, že v případě v müsli se jedná o směs mlýnských obilných výrobků, upravených vločkováním, extrudováním nebo jinou vhodnou technologií, k nimž jsou přidány složky, zejména jádra suchých plodů, sušené nebo jinak zpracované ovoce a látky upravující chuť, vůni nebo konzistenci (Vyhláška 333/1997).

Je známo, že obiloviny dodávají lidstvu až polovinu energetické hodnoty a zhruba polovinu všech bílkovin získaných z potravy. Pokrývají tak potřebu hlavních výživových složek, jako jsou sacharidy, bílkoviny, tuky, vláknina a minerální látky (Pelikán, 2005). V dnešní době jsou spotřebitelé čím dál tím více zaměřeni na dodržování zdravého životního stylu a správných výživových návyků. S cílem zlepšit stravu a přispět k lepšímu zdravotnímu stavu je pozornost současné populace zaměřena na využívání alternativních nebo nedostatečně využívaných druhů plodin pro různorodé využití. Zvýšený zájem o pseudoobiloviny je však především díky jejich vynikajícímu nutričnímu, fenolickému a fytochemickému profilu a jejich použití při vývoji bezlepkových produktů. Navíc co se týče profilu esenciálních aminokyselin, které lze vyjádřit indexem esenciálních aminokyselin, biologickou hodno-

tou, poměrem účinnosti bílkovin a nutričním indexem pseudoobilovin, je prokázáno, že pseudoobiloviny mají větší obsah těchto aminokyselin v porovnání s konvenčními obilovinami, jako např. pšenice či kukuřice. Dále bylo zjištěno, že fenoly, které jsou přítomny v pseudoobilovinách, mají několik přínosů pro zdraví, jako je prevence a snižování oxidačního stresu, nebo prevence protirakovinného, antidiabetického, protizánětlivého, antihypertenzního a kardiovaskulárního onemocnění (Nisar, 2018).

V této diplomové práci byly jako lepkové obiloviny vybrány netradiční druhy pšenice, konkrétně odrůd Dickkopf (*Triticum aestivum x T. spelta Schlegel cross*) a Forhand (*Triticum aestivum L.*), Kamut (*Triticum turgidum var. turanicum*) a jednozrnka (*Triticum monococcum*). Obecně se vyznačují vyšším obsahem polyfenolů a zároveň vyšší antioxidační aktivitou (Sumczynski et al., 2015). Jsou zdrojem esenciálních aminokyselin, vitaminů, minerálních látek, fotochemikálií a vlákniny. Negativní vlastností je pouze přítomnost proteinů gliadinů a gluteninů, které mohou u některých lidí způsobovat intoleranci či alergii na lepek (Arendt and Zannini, 2013). Pšenice Kamut má v porovnání s moderními pšenicemi vyšší obsah bílkovin a minerálních látek, jako jsou selen, hořčík a zinek. U pšenice odrůdy Dickkopf bylo zaznamenáno, ve srovnání s ostatními netradičními druhy, dokonce dvojnásobné množství celkových polyfenolů a flavonoidů (Kučerová a kol., 2008; Šťastná, 2017).



Obr. 4: Pšenice jednozrnka (<http://www.aso-online.cz/psenice-jednozrnka>)

Z bezlepkových obilovin, které byly v této práci použity, lze jmenovat bílé vločky parboiled rýže, jáhly, quinou a pohanku. Rýže (*Oryza*) je charakteristická tím, že je velmi bohatá na škroby a ze všech obilovin má nejnižší obsah bílkovin, který se pohybuje přibližně od 6,7 – 8,5 % (Kopáčová, 2007). Avšak na rozdíl od ostatních obilovin obsahuje vyšší obsah lyzinu, který je pro cereálie limitující aminokyselinou (např. u rýže loupané se obsah lyzinu uvádí kolem 3,9 %). V porovnání s loupanou rýží, neloupaná rýže představuje vyšší

obsah bílkovin, které se ve značné míře nachází v aleuronové vrstvě (Hamr, 2008). Kromě bílkovin loupaná rýže přichází také o velkou část vitamínů a minerálních látek (Arendt and Zannini, 2013). Jáhly (*Panicum miliaceum*) jsou charakterizovány jako malozrnné bezlepkové obiloviny a obecně se jedná o druh prosa. Jsou pozoruhodně bohaté na vápník a na fenolické fotochemikálie. Složení ostatních makro i mikroživin je srovnatelné s hlavními obilovinami jako je pšenice, avšak jejich výživovou hodnotu může výrazně ovlivnit i způsob zpracování (Taylor and Kruger, 2016). U quinoi (*Chenopodium quinoa*) byly objeveny vynikající fyzikálně-chemické, nutriční a funkční vlastnosti. Je bohatá na proteiny a vlákninu (Collar, 2016).

Pohanka (*Fagopyrum esculentum Moench*) a amarant (*Amaranthus sp.*) patří mezi tzv. pseudoobiloviny, což znamená, že se na základě svého vzhledu, chemického složení či způsobem využití podobají obilovinám, ovšem botanicky patří do čeledi rdesnovitých. Pohanka neobsahuje lepek a vyznačují se velkým množstvím esenciálních mastných kyselin, vitamínů, minerálních prvků, vlákniny, antioxidantů a bílkovin s vysokou nutriční hodnotou (Šťastná, 2017). Co se týče amarantu, jedná se též o alternativní druh plodiny. Obsahuje vysoké množství esenciálních mastných kyselin, zejména lyzinu, a kvalitních bílkovin podobných svým složením živočišným bílkovinám (Jarošová, 1999; Belton and Taylor, 2010).



Obr. 5: Zrno amarantu (<https://delange.org/Amaranth/Amaranth.htm>)

Obr. 6: Zrno pohanky (<http://www.nasevyziva.cz/sekce-obiloviny/clanek-pohanka-obecna-239.html>)



## 2.2 Základní nutriční charakteristika ovoce

Další nedílnou součástí müsli směsí bylo ovoce, které je definováno na základě Vyhlášky č. 157/2003 Sb., a kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. Zpracovaným ovocem se mj. rozumí ovoce sušené, proslazené (kandované), či ovoce sušené sublimačně (lyofilizované) apod. Sušeným ovocem se rozumí ovoce konzervované sušením bez použití přírodních sladidel. V případě kandovaného ovoce se jedná o konzervaci potraviny na základě zvýšení sušiny přídatkem přírodních sladidel (Vyhláška 157/2003). Lyofilizované ovoce je zpracovááno procesem, ve kterém je potravina nejprve zmrazena a poté vystavena vysokému vakuu, čímž se ledová voda odpaří bez tání. Uvolněná vodní pára tak zkondenzuje při velmi nízké teplotě (Berk, 2018).

Meruňky a brusinky, jež byly použity v müsli směsích, patří mezi druh ovoce, které je nejčastěji zpracovááno procesem sušení a kandování. U jahod se využívá většinou proces lyofilizace (Šťastná, 2017). Meruňky jsou bohaté na polyfenoly, karotenoidy, kyselinu askorbovou (vitamin C), antioxidanty a mikroelementy jako je zinek, vápník, měď aj. Jádra a dužina meruňek obsahují vyšší množství některých mastných kyselin (Fратиanni et al., 2018). Brusinky vykazují ve velké míře obsah organických kyselin, katechinu, nebo proantokyanidinů. (Lu et al., 2017). Jahody jsou bohatými zdroji především vitamínu C, dále antokyanů (zejména kyanidin-3-glukosid), flavanolů (kvercetin, kaempferol, myricetin), flavanolů (katechin, epikatechin), taninů (ellagotanin), či fenolových kyselin (Terefe et al., 2009).

## 2.3 Nutriční benefity ořechů a semínek

Ořechy a semínka jsou nedílnou součástí zdravé výživy, jelikož mají spoustu blahodárných vlivů na lidské zdraví. Snižují hladinu cholesterolu, zlepšují trávení, činnost srdce, nebo pomáhají proti zácpě díky přítomnosti nerozpustné vlákniny. V této diplomové práci byly, jako zástupci skořápkových plodů, použity mandle. Jedná se o energeticky vydatné potraviny, které jsou charakteristické vysokým obsahem tuků, jež tvoří až polovinu jejich hmotnosti. Jsou bohaté na esenciální mastné kyseliny, zejména kyselinu linolenovou. Dalšími nutričně výhodnými složkami jsou bílkoviny, sacharidy, vitaminy (především vit. B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, E). Obsahují také značné množství minerálních prvků, jako je vápník, hořčík, či fosfor.

Negativní vlastností je, že jsou významnými alergeny (Šnajdrová, 2012). Skořápkové plody jsou vymezeny Vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 157/2003 Sb., a sice jako plody nebo semena vlašských ořechů, lískových ořechů, mandlí, kešu ořechů, arašídů, para ořechů, kokosových ořechů a piniových ořechů v surovém stavu, upražené či solené.

## 2.4 Jedlé květy

Posledními surovinovými komponentami, které byly v müsli použity, jsou jedlé květy. Důležitou roli hrají např. estetické aspekty, organoleptické vlastnosti z hlediska chutí, ale důležité jsou také jejich nutriční hodnoty a pozitivní vliv na lidské zdraví. V závislosti na druhu květů jsou bohaté na antioxidanty, polyfenoly, flavonoidy anebo minerální látky, jako např. draslík (Mlček, 2014). Kromě toho, jedlé květy obsahují také další senzorycké výrazné či bioaktivní látky, jako jsou hořké látky způsobující příjemnou nahořklou chuť, aromatické látky (alicin), slizové látky (alanthion), nebo barviva, u kterých lze jmenovat použitý ibišek. Také mohou obsahovat různé silice, jako je tomu např. u levandule (Kopecký, 2010).

Jedlé květy jsou v gastronomii dnes využívány především pro zlepšení vzhledu připravovaných pokrmů a jsou tak vhodnou alternativou pro milovníky dobrého a zajímavě upraveného jídla, tzv. „food stylingu“. Bývají součástí nejrůznějších zeleninových salátů, ale také jsou využívány pro přípravu sirupů, limonád, zmrzlin, pomazánek či smažených pokrmů (Neugebauerová a Vábková, 2009). Většinou jsou konzumovány celé květy, ale u některých druhů je možno požívat pouze některé části, jako jsou okvětní lístky a květní poupata. U použité růže je například vhodné odstranit části korunních lístků, které mohou být nahořklé. Jsou podávány převážně v čerstvém stavu, ale možno je použít také pro vaření, či jiné tepelné úpravy pokrmů (Osmitz et al., 2006).



Obr. 7: Zeleninový salát s pampeliškami, sedmikráskami a lístky růží

([www.ekolist.cz](http://www.ekolist.cz))

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení polyfenolického profilu a antioxidační aktivity předem připravených vzorků müsli z netradičních druhů obilovin, jejichž součástí bylo také vybrané ovoce, skořápkové plody a jedlé květy.

Předmětem teoretické části byla charakteristika převážně stanovovaných polyfenolických látek a s tím souvisejících metod stanovení, popis a stanovení antioxidační aktivity. Dále stručná charakteristika a chemické složení surovinových komponent analyzovaných cereálních směsí, což zahrnuje základní nutriční charakteristiku použitých obilovin a ovoce, nutriční benefity ořechů a semínek a konečně popis a charakteristiku jedlých květů.

V praktické části je zahrnuta metodika dílčích pracovních postupů, jako jsou extrakce jednotlivých polyfenolů v daných frakcích vzorků müsli, stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuovy metody, stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH a stanovení profilu polyfenolických látek pomocí metody HPLC.

## 4 METODIKA PRACOVNÍCH POSTUPŮ

### 4.1 Použité chemikálie a laboratorní vybavení

Pro dílčí stanovení byly použity tyto chemikálie:

- 80% kyselina trichloroctová
- metanol (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- 20% uhličitan sodný (Lachema, Česká republika)
- kyselina chlorovodíková
- 20% etanol (Lachema, Česká republika)
- 0,5 mol.dm<sup>-3</sup> NaNO<sub>2</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, Česká republika)
- 1 mol.dm<sup>-3</sup> NaOH (Ing. Petr Lukeš, Uherksý Brod, Česká republika)
- 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, Německo)
- redestilovaná voda
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma Aldrich, Německo)
- standard kyseliny gallové (Acros Organics, Belgie)
- standard troloxu (Sigma Aldrich, Německo)
- standard volných forem polyfenolů
- standard vázaných rozpustných forem polyfenolů
- standard vázaných nerozpustných forem polyfenolů

Při práci byly použity tyto pomůcky a přístrojová vybavení:

- běžné laboratorní pomůcky a sklo
- předvážky ABC+
- analytické váhy (Schoeller AFA-2102C, Česká republika)
- mixér Braun
- mikropipety s nastavitelným objemem

- magnetická míchačka
- laboratorní sušárna Venticell, BMT a.s., MMM-Group
- odstředivka (EBA 20, Hettich Zentrifugen, Německo)
- UV/VIS spektrofotometr Lambda 25 (Perkin Elmer, USA)
- ultrazvuková lázeň PS 04000A (Notus, Slovenská republika)
- kapalinový chromatograf (Dionex Ultimate 3000)

## 4.2 Výroba vloček a příprava vyselektovaných vzorků müsli směsí

Do müsli směsí s obsahem lepku byly použity pšeničné vločky, které byly vyráběny z netradičních pšeničných zrn. Jednalo se o pšenici odrůdy Dickkopf, Forhand, Kamut, jednozrnku a špaldu. Vločky z jednotlivých pšenic byly vyrobeny na základě hydrotermálního ošetření s následným rozvácováním. Zrna byla povařena při teplotě 95°C po dobu 10 - 15 minut v závislosti na druhu pšenice a sušena při pokojové teplotě 30 minut. Poté byla zrna podrobena rozvácování na vločkovacím stroji na tloušťku 0,75 mm. Dále byly vločky opět sušeny po dobu 60 minut při teplotě 80°C v sušárně. Ostatní komponenty byly v případě sušeného či kandovaného ovoce poskytnuty firmou Poex, mandle byly zakoupeny v maloobchodní síti a sušené jedlé květy poskytly firmy Oxalis a Sonnentor.

U bezlepkových müsli směsí byly použity bezlepkové vločky jáhel, amarantu a quinoi, které byly zakoupeny v obchodní síti. Co se týče vloček parboiled rýže a pohanky, byly připraveny opět procesem hydrotermálního ošetření s následným rozvácováním. Pohanková zrna byla vařena po dobu 5 minut, rýžová zrna po dobu 12 minut. Tato zrna byla dále kondicionována při teplotě 40°C v sušárně po dobu 30 minut. Po uplynutí určité doby, byla teplota zvýšena na 80 – 80 °C. Následně byla zrna rozvácována na tloušťku 0,70 mm a vysušena v horkovzdušné sušárně při 60 °C po dobu 60 minut. Ostatní suroviny byly pořízeny stejným způsobem jako u müsli směsí s obsahem lepku.

Vzorky müsli lepkových i bezlepkových směsí byly smíchány na základě příslušných receptur. Pšeničné či bezlepkové vločky tvořily vždy 70 % obsahu müsli směsí a 30 % zbylé komponenty, jako mandle, sušené ovoce a jedlé květy.

Před podrobením vzorků müsli směsí nutriční analýze, bylo nezbytné, jednotlivé směsi zhomogenizovat pomocí tyčového mixéru. Takto připravené vzorky byly skladovány při

laboratorní teplotě 23°C v neprodyšných plastových obalech nanejvýše 1 měsíc před analýzou.

Stanovení nutričních hodnot bylo realizováno na pracovišti Fakulty technologické UTB, v laboratořích UACHP. U lepkových i bezlepkových müsli směsí bylo připraveno vždy 5 vzorků.

#### 4.2.1 Směsi müsli s obsahem lepku

Tabulka 1: *Surovinová skladba vzorků müsli směsí obsahujících lepek*

	<b>Obiloviny (g)</b>	<b>Oříšky (g)</b>	<b>Ovoce (g)</b>	<b>Jedlé květy (g)</b>
<b>Vzorek č. 1</b>	Dickkopf 70	mandle 7	meruňka 22,5	levandule 0,5
<b>Vzorek č. 2</b>	Kamut 70	mandle 7	jahoda 19	růže 2 ibišek 2
<b>Vzorek č. 3</b>	Forhand 70	mandle 7	meruňka 20	růže 2 chrpa 1
<b>Vzorek č. 4</b>	jednozrnka 70	mandle 7	brusinka 19	růže 2 chrpa 1 měsíček 1
<b>Vzorek č. 5</b>	špalda 70	mandle 7	brusinka 10 meruňka 10	ibišek 2 měsíček 1

## 4.2.2 Směs müsli bez obsahu lepku

Tabulka 2: Surovinová skladba vzorků bezlepkových müsli směsí

	Bezlepkové obiloviny/pseudoobiloviny (g)	Oříšky (g)	Ovoce (g)	Jedlé květy (g)
<b>Vzorek č. 1</b>	rýže 40 pohanka 25 jáhly 5	mandle 7	meruňka 22,5	levandule 0,5
<b>Vzorek č. 2</b>	rýže 40 pohanka 25 jáhly 3 amarant 2	mandle 7	jahoda 19	růže 2 ibišek 2
<b>Vzorek č. 3</b>	rýže 40 pohanka 25 jáhly 3 amarant 2	mandle 7	meruňka 20	růže 2 chrpa 1
<b>Vzorek č. 4</b>	rýže 40 pohanka 25 jáhly 3 quinoa 2	mandle 7	brusinka 19	růže 2 chrpa 1 měsíček 1
<b>Vzorek č. 5</b>	rýže 40 pohanka 25 jáhly 3 quinoa 2	mandle 7	brusinka 10 meruňka 10	ibišek 2 měsíček 1



### 4.3 Extrakce polyfenolických frakcí

#### 4.3.1 Extrakce volných polyfenolů

Do čtyř tmavých lékovek bylo naváženo 4x 1,5 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Poté bylo ke každé navážce přidáno 15 ml 80% metanolu. Obsah byl dán na magnetickou míchačku a 1 h za stálého míchání extrahován. Po uplynutí této doby byl ponechán 10 min v klidu a extrakt byl odsát pomocí Pasteurovy pipety do keramické odpařovací misky. Takto získaný vzorek byl na vodní lázni rychle odpařen do sucha. Extrakce byla znovu opakována s původním zbytkem, avšak s 10 ml 80% metanolu. Opět je nutné ponechat tento vzorek 10 min odstát a extrakt stáhnout pomocí Pasteurovy pipety. Tento se přileje k prvnímu odpařenému extraktu do keramické misky a je znovu odpařen do sucha. Získáme tak 4 misky s odpařenými extrakty, přičemž 2 misky jsou postupně zregenerovány 10 ml 80% metanolu, tak aby bylo možné přemístit tento vzorek do odměrné baňky o objemu 10 ml. Odměrné baňky jsou dány na 1 min do ultrazvuku, přefiltrovány přes syringe filtr (nylon, 13 mm, 0,2  $\mu\text{m}$ ) a dávkovány do vialek. Tímto způsobem získáme extrakt připravený pro stanovení volných polyfenolů.

#### 4.3.2 Extrakce rozpustných vázaných (konjugovaných) polyfenolů

Zbylé dvě keramické misky s odpařeným extraktem (kapitola 4.3.1) jsou kvantitativně převedeny do tmavé lékovky pomocí 10 ml 0,2 mol.dm<sup>-3</sup> NaOH. Tyto se nechají hydrolyzovat 4 hodiny pod dusíkem na magnetické míchačce. Poté pH upraveno pomocí 6 mol.dm<sup>-3</sup> HCl na hodnotu 3 - 5 (nutno kontrolovat pH papírkem). Vzorky jsou dále odstředěny na odstředivce (3421g, 20 min) a přefiltrovány přes stejný syringe filtr do tmavé vialky. Tímto způsobem jsou získány vázané rozpustné frakce polyfenolů (neboli konjugované).

#### 4.3.3 Extrakce vázaných (nerozpustných) polyfenolů

Zde je použit pevný zbytek v lékovce získaný při extrakci volných polyfenolů v kapitole 4.3.1. Tento vzorek je nutno v tmavé lékovce zalít 20 ml 0,2 mol.dm<sup>-3</sup> NaOH a nechat na míchačce hydrolyzovat po dobu 4 hodin pod dusíkem. Je nutno opět upravit pH na hodnotu 3 - 5 pomocí 6 mol.dm<sup>-3</sup> HCl (opět kontrolovat pH papírkem). Vzorek se odstředí (4321g, 30 min), přefiltruje přes již zmiňovaný syringe filtr do vialek. Takto získáme frakci vázaných nerozpustných polyfenolů.

#### 4.4 Stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuovy metody

Ke stanovení celkových polyfenolů v daných frakcích byly použity extrakty připravené dle postupů uvedených v kapitole 4.3. Od každého vzorku bylo získáno 8 hodnot.

##### 4.4.1 Stanovení celkových polyfenolů

Při tomto stanovení bylo do 10 ml odměrné baňky napipetováno 5 ml destilované vody, k ní bylo přidáno 200  $\mu$ l extraktu vzorku a 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla. K tomu bylo přidáno 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a odměrná baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Směs byla promíchána a po uplynutí 30 min bylo provedeno měření absorbance na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm. Celkový obsah polyfenolů ve vzorku byl vypočítán pomocí rovnice lineární regrese, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové v 1 g vzorku ( $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).



Obr. 8: Příprava roztoků pro měření absorbance



Obr. 9: Vzorky pro stanovení celkových polyfenolů

#### 4.4.2 Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení celkového obsahu polyfenolů

Jako standard byla použita kyselina gallová, ze které byl připraven zásobní roztok jejím rozpuštěním v metanolu na koncentraci  $4\,000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Na základě ředění byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50, 100, 200, 400, 600 a  $800\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Do 10 ml odměrné baňky bylo odpipetováno 5 ml destilované vody, k níž bylo přidáno 200  $\mu\text{l}$  standardu a 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a odměrná baňka byla doplněna po rysku. Obsah odměrné baňky byl promíchán a ponechán po dobu 30 minut v temnu. Dále byly jednotlivé koncentrace proměřeny pomocí spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm. Na základě naměřených hodnot byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance  $A$  na koncentraci  $c$  kyseliny gallové [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ].

#### 4.5 Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH

Ke stanovení celkových polyfenolů v daných frakcích byly použity extrakty připravené dle postupů uvedených v kapitole 4.3. Od každého vzorku bylo získáno 12 hodnot.

#### 4.5.1 Příprava zásobního a pracovního roztoku pro vlastní měření absorbance

Zásobní roztok se připravil rozpuštěním 24 mg DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazilu) ve 100 ml metanolu. Z takto připraveného zásobního roztoku byl dle spotřeby potřebné ke stanovení připraven roztok pracovní v poměru 10 ml zásobního roztoku DPPH na 45 ml metanolu. Poté byla změřena absorbance pracovního roztoku  $A_0$  proti metanolu jako blanku při vlnové délce 515 nm.

Při vlastním měření bylo do zkumavky odpipetováno 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a potřebné množství extraktu vzorku. Směs vzorku byla následně ponechána 60 min v temnu. Po uplynutí doby byla spektrofotometricky změřena absorbance při vlnové délce 515 nm. Z úbytku absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace a pomocí rovnice lineární regrese byla vypočtena antioxidační aktivita vzorku, která byla vyjádřena jako ekvivalentní množství mg troloxu na 1 g vzorku. ( $\text{mg TE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

#### 4.5.2 Sestrojení kalibrační křivky pro stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH

Jako standard byl použit trolox a jeho zásobní roztok byl vytvořen rozpuštěním standardu v metanolu na koncentraci  $800 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Jeho ředěním byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 40, 80, 120, 160 a  $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Jednotlivé koncentrace byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku v množství  $450 \mu\text{l}$  a po uplynutí 1 hodiny v temnu měřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 515 nm. Z naměřených hodnot úbytků absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace, kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Z rovnice lineární regrese pak byla vypočítána celková antioxidační aktivita vzorku jako ekvivalentní množství g troloxu v 1 g vzorku.

#### 4.6 Stanovení profilu polyfenolických látek pomocí metody HPLC

Ke stanovení přítomnosti a obsahu polyfenolických látek ve vzorcích byla v této práci použita metoda HPLC s UV detekcí a kolonou Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm x 4,6 mm s velikostí částic  $2,6 \mu\text{m}$ ). Mobilní fáze byla tvořena dvěma složkami a eluce probíhala gradientově. U mobilní fáze A se jednalo o směs redestilované vody a ledové kyseliny octové (99,8%) v poměru 99:1 a u mobilní fáze B byla směsí voda, acetonitril a ledová kyselina octová (99,8%) v poměru 67:32:1. Objem nástřiku byl  $10 \mu\text{l}$  a teplota kolony byla nastavena na  $30^\circ\text{C}$ . Rychlost průtoku mobilní fáze byla  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  a délka analýzy trvala 45

minut. Měření na detektoru probíhalo při vlnových délkách 210, 254, 275 a 375 nm, přičemž vyhodnocení (odečítání ploch píků) bylo provedeno při vlnové délce 275 nm. Z každého vzorku tak bylo naměřeno vždy 12 hodnot.

#### 4.6.1 Vyhodnocení kalibrační křivky standardů a jejich zpracování

Pro stanovení polyfenolických látek ve vzorcích byly připraveny kalibrační křivky 21 standardů fenolických látek: kyselina gallová, 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hydroxybenzoová, epigallokatechin, katechin, kyseliny vanilová, chlorogenová, kávová, syringová, epikatechin, kyseliny *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, elagová, rutin, kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová, etylester kyseliny protokatechové, resveratrol, kyselina *trans*-skořicová, kvercetin a kaempferol.

Ke stanovení rovnice kalibrační křivky je nutno připravit si zásobní roztok standardu. Bylo naváženo  $0,001 \text{ g} \pm 0,1 \text{ mg}$  od každého standardu. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 10 ml a následně doplněna metanolem po rysku. Ze zásobního roztoku o koncentraci  $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  byla ředěním mobilní fáze A připravena kalibrační řada roztoků o koncentracích 5, 20, 30 a  $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  a tyto roztoky byly dále proměřeny za stejných chromatografických podmínek jako vzorky (kapitola 4.6). Na základě získaných hodnot ploch píků byla sestavena kalibrační křivka závislosti plochy píku ( $\text{mAU}\cdot\text{min}$ ) na koncentraci kalibračních roztoků. Pomocí metody lineární regrese byl vypočítán obsah polyfenolických látek.

#### 4.7 Statistické zpracování dat

Za pomoci Dean-Dixonova testu byly z naměřených dat vyloučeny odlehlé hodnoty, přičemž ze zbylých hodnot byl vyjádřen výsledek, a sice jako střední hodnota se směrodatnou odchylkou. Srovnání dvou nezávislých souborů bylo provedeno dle Studentova t-testu srovnávajícího rozdíl středních hodnot dvou nezávislých souborů. Statistické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí programu StatK25 na hladině významnosti 5 %.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V diplomové práci byly stanovovány a diskutovány výsledky stanovení celkových polyfenolů, antioxidační aktivity a profilu polyfenolických látek jednotlivých müsli směsí z netradičních druhů obilovin, a sice bezlepkových či s lepkem. Výsledky analýzy jsou ovlivněny i dalšími komponentami müsli, jako je ovoce, skořápkové plody a jedlé květy. Tyto výsledky lze však jen velmi těžce porovnávat s dalšími studiemi z důvodu doposud omezeného množství výzkumů, které by se zabývaly právě problematikou nutriční analýzy müsli z netradičních druhů obilovin. Prozatím byl pro müsli směsí z netradičních druhů obilovin a jedlých květů v roce 2017 vytvořen patent č. 306520, který byl udělen na základě schváleného užitého vzoru č. 28846 (Mlček a Sumczynski, 2015).

### 5.1 Výsledky stanovení celkových polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů (TPC) byl stanoven na základě extrakce vzorků, která byla provedena postupem uvedeným v kapitole 4.3. Výsledný extrakt byl poté použit ke stanovení celkových polyfenolů dle postupu v kapitolách 4.3.1, 4.3.2 a 4.3.3. Absorbance byla měřena při vlnové délce 765 nm na spektrofotometru Lambda 25 oproti blanku. Výsledky TPC jsou vyjádřeny v ekvivalentních množstvích kyseliny gallové (GAE) v mg na 1 g vzorku čerstvé hmoty.

Výsledky stanovení celkových polyfenolů jsou prezentovány v tabulkách 3 a 4. Z lepkových směsí byl na celkové polyfenoly nejbohatší vzorek č. 3, jehož hlavní surovinou byla obilovina Forhand a celkový obsah polyfenolů činil 20,7 mg GAE.g<sup>-1</sup>. U bezlepkových směsí pak nejvyšší hodnotu TPC měl vzorek č. 2, kde se vyskytovaly obiloviny jako rýže, pohanka, jáhly a amarant a celkový obsah polyfenolů byl 57,6 mg GAE.g<sup>-1</sup>. Společnou surovinou mezi těmito vzorky byla růže, která mohla také přispět vyšší hodnotě TPC. Podle výzkumu Zhanga et al (2016) bylo zjištěno, že polyfenolické látky obsažené v růžích jsou vysoce koncentrované a jsou citlivé na změny pH. Nejnižší hodnotu celkového obsahu polyfenolů ukazoval vzorek č. 5 se špaldou.

Pokud však srovnáme TPC mezi bezlepkovými a lepkovými obilovinami navzájem, vyšší hodnoty poskytují právě vzorky bez obsahu lepku. Výsledky studie Sumczynski et al. (2018) se ale uvádí, že právě netradiční obiloviny by měly být bohatší na celkový obsah polyfenolů. Tyto rozdíly mohou být ale zapříčiněny zajisté ostatními komponentami müsli směsí, které mohou mít vliv na nižší hodnoty TPC. Co se týče rozdílů mezi jednotlivými

frakcemi, tak bylo zjištěno, že ve vzorcích s obsahem lepku se více polyfenolických látek vyskytovalo ve volných frakcích, naproti tomu u bezlepkových vzorků se více polyfenolických látek vyskytovalo v konjugovaných frakcích. V obou případech nejvyšší množství polyfenolických látek bylo ve vázaných frakcích polyfenolů.

Tabulka 3: Výsledky stanovení obsahu polyfenolů v müsli směsích s obsahem lepku

Vzorek s obsahem lepku	Volné TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Konjug. TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Vázané TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Celkový obsah TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD
1	5,53 ± 0,19 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,27 ± 0,11 <sup>a</sup>	12,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
2	8,04 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,13 ± 0,18 <sup>b</sup>	2,71 ± 0,03 <sup>b</sup>	16,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
3	10,60 ± 0,30 <sup>c</sup>	7,63 ± 0,13 <sup>c</sup>	2,46 ± 0,09 <sup>c</sup>	20,7 ± 0,2 <sup>c</sup>
4	10,20 ± 0,10 <sup>d</sup>	6,56 ± 0,08 <sup>d</sup>	2,23 ± 0,07 <sup>b</sup>	19,0 ± 0,1 <sup>d</sup>
5	5,33 ± 0,14 <sup>e</sup>	4,94 ± 0,17 <sup>a</sup>	2,07 ± 0,04 <sup>d</sup>	12,3 ± 0,1 <sup>e</sup>

SD (Standard deviation) – směrodatná odchylka

TPC – stanovení celkových polyfenolů

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

Tabulka 4: Výsledky stanovení obsahu polyfenolů v müsli směsích bez obsahu lepku

Vzorek s obsahem lepku	Volné TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Konjug. TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Vázané TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Celkový obsah TPC [mg GAE.g <sup>-1</sup> ] ± SD
1	6,62 ± 0,21 <sup>a</sup>	14,80 ± 0,30 <sup>a</sup>	8,35 ± 0,29 <sup>a</sup>	29,8 ± 0,3 <sup>a</sup>
2	20,00 ± 0,10 <sup>b</sup>	28,90 ± 1,10 <sup>b</sup>	8,73 ± 0,25 <sup>b</sup>	57,6 ± 0,6 <sup>b</sup>
3	17,80 ± 0,30 <sup>c</sup>	24,70 ± 0,90 <sup>c</sup>	10,65 ± 0,03 <sup>c</sup>	53,2 ± 0,4 <sup>c</sup>
4	19,50 ± 0,70 <sup>d</sup>	24,70 ± 0,90 <sup>c</sup>	7,42 ± 0,19 <sup>d</sup>	51,6 ± 0,4 <sup>d</sup>
5	10,19 ± 0,15 <sup>e</sup>	8,58 ± 0,41 <sup>d</sup>	2,94 ± 0,06 <sup>e</sup>	21,7 ± 0,2 <sup>e</sup>

SD (Standard deviation) – směrodatná odchylka

TPC – stanovení celkových polyfenolů

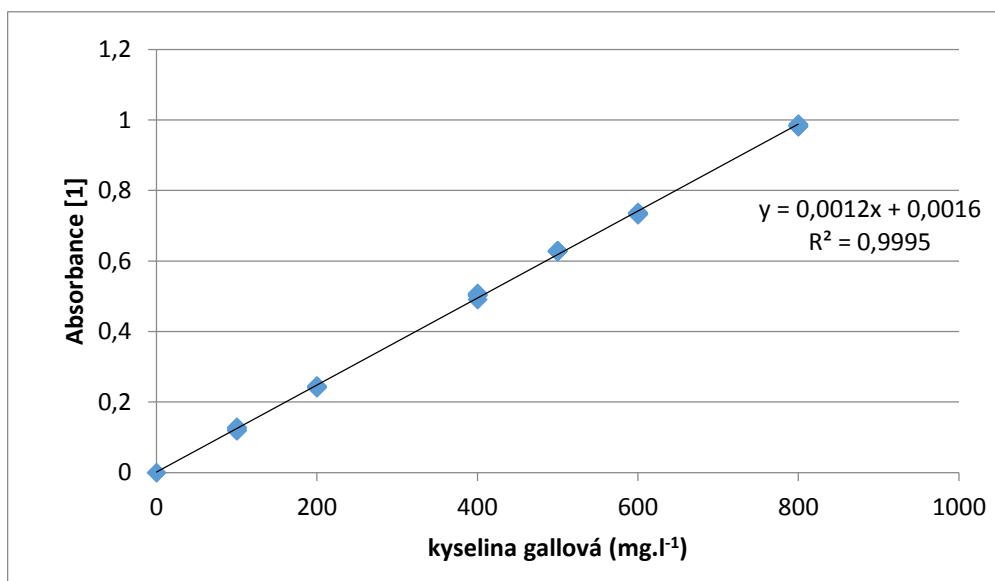
Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

V případě měření kalibrační křivky pro stanovení obsahu polyfenolů byla jako standard použita kyselina gallová a kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové (mg.l<sup>-1</sup>) na základě postupu v kapitole 4.4.2. Rovnice lineární regrese je  $y = 0,0012x + 0,0016$  a hodnota spolehlivosti  $R^2$  je rovna 0,9995. Mez detekce při použití kyseliny gallové jako standardu byl dle podmínek uvedených v metodě 20 mg.l<sup>-1</sup>.



Tabulka 5: Naměřené hodnoty absorpance kyseliny gallové pro sestavení kalibrační křivky

Koncentrace kyseliny gallové [mg.l <sup>-1</sup> ]	Průměrná absorpance A
0	0,000
100	1,143
200	0,248
400	0,506
500	0,632
600	0,794
800	0,989



Graf 1: Kalibrační křivka vyjadřující závislost absorpance na koncentraci kyseliny gallové

## 5.2 Výsledky stanovení antioxidační aktivity

Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno u extraktů, připravených podle postupu uvedeného v kapitole 4.3. Úbytek absorpance vzorku byl změřen při vlnové délce 515 nm na spektrofotometru Lambda 25 oproti metanolu. Úbytek absorpance byl přepočten v %

inaktivace a na základě rovnice lineární regrese vyjádřené z kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství g troloxu na 1 g vzorku.

Stejně jako u předešlé metody stanovení celkových polyfenolů v kap. 5.1, tak i u stanovení antioxidační aktivity (TAA) měl právě vzorek č. 3 s obsahem lepku, nejvyšší hodnotu antioxidační aktivity. Dle tabulky č. 6 s výslednými hodnotami antioxidační aktivity ve vzorcích lze rozeznat, že vzorek s hlavní komponentou pšenicí Forhand měl hodnotu antioxidační aktivity  $69,0 \text{ mg TE.g}^{-1}$ . Z tabulky lze také vyčíst, že nejvyšší podíl na průměrné hodnotě měly především konjugované frakce vzorku, které obsahovaly  $58,9 \text{ mg TE.g}^{-1}$ . V obou případech müsli směsí s lepkem se ukázala jako nejlepší právě směs obsahující Forhand, mandle, meruňky a růži s chrpou. Směs s nejnižším obsahem AOA (antioxidační aktivity) a TPC obsahovala složky jako špaldu, mandle, brusinky s meruňkou a ibišek s měsíčkem. Sumczynski et al. (2017), jejichž výzkum byl zaměřen především na druhy pšenice Dickkopf a Richard, prokázali, že výsledky metody DPPH jsou v korelaci s hladinami TPC. Velký vliv na rozmanitost výsledků lze přisuzovat i dalším komponentám, jako např. ovoci, které je bohaté na polyfenoly.

Tabulka 6: *Výsledky stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH u vzorků s obsahem lepku*

Vzorek s obsahem lepku	AOA ve vzorku u volné frakce [mg TE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	AOA ve vzorku u konjugované frakce [mg TE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	AOA ve vzorku u vázané [mg TE.g <sup>-1</sup> ] ± SD	Průměr AOA ve vzorku [mg TE.g <sup>-1</sup> ] ± SD
1	$2,79 \pm 0,10^a$	$54,8 \pm 0,3^a$	$2,64 \pm 0,08^a$	$60,2 \pm 0,2^a$
2	$9,70 \pm 0,33^b$	$56,2 \pm 0,4^b$	$1,68 \pm 0,03^b$	$67,6 \pm 0,3^b$
3	$7,66 \pm 0,11^c$	$58,9 \pm 1,0^c$	$2,48 \pm 0,01^c$	$69,0 \pm 0,4^c$
4	$23,4 \pm 0,7^d$	$29,2 \pm 1,1^d$	$9,88 \pm 0,31^d$	$62,5 \pm 0,7^d$
5	$11,4 \pm 0,2^e$	$39,9 \pm 0,8^e$	$2,54 \pm 0,02^e$	$53,8 \pm 0,3^e$

SD (Standard deviation) – směrodatná odchylka

AOA (Antioxidant activity) – antioxidační aktivita

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

V případě stanovení antioxidační aktivity bezlepkových müsli směsí metodou s DPPH byly nejvyšší hodnoty zaznamenány u konjugovaných frakcí. Nejvyšší hodnota antioxidační aktivity byla zjištěna u vzorku č. 2 ( $213,0 \text{ mg TE.g}^{-1}$ ), jehož hlavními surovinami byla rýže, pohanka, jáhly a amarant, dále pak mandle, kandované jahody a růže s ibiškem. Zde k hodnotám antioxidační aktivity zajisté výrazným způsobem přispěly i samotné suroviny jako jahody či ibišek (Méndez-Lagunas et al., 2017; Zhen et al., 2016).

Tabulka 7: Výsledky stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH u vzorků bez obsahu lepku

Vzorek s obsahem lepku	AOA ve vzorku u volné frakce [ $\text{mg TE.g}^{-1}$ ] $\pm$ SD	AOA ve vzorku u konjugované frakce [ $\text{mg TE.g}^{-1}$ ] $\pm$ SD	AOA ve vzorku u vázané [ $\text{mg TE.g}^{-1}$ ] $\pm$ SD	Průměr AO ve vzorku [ $\text{mg TE.g}^{-1}$ ] $\pm$ SD
1	$3,61 \pm 0,10^a$	$91,8 \pm 0,5^a$	$4,93 \pm 0,09^a$	$100,0 \pm 0,2^a$
2	$10,30 \pm 0,07^b$	$199,0 \pm 1,4^b$	$4,17 \pm 0,14^b$	$213,0 \pm 0,5^b$
3	$9,86 \pm 0,15^c$	$173,0 \pm 1,4^c$	$4,07 \pm 0,02^c$	$187,0 \pm 0,5^{c,d}$
4	$9,58 \pm 0,20^d$	$176,0 \pm 1,3^d$	$2,88 \pm 0,15^d$	$188,0 \pm 0,6^d$
5	$5,42 \pm 0,21^e$	$59,1 \pm 0,4^e$	$1,90 \pm 0,06^e$	$66,4 \pm 0,2^e$

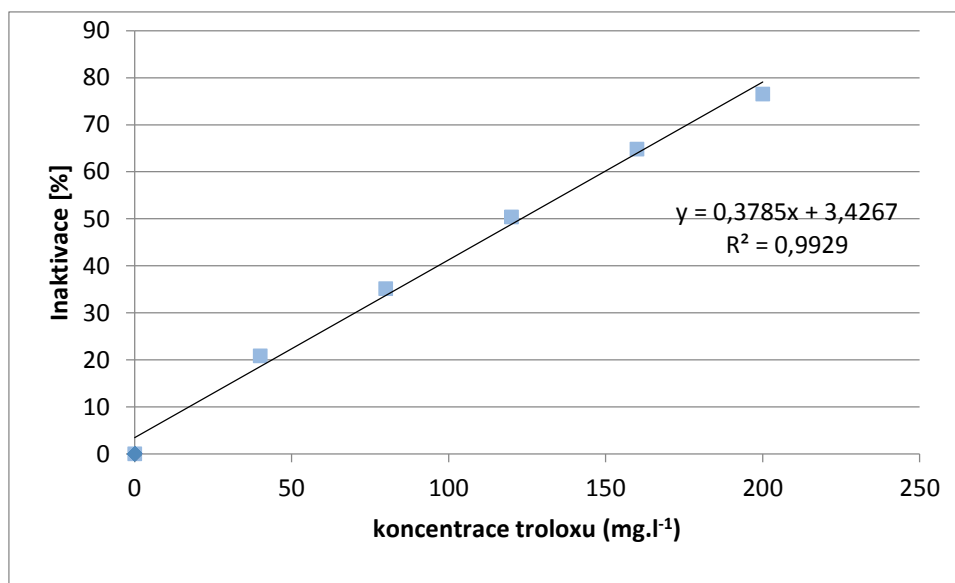
SD (Standard Deviaton) – směrodatná odchylka

AOA (Antioxidant activity) – antioxidační aktivita

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písemné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

Tabulka 8: Naměřené hodnoty úbytku absorbance přepočtené na hodnoty inaktivace

Koncentrace troloxu [mg.l <sup>-1</sup> ]	Inaktivace [%]
0	0
40	20,81
80	35,13
120	50,39
160	64,79
200	76,54



Graf 2: Kalibrační křivka znázorňující závislost inaktivace na koncentraci troloxu metodou s DPPH

### 5.3 Výsledky stanovení profilu polyfenolických látek

Při stanovení profilu polyfenolických látek v analyzovaných vzorcích bylo použito 21 standardů. Bylo analyzováno opět 5 vzorků s obsahem lepku a 5 bezlepkových vzorků, z nichž každý byl extrahován na volné, rozpustné konjugované a nerozpustné frakce a následně 4x proměřen. Na základě HPLC analýzy byly získány výsledné hodnoty obsahu jednotlivých polyfenolů, které jsou zobrazeny v tabulkách č. 9 a 10.

Ve vzorku č. 1, s hlavní složkou pšenice Dickkopf, bylo zjištěno nejvyšší množství kyseliny elagové ( $76,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) ze skupiny derivátů kyseliny hydroxybenzoové, která se vyskytovala převážně ve volných frakcích. V tomto vzorku byly ve vyšším množství nalezeny také jiné polyfenolické látky, jako katechin, kyselina vanilová, či epikatechin aj. Ve vzorku č. 1 nebyly detekovány epigallokatechin, kyselina ferulová, resveratrol a kyselina *trans*-2-skořicová.

Ve vzorku č. 2 s pšenicí Kamut byl naměřen nejvyšší obsah rutinu, který patří mezi flavonoidy, a to  $157,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Opět se tento vyskytoval převážně ve volných frakcích. Dále byly naměřeny vyšší koncentrace kyselin gallové, ferulové a sinapové.

Vzorek č. 3, s druhem pšenice Forhand, vykazoval nejvyšší koncentraci rutinu ( $200,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Taktéž vzorek vykazoval vyšší koncentrace etylesteru kyseliny protokatechové nebo kyseliny ellagové. V případě vzorku č. 3 nebyl detekován epigallokatechin. V Příloze I je uvedena ukázka HPLC chromatogramu analýzy volných frakcí tohoto vzorku.

Vzorek č. 4 s hlavní složkou pšenicí jednozrnkou vykazoval nejvyšší množství kyseliny ferulové ( $187,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), která patří do skupiny derivátů kyseliny hydroxyskořicové. V tomto vzorku byla ve vyšších koncentracích zastoupena také kyselina gallová, rutin, či kyselina sinapová. Naopak nebyla detekována kyselina 4-hydroxybenzoová, epigallokatechin a kyselina *trans*-skořicová.

Poslední z lepkových müsli směsí byl vzorek č. 5 s hlavní složkou špaldou, u kterého byla naměřena vyšší koncentrace rutinu ( $142,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Ve vyšších koncentracích se ve vzorku vyskytovaly také kyselina ferulová, epikatechin nebo kyselina sinapová.

Tabulka 9A: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsi s obsahem lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
Gall	Vol	2,53 ± 0,00 <sup>a</sup>	32,00 ± 1,80 <sup>b</sup>	39,40 ± 1,10 <sup>c</sup>	4,65 ± 0,02 <sup>d</sup>	5,41 ± 0,08 <sup>e</sup>
	Kon	6,62 ± 0,03 <sup>a</sup>	12,50 ± 0,30 <sup>b</sup>	9,85 ± 0,00 <sup>c</sup>	137,00 ± 0,00 <sup>d</sup>	28,00 ± 0,50 <sup>e</sup>
	Váz	3,62 ± 0,08 <sup>a</sup>	95,90 ± 0,20 <sup>b</sup>	7,86 ± 0,01 <sup>c</sup>	27,40 ± 1,00 <sup>d</sup>	6,45 ± 0,30 <sup>e</sup>
	Suma	12,77 ± 0,04 <sup>a</sup>	140,40 ± 0,77 <sup>b</sup>	57,11 ± 0,37 <sup>c</sup>	169,05 ± 0,34 <sup>d</sup>	39,86 ± 0,29 <sup>e</sup>
3,4- dhBenz	Vol	8,19 ± 0,14 <sup>a</sup>	34,90 ± 1,10 <sup>b</sup>	8,82 ± 0,70 <sup>a</sup>	6,62 ± 0,35 <sup>c</sup>	6,40 ± 0,02 <sup>d</sup>
	Kon	1,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,05 <sup>c</sup>	7,79 ± 0,43 <sup>d</sup>	15,20 ± 1,40 <sup>e</sup>
	Váz	1,60 ± 0,04 <sup>a</sup>	3,93 ± 0,09 <sup>b</sup>	3,70 ± 0,42 <sup>c</sup>	0,80 ± 0,05 <sup>d</sup>	0,72 ± 0,11 <sup>e</sup>
	Suma	10,97 ± 0,07 <sup>a</sup>	39,74 ± 0,42 <sup>b</sup>	13,82 ± 0,39 <sup>c</sup>	15,21 ± 0,28 <sup>d</sup>	22,32 ± 0,51 <sup>e</sup>
4-hBenz	Vol	ND	3,18 ± 0,73 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,11 <sup>b</sup>	ND	ND
	Kon	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>a</sup>	ND	0,25 ± 0,02 <sup>c</sup>
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,81 ± 0,40 <sup>b</sup>	0,87 ± 0,04 <sup>c</sup>	ND	0,25 ± 0,02 <sup>d</sup>
EGKat	Vol	ND	ND	ND	ND	5,02 ± 0,65 <sup>a</sup>
	Kon	ND	4,97 ± 0,00 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	7,86 ± 1,31 <sup>a</sup>
	Suma	ND	4,97 ± 0,00 <sup>a</sup>	ND	ND	12,88 ± 0,98 <sup>b</sup>
Kat	Vol	12,40 ± 1,60 <sup>a</sup>	2,90 ± 0,25 <sup>b,c</sup>	3,15 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,68 ± 0,47 <sup>d</sup>	ND
	Kon	3,82 ± 0,30 <sup>a</sup>	9,58 ± 0,06 <sup>b</sup>	4,61 ± 0,19 <sup>c</sup>	1,59 ± 0,12 <sup>d</sup>	2,09 ± 0,01 <sup>e</sup>
	Váz	4,04 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,84 ± 0,32 <sup>b</sup>	3,35 ± 0,28 <sup>c</sup>	ND
	Suma	20,30 ± 0,70 <sup>a</sup>	16,60 ± 0,10 <sup>b</sup>	11,60 ± 0,20 <sup>c</sup>	8,62 ± 0,29 <sup>d</sup>	2,09 ± 0,01 <sup>e</sup>

Tabulka 9B: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí s obsahem lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
Van	Vol	13,80 ± 0,60 <sup>a</sup>	10,0 ± 0,20 <sup>b</sup>	21,10 ± 0,10 <sup>c</sup>	11,50 ± 0,20 <sup>d</sup>	23,10 ± 0,01 <sup>e</sup>
	Kon	1,03 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,94 ± 0,16 <sup>b</sup>	2,40 ± 0,21 <sup>c,e</sup>	3,87 ± 0,10 <sup>d</sup>	2,60 ± 0,12 <sup>e</sup>
	Váz	1,88 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,03 <sup>c</sup>	5,46 ± 0,32 <sup>d</sup>	3,40 ± 0,01 <sup>e</sup>
	Suma	16,71 ± 0,26 <sup>a</sup>	14,27 ± 0,13 <sup>b</sup>	24,72 ± 0,11 <sup>c</sup>	20,83 ± 0,21 <sup>d</sup>	29,10 ± 0,05 <sup>e</sup>
Chl	Vol	1,67 ± 0,13 <sup>a</sup>	10,10 ± 0,50 <sup>b,d</sup>	13,50 ± 0,20 <sup>c</sup>	10,90 ± 0,30 <sup>d</sup>	2,91 ± 0,25 <sup>e</sup>
	Kon	0,42 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,58 ± 0,04 <sup>c</sup>	20,50 ± 0,70 <sup>d</sup>	32,60 ± 0,20 <sup>e</sup>
	Váz	0,71 ± 0,07 <sup>a,d</sup>	10,80 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,24 ± 0,07 <sup>c</sup>	0,81 ± 0,05 <sup>d</sup>	2,50 ± 0,12 <sup>e</sup>
	Suma	2,80 ± 0,08 <sup>a</sup>	21,70 ± 0,30 <sup>b</sup>	15,30 ± 0,10 <sup>c</sup>	32,20 ± 0,10 <sup>d</sup>	38,00 ± 0,20 <sup>e</sup>
Káv	Vol	1,55 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,64 ± 0,28 <sup>b</sup>	2,62 ± 0,22 <sup>b</sup>	3,49 ± 0,22 <sup>c</sup>	2,25 ± 0,19 <sup>d</sup>
	Kon	0,21 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,22 ± 0,33 <sup>c</sup>	2,06 ± 0,04 <sup>d</sup>
	Váz	0,70 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,39 ± 0,26 <sup>c</sup>	0,67 ± 0,20 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,04 <sup>d</sup>
	Suma	2,46 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,45 ± 0,11 <sup>b</sup>	4,20 ± 0,17 <sup>c</sup>	10,40 ± 0,30 <sup>d</sup>	4,88 ± 0,09 <sup>e</sup>
Syr	Vol	4,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	15,60 ± 0,90 <sup>b</sup>	20,50 ± 0,70 <sup>c</sup>	1,32 ± 0,10 <sup>d</sup>	0,51 ± 0,34 <sup>e</sup>
	Kon	5,61 ± 0,34 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,49 ± 0,25 <sup>c</sup>	0,44 ± 0,16 <sup>b</sup>	2,54 ± 0,29 <sup>d</sup>
	Váz	2,47 ± 0,19 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,50 ± 0,04 <sup>c</sup>	1,72 ± 0,31 <sup>b</sup>	0,93 ± 0,04 <sup>d</sup>
	Suma	12,10 ± 0,20 <sup>a</sup>	17,40 ± 0,40 <sup>b</sup>	22,50 ± 0,30 <sup>c</sup>	3,48 ± 0,19 <sup>d</sup>	3,98 ± 0,22 <sup>e</sup>
Ekat	Vol	6,50 ± 0,20 <sup>a</sup>	84,20 ± 0,10 <sup>b</sup>	25,00 ± 0,20 <sup>c</sup>	58,40 ± 3,60 <sup>d</sup>	42,50 ± 0,50 <sup>e</sup>
	Kon	5,12 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,77 ± 0,18 <sup>b,c</sup>	0,99 ± 0,09 <sup>c</sup>	5,01 ± 0,05 <sup>d</sup>	5,42 ± 0,23 <sup>a</sup>
	Váz	5,74 ± 0,87 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,19 <sup>b</sup>	4,55 ± 0,17 <sup>c</sup>	6,59 ± 0,26 <sup>a</sup>	8,96 ± 0,42 <sup>d</sup>
	Suma	17,36 ± 0,42 <sup>a</sup>	89,02 ± 0,16 <sup>b</sup>	30,54 ± 0,15 <sup>c</sup>	70,00 ± 1,30 <sup>d</sup>	56,88 ± 0,38 <sup>e</sup>

Tabulka 9C: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí s obsahem lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
<i>t-p-kum</i>	Vol	2,51 ± 0,51 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,52 ± 0,19 <sup>c</sup>	2,65 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,35 <sup>d</sup>
	Kon	3,63 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,42 ± 0,12 <sup>b</sup>	8,08 ± 0,27 <sup>c</sup>	4,93 ± 0,08 <sup>d</sup>	4,29 ± 0,52 <sup>e</sup>
	Váz	0,63 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,39 ± 0,05 <sup>b</sup>	9,10 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,71 ± 0,20 <sup>d</sup>	1,15 ± 0,26 <sup>e</sup>
	Suma	6,77 ± 0,20 <sup>a</sup>	3,98 ± 0,08 <sup>b</sup>	20,70 ± 0,20 <sup>c</sup>	10,30 ± 0,20 <sup>d</sup>	6,24 ± 0,38 <sup>e</sup>
Fer	Vol	ND	95,60 ± 0,40 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,32 <sup>b</sup>	0,67 ± 0,11 <sup>c</sup>	0,40 ± 0,08 <sup>d</sup>
	Kon	ND	47,90 ± 0,60 <sup>a</sup>	ND	1,17 ± 0,06 <sup>b</sup>	13,20 ± 0,70 <sup>c</sup>
	Váz	ND	ND	ND	185,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	119,0 ± 0,0 <sup>b</sup>
	Suma	ND	144,00 ± 1,00 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,32 <sup>b</sup>	187,00 ± 2,00 <sup>c</sup>	133,00 ± 0,30 <sup>d</sup>
Sin	Vol	0,84 ± 0,28 <sup>a</sup>	91,90 ± 1,70 <sup>b</sup>	5,64 ± 0,36 <sup>c</sup>	ND	12,00 ± 0,40 <sup>d</sup>
	Kon	2,47 ± 0,50 <sup>a</sup>	1,51 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,83 ± 0,59 <sup>a,c</sup>	3,74 ± 0,45 <sup>c</sup>	10,40 ± 0,30 <sup>d</sup>
	Váz	ND	ND	ND	57,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	25,9 ± 2,9 <sup>b</sup>
	Suma	3,31 ± 0,39 <sup>a</sup>	93,40 ± 0,90 <sup>b</sup>	8,47 ± 0,48 <sup>c</sup>	94,90 ± 1,00 <sup>b</sup>	48,30 ± 1,20 <sup>d</sup>
Ela	Vol	73,70 ± 0,20 <sup>a</sup>	32,30 ± 1,40 <sup>b</sup>	107,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	6,29 ± 0,17 <sup>d</sup>	2,30 ± 0,49 <sup>e</sup>
	Kon	2,54 ± 0,15 <sup>a</sup>	ND	0,62 ± 0,16 <sup>b</sup>	8,18 ± 0,77 <sup>c</sup>	0,64 ± 0,15 <sup>b</sup>
	Váz	ND	ND	3,73 ± 0,18 <sup>a</sup>	ND	ND
	Suma	76,20 ± 0,20 <sup>a</sup>	32,30 ± 1,40 <sup>b</sup>	111,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	14,50 ± 0,50 <sup>d</sup>	2,94 ± 0,32 <sup>e</sup>
Rut	Vol	6,57 ± 0,12 <sup>a</sup>	156,00 ± 1,00 <sup>b</sup>	199,00 ± 2,00 <sup>c</sup>	23,60 ± 0,50 <sup>d</sup>	69,30 ± 0,10 <sup>e</sup>
	Kon	3,10 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,03 <sup>c</sup>	69,40 ± 5,80 <sup>d</sup>	61,00 ± 0,40 <sup>e</sup>
	Váz	ND	ND	ND	8,60 ± 0,71 <sup>a</sup>	11,90 ± 0,40 <sup>b</sup>
	Suma	9,67 ± 0,14 <sup>a</sup>	157,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	200,00 ± 1,00 <sup>c</sup>	102,00 ± 2,00 <sup>d</sup>	142,00 ± 0,00 <sup>e</sup>



Tabulka 9D: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí s obsahem lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
<i>t</i> -2-hSkoř	Vol	0,53 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,44 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,83 ± 0,06 <sup>c</sup>	15,70 ± 0,20 <sup>d</sup>	1,45 ± 0,00 <sup>e</sup>
	Kon	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,00 <sup>c</sup>	1,41 ± 0,18 <sup>d</sup>	0,60 ± 0,10 <sup>e</sup>
	Váz	ND	ND	0,42 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,02 <sup>c</sup>
	Suma	<b>0,62 ± 0,06<sup>a</sup></b>	<b>6,63 ± 0,02<sup>b</sup></b>	<b>7,47 ± 0,02<sup>c</sup></b>	<b>17,30 ± 0,10<sup>d</sup></b>	<b>2,23 ± 0,04<sup>e</sup></b>
EtEs Prot	Vol	3,94 ± 0,13 <sup>a</sup>	91,20 ± 1,00 <sup>b</sup>	98,80 ± 0,10 <sup>c</sup>	7,24 ± 0,24 <sup>d</sup>	31,10 ± 0,10 <sup>e</sup>
	Kon	0,56 ± 0,07 <sup>a</sup>	ND	0,57 ± 0,06 <sup>a</sup>	3,56 ± 0,28 <sup>b</sup>	8,67 ± 0,18 <sup>c</sup>
	Váz	ND	ND	ND	0,59 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,06 <sup>a</sup>
	Suma	<b>4,50 ± 0,10<sup>a</sup></b>	<b>91,20 ± 1,00<sup>b</sup></b>	<b>99,37 ± 0,08<sup>c</sup></b>	<b>11,39 ± 0,21<sup>d</sup></b>	<b>40,41 ± 0,11<sup>e</sup></b>
Resv	Vol	ND	5,19 ± 0,19 <sup>a</sup>	7,38 ± 1,20 <sup>b</sup>	1,60 ± 0,08 <sup>c</sup>	3,11 ± 0,11 <sup>d</sup>
	Kon	ND	0,90 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,88 ± 0,00 <sup>b</sup>	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	ND	<b>6,09 ± 0,17<sup>a</sup></b>	<b>8,13 ± 0,72<sup>b</sup></b>	<b>3,48 ± 0,09<sup>c</sup></b>	<b>3,11 ± 0,11<sup>d</sup></b>
<i>t</i> -skoř	Vol	ND	0,66 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,11 <sup>a</sup>	ND	ND
	Kon	ND	ND	ND	ND	0,30 ± 0,05 <sup>a</sup>
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	ND	<b>0,66 ± 0,06<sup>a</sup></b>	<b>0,83 ± 0,11<sup>a</sup></b>	ND	<b>0,30 ± 0,05<sup>b</sup></b>
Kver	Vol	0,25 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,27 ± 0,33 <sup>b</sup>	3,41 ± 0,16 <sup>b</sup>	2,31 ± 0,55 <sup>c</sup>	0,51 ± 0,07 <sup>d</sup>
	Kon	ND	ND	ND	ND	ND
	Váz	2,09 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,22 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,08 ± 0,21 <sup>c</sup>	ND	ND
	Suma	<b>2,34 ± 0,02<sup>a</sup></b>	<b>5,49 ± 0,18<sup>b</sup></b>	<b>6,49 ± 0,19<sup>c</sup></b>	<b>2,31 ± 0,55<sup>a</sup></b>	<b>0,51 ± 0,07<sup>d</sup></b>

Tabulka 9E: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí s obsahem lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
Kaemp	Vol	ND	ND	ND	$6,81 \pm 0,93^a$	$1,45 \pm 0,31^b$
	Kon	ND	ND	ND	ND	ND
	Váz	$2,18 \pm 0,38^a$	$1,30 \pm 0,08^b$	$17,80 \pm 0,70^c$	$6,23 \pm 0,55^d$	$12,80 \pm 2,90^e$
	Suma	<b><math>2,18 \pm 0,38^a</math></b>	<b><math>1,30 \pm 0,08^b</math></b>	<b><math>17,80 \pm 0,70^c</math></b>	<b><math>13,00 \pm 0,70^d</math></b>	<b><math>14,30 \pm 1,60^e</math></b>

\*Gall – kyselina gallová, 3,4-dhBenz – kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hBenz – kyselina 4-hydroxybenzoová, EGKat – epigallokatechin, Kat – katechin, Van – kyselina vanilová, Chl – kyselina chlorogenová, Káv – kyselina kávová, Syr – kyselina syringová, EKat – epikatechin, *t-p*-kum – kyselina *trans-p*-kumarová, Fer – kyselina ferulová, Sin – kyselina sinapová, Ela – kyselina ellagová, Rut – rutin, *t-2*-hSkoř – kyselina *trans-2*-hydroxyskořicová, EtEs Prot – etylester kyseliny protokatechové, Resv – resveratrol, *t*-skoř – kyselina *trans*-skořicová, Kver – kvercetin, Kaemp – kaempferol

ND (Not Detected) – neurčeno

Vol – volné, Kon – konjugované, Váz – vázané

Hodnoty v řádcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

U bezpečnostního vzorku č. 1, kde hlavními surovinami byly rýže, pohanka a jáhly, se v nejvyšším množství dle tabulky č. 9 vyskytovala kyselina 3,4-dihydroxybenzoová s  $149,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Vysoké hodnoty koncentrací byly také zaznamenány u rutinu či kyseliny ferulové. V tomto vzorku nebyly detekovány kyselina sinapová, kvercetin a kyselina *trans*-skořicová.

U vzorku č. 2, jehož hlavními složkami jsou rýže, pohanka, jáhly a amarant, byl detekován také nejvyšší obsah kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové ( $260,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Vysoké hodnoty koncentrací byly však zaznamenány také u kyseliny gallové, epigallokatechinu, kyseliny ferulové a ellagové. V tomto případě nebyly zaznamenány žádné polyfenolické látky, které by nebyly detekovány.

Vzorek č. 3 s hlavními složkami rýží, pohankou, jáhlami a amarantem vykazoval stejně jako předešlé vzorky nejvyšší obsah kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové ( $226,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Vyšší koncentrace byly naměřeny také u kyseliny gallové, epigallokatechinu a rutinu. V tomto vzorku nebyla kyselina chlorogenová, *trans*-skořicová a kvercetin.

U vzorku č. 4, který obsahoval jako hlavní suroviny rýži, pohanku, jáhly a quinou, byla zaznamenána nejvyšší koncentrace také u kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové ( $232,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Vyšší koncentrace byly naměřeny také u epigallokatechinu a kyseliny gallové, naopak nebyla detekována kyselina *trans*-skořicová a kvercetin, jako u předešlého vzorku.

Ve vzorku č. 5 v bezlepkových směsích byly naměřeny vyšší koncentrace kyseliny ellagové ( $109,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Vyšší hodnoty byly také naměřeny u epigallokatechinu, katechinu, nebo kyseliny vanilové. Nedetekována byla pouze kyselina *trans*-skořicová.

Tabulka 10A: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
Gall	Vol	$3,82 \pm 0,36^a$	$44,90 \pm 0,10^b$	$39,20 \pm 0,30^c$	$43,90 \pm 0,50^d$	$6,83 \pm 0,23^e$
	Kon	$9,14 \pm 0,09^a$	$80,10 \pm 0,10^b$	$77,30 \pm 0,10^c$	$140,00 \pm 0,10^d$	$6,62 \pm 0,03^e$
	Váz	$1,11 \pm 0,14^a$	$36,70 \pm 0,60^b$	$38,30 \pm 0,40^c$	$3,44 \pm 0,06^d$	$1,75 \pm 0,02^e$
	Suma	<b><math>14,07 \pm 0,20^a</math></b>	<b><math>161,70 \pm 0,27^b</math></b>	<b><math>154,80 \pm 0,27^c</math></b>	<b><math>187,34 \pm 0,22^d</math></b>	<b><math>15,20 \pm 0,09^e</math></b>
3,4- dhBenz	Vol	$37,50 \pm 0,40^a$	$147,00 \pm 1,00^b$	$60,50 \pm 0,70^c$	$85,60 \pm 2,30^d$	$33,90 \pm 0,40^e$
	Kon	$93,40 \pm 0,50^a$	$89,50 \pm 0,90^b$	$131,00 \pm 1,00^c$	$117,00 \pm 0,01^d$	$46,90 \pm 0,20^e$
	Váz	$17,80 \pm 1,10^a$	$23,10 \pm 0,10^b$	$34,10 \pm 0,20^c$	$29,20 \pm 0,20^d$	$1,14 \pm 0,05^e$
	Suma	<b><math>148,70 \pm 0,67^a</math></b>	<b><math>259,60 \pm 0,67^b</math></b>	<b><math>225,60 \pm 0,63^c</math></b>	<b><math>231,80 \pm 0,84^d</math></b>	<b><math>81,94 \pm 0,22^e</math></b>
4-hBenz	Vol	ND	$8,18 \pm 0,30^a$	$5,52 \pm 0,30^b$	$3,20 \pm 0,10^c$	$1,27 \pm 0,02^d$
	Kon	$5,57 \pm 0,18^a$	$3,89 \pm 0,10^b$	$5,93 \pm 0,44^a$	$2,66 \pm 0,05^c$	$0,60 \pm 0,06^d$
	Váz	ND	$1,77 \pm 0,01^a$	$2,97 \pm 0,02^b$	$0,35 \pm 0,04^c$	ND
	Suma	<b><math>5,57 \pm 0,18^a</math></b>	<b><math>13,80 \pm 0,10^b</math></b>	<b><math>14,40 \pm 0,30^c</math></b>	<b><math>6,21 \pm 0,06^d</math></b>	<b><math>1,87 \pm 0,04^e</math></b>
EGKat	Vol	$11,20 \pm 2,60^a$	$137,00 \pm 11,0^b$	$78,80 \pm 2,20^c$	$176,00 \pm 6,00^d$	$14,90 \pm 1,00^e$
	Kon	$19,20 \pm 1,20^a$	$18,40 \pm 0,60^b$	$17,80 \pm 0,10^c$	$16,50 \pm 0,10^d$	$28,90 \pm 0,90^e$
	Váz	$9,88 \pm 0,28^a$	$12,40 \pm 0,20^b$	$10,70 \pm 0,18^c$	$12,20 \pm 0,40^b$	$56,20 \pm 3,60^d$
	Suma	<b><math>40,28 \pm 1,36^a</math></b>	<b><math>167,80 \pm 3,93^b</math></b>	<b><math>107,30 \pm 0,83^c</math></b>	<b><math>204,70 \pm 2,17^d</math></b>	<b><math>100,00 \pm 1,83^e</math></b>
Kat	Vol	$5,62 \pm 0,05^a$	$15,20 \pm 0,10^b$	$19,60 \pm 0,50^c$	$21,00 \pm 0,30^d$	$1,48 \pm 0,19^e$
	Kon	$8,10 \pm 0,50^a$	$7,77 \pm 0,02^b$	$12,00 \pm 0,20^c$	$8,84 \pm 0,29^a$	$38,90 \pm 0,10^d$
	Váz	$11,00 \pm 0,60^a$	$9,80 \pm 0,42^b$	$12,40 \pm 0,70^c$	$13,50 \pm 0,20^d$	$1,63 \pm 0,14^e$
	Suma	<b><math>24,72 \pm 0,38^a</math></b>	<b><math>32,77 \pm 0,18^b</math></b>	<b><math>44,00 \pm 0,47^c</math></b>	<b><math>43,34 \pm 0,26^d</math></b>	<b><math>42,01 \pm 0,14^e</math></b>

Tabulka 10B: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
Van	Vol	10,20 ± 0,30 <sup>a</sup>	7,47 ± 0,27 <sup>b</sup>	18,00 ± 0,10 <sup>c</sup>	21,30 ± 0,20 <sup>d</sup>	13,80 ± 0,60 <sup>e</sup>
	Kon	0,91 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,14 <sup>b</sup>	2,21 ± 0,00 <sup>c</sup>	3,61 ± 0,17 <sup>d</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>e</sup>
	Váz	ND	ND	ND	ND	5,66 ± 0,26 <sup>a</sup>
	Suma	11,10 ± 0,20 <sup>a</sup>	8,90 ± 0,20 <sup>b</sup>	20,20 ± 0,10 <sup>c</sup>	24,90 ± 0,20 <sup>d</sup>	66,50 ± 0,30 <sup>e</sup>
Chl	Vol	1,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,59 ± 0,12 <sup>b</sup>	ND	0,52 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,67 ± 0,13 <sup>b</sup>
	Kon	ND	11,00 ± 0,10 <sup>a</sup>	ND	5,68 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,63 ± 0,13 <sup>c</sup>
	Váz	ND	ND	ND	ND	4,04 ± 0,01 <sup>a</sup>
	Suma	1,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	12,60 ± 0,10 <sup>b</sup>	0	6,20 ± 0,07 <sup>c</sup>	7,34 ± 0,09 <sup>d</sup>
Káv	Vol	1,64 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,36 ± 0,02 <sup>b</sup>	5,67 ± 0,13 <sup>c</sup>	4,48 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,52 ± 0,09 <sup>d</sup>
	Kon	2,23 ± 0,16 <sup>a</sup>	3,12 ± 0,11 <sup>b</sup>	2,46 ± 0,00 <sup>c</sup>	5,92 ± 0,30 <sup>d</sup>	1,79 ± 0,08 <sup>e</sup>
	Váz	0,49 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,07 <sup>b,c</sup>	0,50 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,88 ± 0,22 <sup>c</sup>	4,26 ± 0,04 <sup>d</sup>
	Suma	4,36 ± 0,10 <sup>a</sup>	8,23 ± 0,07 <sup>b</sup>	8,63 ± 0,07 <sup>c</sup>	11,30 ± 0,20 <sup>d</sup>	7,57 ± 0,07 <sup>e</sup>
Syr	Vol	ND	0,19 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,03 <sup>c</sup>	2,07 ± 0,08 <sup>d</sup>
	Kon	0,54 ± 0,16 <sup>a,c</sup>	0,47 ± 0,11 <sup>a,e</sup>	0,27 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,08 <sup>c,e</sup>	0,81 ± 0,04 <sup>d</sup>
	Váz	ND	ND	ND	ND	0,50 ± 0,04 <sup>a</sup>
	Suma	0,54 ± 0,16 <sup>a,b</sup>	0,66 ± 0,06 <sup>a,c</sup>	0,50 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,72 ± 0,06 <sup>c</sup>	3,38 ± 0,05 <sup>c</sup>
Ekat	Vol	2,28 ± 0,09 <sup>a</sup>	17,50 ± 0,00 <sup>b</sup>	17,40 ± 0,90 <sup>b</sup>	11,60 ± 1,10 <sup>c</sup>	24,20 ± 1,00 <sup>d</sup>
	Kon	4,73 ± 0,22 <sup>a</sup>	2,90 ± 0,09 <sup>b</sup>	5,81 ± 0,63 <sup>c</sup>	7,65 ± 0,80 <sup>d</sup>	ND
	Váz	4,76 ± 1,38 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND
	Suma	11,77 ± 0,56 <sup>a</sup>	20,40 ± 0,45 <sup>b</sup>	23,21 ± 0,77 <sup>c</sup>	19,23 ± 0,95 <sup>d</sup>	24,20 ± 1,00 <sup>e</sup>

Tabulka 10C: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
<i>t-p-kum</i>	<b>Vol</b>	0,06 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,11 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,59 ± 0,02 <sup>e</sup>
	<b>Kon</b>	ND	0,19 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,04 <sup>c</sup>	ND
	<b>Váz</b>	ND	ND	ND	ND	ND
	<b>Suma</b>	<b>0,06 ± 0,00<sup>a</sup></b>	<b>0,29 ± 0,05<sup>b</sup></b>	<b>0,48 ± 0,04<sup>c</sup></b>	<b>0,57 ± 0,03<sup>d</sup></b>	<b>0,59 ± 0,02<sup>e</sup></b>
<b>Fer</b>	<b>Vol</b>	11,80 ± 0,00 <sup>a</sup>	56,80 ± 0,70 <sup>b</sup>	1,06 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,38 ± 0,26 <sup>d</sup>	0,77 ± 0,35 <sup>e</sup>
	<b>Kon</b>	66,90 ± 0,20 <sup>a</sup>	66,30 ± 0,20 <sup>b</sup>	3,47 ± 0,05 <sup>c</sup>	8,43 ± 0,07 <sup>d</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>e</sup>
	<b>Váz</b>	0,59 ± 0,17 <sup>a</sup>	36,50 ± 0,20 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,00 <sup>c</sup>	ND
	<b>Suma</b>	<b>79,30 ± 0,10<sup>a</sup></b>	<b>160,00 ± 0,00<sup>b</sup></b>	<b>5,22 ± 0,05<sup>c</sup></b>	<b>10,30 ± 0,10<sup>d</sup></b>	<b>0,97 ± 0,28<sup>e</sup></b>
<b>Sin</b>	<b>Vol</b>	ND	14,90 ± 0,40 <sup>a</sup>	5,70 ± 0,05 <sup>b</sup>	8,04 ± 1,06 <sup>c</sup>	0,52 ± 0,00 <sup>d</sup>
	<b>Kon</b>	ND	0,67 ± 0,00 <sup>a</sup>	ND	0,99 ± 0,19 <sup>b</sup>	2,25 ± 0,07 <sup>c</sup>
	<b>Váz</b>	ND	ND	ND	ND	ND
	<b>Suma</b>	<b>0</b>	<b>15,60 ± 0,20<sup>a</sup></b>	<b>5,70 ± 0,05<sup>b</sup></b>	<b>9,03 ± 0,63<sup>c</sup></b>	<b>2,77 ± 0,35<sup>d</sup></b>
<b>Ela</b>	<b>Vol</b>	8,44 ± 1,13 <sup>a</sup>	65,40 ± 1,00 <sup>b</sup>	41,00 ± 0,90 <sup>c</sup>	35,20 ± 1,30 <sup>d</sup>	93,20 ± 0,90 <sup>e</sup>
	<b>Kon</b>	ND	70,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	30,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	26,7 ± 2,5 <sup>c</sup>	12,5 ± 0,4 <sup>d</sup>
	<b>Váz</b>	ND	ND	ND	1,74 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,31 ± 0,06 <sup>b</sup>
	<b>Suma</b>	<b>8,44 ± 1,13<sup>a</sup></b>	<b>136,00 ± 1,00<sup>b</sup></b>	<b>71,50 ± 1,00<sup>c</sup></b>	<b>63,60 ± 1,40<sup>d</sup></b>	<b>109,00 ± 1,00<sup>e</sup></b>
<b>Rut</b>	<b>Vol</b>	78,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	14,30 ± 2,00 <sup>b</sup>	50,10 ± 0,70 <sup>c</sup>	12,60 ± 1,40 <sup>d</sup>	13,00 ± 0,50 <sup>d</sup>
	<b>Kon</b>	38,40 ± 0,50 <sup>a</sup>	51,80 ± 0,30 <sup>b</sup>	33,80 ± 0,70 <sup>c</sup>	42,80 ± 0,10 <sup>d</sup>	2,53 ± 0,06 <sup>e</sup>
	<b>Váz</b>	ND	ND	ND	ND	3,68 ± 0,24 <sup>a</sup>
	<b>Suma</b>	<b>117,0 ± 0,0<sup>a</sup></b>	<b>66,10 ± 1,15<sup>b</sup></b>	<b>83,90 ± 0,70<sup>c</sup></b>	<b>55,40 ± 0,75<sup>d</sup></b>	<b>19,21 ± 0,27<sup>e</sup></b>

Tabulka 10D: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 2 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 3 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 4 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	Vzorek 5 [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]
<i>t</i> -2-hSkoř	Vol	0,21 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,05 ± 0,20 <sup>b</sup>	6,17 ± 0,06 <sup>c</sup>	5,33 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,01 ± 0,12 <sup>e</sup>
	Kon	ND	0,33 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,16 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,08 ± 0,02 <sup>d</sup>
	Váz	ND	ND	0,51 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,02 <sup>b</sup>	ND
	Suma	0,21 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,38 ± 0,01 <sup>b</sup>	7,16 ± 0,05 <sup>c</sup>	5,75 ± 0,03 <sup>d</sup>	2,09 ± 0,15 <sup>e</sup>
EtEs Prot	Vol	ND	29,80 ± 0,10 <sup>a</sup>	24,70 ± 0,00 <sup>b</sup>	18,60 ± 0,60 <sup>c</sup>	3,32 ± 0,00 <sup>d</sup>
	Kon	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>	20,10 ± 0,50 <sup>b</sup>	21,00 ± 0,10 <sup>c</sup>	8,37 ± 0,09 <sup>d</sup>	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	0,32 ± 0,01 <sup>a</sup>	49,90 ± 0,20 <sup>b</sup>	45,70 ± 0,10 <sup>c</sup>	27,00 ± 0,30 <sup>d</sup>	3,32 ± 0,00 <sup>e</sup>
Resv	Vol	4,28 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,77 ± 0,13 <sup>b</sup>	1,59 ± 0,41 <sup>c</sup>	4,23 ± 0,28 <sup>a</sup>	11,10 ± 0,50 <sup>d</sup>
	Kon	ND	1,75 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,32 <sup>a</sup>	0,89 ± 0,33 <sup>b</sup>	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	4,28 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,52 ± 0,15 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,37 <sup>c</sup>	5,12 ± 0,31 <sup>d</sup>	11,10 ± 0,50 <sup>e</sup>
<i>t</i> -skoř	Vol	ND	0,73 ± 0,16 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
	Kon	ND	ND	ND	ND	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	ND
	Suma	0	0,73 ± 0,16 <sup>a</sup>	0	0	0
Kver	Vol	ND	1,93 ± 0,23 <sup>a</sup>	ND	ND	1,56 ± 0,32 <sup>b</sup>
	Kon	ND	ND	ND	ND	ND
	Váz	ND	ND	ND	ND	2,00 ± 0,06 <sup>a</sup>
	Suma	0	1,93 ± 0,23 <sup>a</sup>	0	0	3,56 ± 0,19 <sup>b</sup>

Tabulka 10E: Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku

Standard	Frakce	Vzorek 1 [μg·g <sup>-1</sup> ]	Vzorek 2 [μg·g <sup>-1</sup> ]	Vzorek 3 [μg·g <sup>-1</sup> ]	Vzorek 4 [μg·g <sup>-1</sup> ]	Vzorek 5 [μg·g <sup>-1</sup> ]
Kaemp	Vol	2,24 ± 0,45 <sup>a</sup>	2,79 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,79 ± 1,12 <sup>b</sup>	6,81 ± 0,93 <sup>d</sup>	1,45 ± 0,31 <sup>e</sup>
	Kon	ND	ND	ND	ND	ND
	Váz	10,80 ± 0,20 <sup>a</sup>	ND	ND	6,23 ± 0,55 <sup>b</sup>	1,76 ± 0,47 <sup>c</sup>
	Suma	13,00 ± 0,30 <sup>a</sup>	2,79 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,79 ± 1,12 <sup>b</sup>	13,00 ± 0,70 <sup>a</sup>	3,21 ± 0,39 <sup>c</sup>

\*Gall – kyselina gallová, 3,4-dhBenz – kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hBenz – kyselina 4-hydroxybenzoová, EGKat – epigallokatechin, Kat – katechin, Van – kyselina vanilová, Chl – kyselina chlorogenová, Káv – kyselina kávová, Syr – kyselina syringová, EKat – epikatechin, *t-p*-kum – kyselina *trans-p*-kumarová, Fer – kyselina ferulová, Sin – kyselina sinapová, Ela – kyselina ellagová, Rut – rutin, *t-2*-hSkoř – kyselina *trans-2*-hydroxyskořicová, EtEs Prot – etylester kyseliny protokatechové, Resv – resveratrol, *t*-skoř – kyselina *trans*-skořicová, Kver – kvercetin, Kaemp – kaempferol

ND (Not Detected) – neurčeno

Vol – volné, Kon – konjugované, Váz – vázané

Hodnoty v řádcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $P \geq 0,05$ ). Hodnoty ve sloupcích, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $P < 0,05$ ).

Pokud bychom porovnali zvlášť lepkové a bezlepkové vzorky jednotlivých müsli směsí, tak na základě tabulek č. 9 a 10 můžeme říct, že v případě lepkových směsí se nejvíce vyskytoval rutin jako zástupce flavonoidů, kyselina ellagová a gallová, které patří mezi deriváty kyseliny hydroxybenzoové a kyselina ferulová, jako zástupce derivátů kyseliny hydroxyskořicové. U tří z pěti lepkových vzorků však nebyla zaznamenána přítomnost epigallokatechinu.

U bezlepkových vzorků se však výsledky tolik nelišily a ve většině případů byla nejvíce převažující detekovanou látkou kyselina 3,4-dihydroxybenzoová. Naopak mezi nejčastějšími nedetekovanými látkami byly ve většině případů kyselina *trans*-skořicová a kvercetin.



## ZÁVĚR

Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu a srovnání müsli směsí bezlepkových a s obsahem lepku, jejichž součástí byly jak konvenční, tak netradiční druhy obilovin, ovoce, skořápkové plody a jedlé květy. Na základě těchto směsí byly získány volné, konjugované a vázané frakce polyfenolických látek, pomocí kterých bylo možno stanovit obsah celkových polyfenolů, antioxidační aktivitu a profil polyfenolických látek.

Teoretická část pojednává o stručné charakteristice polyfenolů a možnostech jejich stanovení, následně také o popisu a chemickém složení jednotlivých komponent müsli směsí. Obsahem praktické části je především postup jednotlivých metodik, a sice extrakce polyfenolických látek na dílčí frakce, stanovení antioxidační aktivity a profilu polyfenolů. Hlavní součástí diskuze jsou veškeré naměřené výsledky, které byly také porovnávány s příslušnými studiemi. Vzhledem k unikátnosti analyzovaných müsli směsí však nebylo možno tyto vzorky porovnávat ve všech směrech. Podle celkového posouzení bylo zjištěno, že nejvíce vyskytovanými polyfenolickými látkami v těchto směsích byly rutin, kyseliny gallová, ellagová, ferulová, či 3,4-dihydroxybenzoová. Na základě této analýzy lze také usoudit, že směsi bezlepkové i s obsahem lepku byly velmi bohaté na polyfenolické látky. Nejvyšší podíl lze ze všech komponent připisat právě ovoci, které jak je všeobecně známo, má vysoký obsah antioxidantů.

Pozitivní věcí by se mohlo zdát, kdyby tato práce mohla v budoucnu posloužit jako nápomocná při dalších vědeckých studiích zaměřených na nutriční analýzu müsli. Hlavně netradiční bezlepkové obiloviny a jedlé květy, by mohly mít v budoucnu mnohem větší potenciál, a to nejen pro lidi trpící celiakií či jinou intolerancí na potravinové složky. Lze konstatovat, že nové modelové směsi by mohly být vhodnou součástí potravy také pro lidi, kteří vyznávají zdravý životní styl a chtějí se zkrátka cítit dobře.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

ARENDDT, Elke K. and Emanuele ZANNINI. *Cereal grains for the food and beverage industries*. Oxford: Woodhead Pub., 2013, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. ISBN 978-0-85709-413-1.

ATTARD, Emerald. A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols. *Central European Journal of Biology* [online]. January 2013, vol. 8, no. 1, 48–53. [cit. 2018-01-29]. ISSN 1644-3632. Dostupné z doi: 10.2478/s11535-012-0107-3

BERK, Zeki. Freeze drying (lyophilization) and freeze concentration. *Food Process Engineering and Technology (Third Edition): A volume in Food Science and Technology* [online]. Department of Biotechnology and Food Engineering, Israel Institute of Technology, Israel, 2018, **February 2018** (Chapter 23), 567-581 [cit. 2018-04-04]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/B978-0-12-812018-7.00023-3>. Dostupné z:

<https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B9780128120187000233>  
BELTON, P.S; TAYLOR, John Reginald Nuttall. Pseudocereals and Less Common Cereals: *Grain Properties and Utilization Potential*, 2010. ISBN 978-3-64207-691-6.

BLAINSKI, Andrea, Gisely Cristiny LOPES a Joao Carlos Palazzo DE MELLO. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from limonium brasiliense L. *Molecules* [online]. MDPI, 2013, 18(6), 6852-6865 [cit. 2018-04-04]. Dostupné z DOI: 10.3390/molecules18066852. ISSN 14203049.

COLLAR, C. Quinoa. *Reference Module in Food Science: Encyclopedia of Food and Health* [online]. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), 2015, **2016** (September), 573-579 [cit. 2018-04-03]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/B978-0-12-384947-2.00583-3>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B9780123849472005833>

FIC, Vlastimil. *Vino: analýza, technologie, gastronomie*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA, 2015, 299 s. ISBN 978-80-86380-77-3.

FRATIANNI, Florinda, Maria Neve OMBRA, Antonio D'ACIERNO, Luigi CIPRIANO a Filomena NAZZARO. Apricots: biochemistry and functional properties. *Current Opinion in Food Science* [online]. Institute of Food Science, Italy, 2018, February 2018, **2018** (Volume 19), 23-29 [cit. 2018-04-04]. DOI: <https://doi->

org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.cofs.2017.12.006. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S2214799317301789?via%3Dihub>

GRYGARČÍKOVÁ, Jana. *Stanovení polyfenolů v netradičních obilovinách Folin-Ciocalteuovou metodou*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 81 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/25076>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin.

HAMR, Karel. Rýže – druhy rýže, a její jakost. *Výživa a potraviny: časopis Společnosti pro výživu. Výživa servis s. r. o.*, 2008, roč. 63, č. 3, s. 76-79. ISBN 1211- 846X.

HELENO, A. Sandrina a Anabela MARTINS, Maria Joao R.P. QUEIROZ, Isabel C.F.R. FERREIRA. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry* [online]. Elsevier Sci, 2015, 173, 501-503 [cit. 2018-04-04]. ISSN 03088146. Dostupné z doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.057

HPLC. *Wikipedie: Otevřená encyklopedie* [online]. [cit. 2018-04-21]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/HPLC#/media/File:Preparative\\_HPLC.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/HPLC#/media/File:Preparative_HPLC.svg)

JANČOVÁ, Veronika. *Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH u netradičních obilovin*. Zlín, 2013. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta. Vedoucí práce Doc. Ing. et Bc. Daniela Sumczynski, Ph.D.

JAROŠOVÁ, J., MICHALOVÁ, A., VAVREINOVÁ, S., MOUDRÝ, J. *Pěstování a využití amarantu*. Praha, ÚZPI 1999, s. 37, ISBN 80-7271-042-7.

KOPÁČOVÁ, Olga. Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům [online]. Praha: ÚZPI, 2007, 55 s. [cit. 2017-03-11]. ISBN 978-80- 7271-184-0. Dostupné z: [http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kopov\\_Cerelie%20web.pdf](http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kopov_Cerelie%20web.pdf)

KOPEC, Karel. *Zelenina ve výživě člověka*. Grada, Praha 2010. ISBN 978-80-247-2845-2.

KOTÁSKOVÁ, Eva. *Stanovení polyfenolů, flavonoidů a studie antioxidační aktivity u směsi mouk miličky habešské* [online]. Zlín, 2014. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií*, Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. ISBN 978-80-7157-811-6.

KUMAR, Neeraj a Pamita Bhandari, Bikram SINGH, Ajai P GUPTA a Vijay K KAUL. Reversed phase-HPLC for rapid determination of polyphenols in flowers of rose species.

*Journal of Separation Science* [online]. Wiley-v C H Verlag, 2008, 31(2), 262-267 [cit. 2018-04-04]. ISSN 16159306. Dostupné z doi: 10.1002/jssc.200700372.

LU, Yuyun, B.N. PEKERTI, Z.S. TOH, F. BROOM, G. SAVAGE, S.Q. LIU a D. HUANG. Physico-chemical parameters and proanthocyanidin profiles of cranberries cultivated in New Zealand. *Journal of Food Composition and Analysis*[online]. 2017, **October 2017**(Volume 63), 1-7 [cit. 2018-04-04]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.jfca.2017.07.002>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0889157517301564>

MAKAHLEH, A., B. SAAD a M.F. BARI. Synthetic phenolics as antioxidants for food preservation. *Handbook of antioxidants for food preservation* [online]. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK, 2015, 2015, March 2015, 51-78[cit. 2018-04-03]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/B978-1-78242-089-7.00003-8>.

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, vol. 79, pp. 727 – 747.

MAREŠOVÁ, Pavlína. *Stanovení flavonoidů v obilovinách spektrofotometricky*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 78 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/23972>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav analýzy a chemie potravin.

MÉNDEZ-LAGUNAS, Lilia, Juan RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, Marlene CRUZ-GRACIDA, Sadoth SANDOVAL-TORRES a Bernardo BARRIADA-BERNAL. Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chemistry* [online]. 2017, **September 2017**(Volume 230), 174-181 [cit. 2018-04-23]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.foodchem.2017.03.010>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814617303722>

MICHÁLKOVÁ, Jitka. *Stanovení polyfenolických látek ve vybraných potravinách*. Zlín, 2011. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

MILBURY, Paul E, Chung-Yen CHEN, Gregory G DILNIKOWSKI a Jeffrey B BLUMBERG. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. Amer Chemical Soc, 2006,

54(14), 5027-5033 [cit. 2018-03-04]. Dostupné z DOI: 10.1021/jf0603937. ISSN 00218561.

MLČEK, Jiří. Význam a hodnota jedlých květů ve výživě člověka. *Nové smery vo výžive a v životnom štýle l'udi*. Univerzita Konštantína Filozofa V Nitre, 2014.

NACZK, Marian a Fereidoon SHAHIDI. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2006, 5 (41). ISSN 0731-7085 [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708506003062>

NEUGEBAUEROVÁ, J. a J. VÁBKOVÁ. Jedlé květy součástí food stylingu. *Zahradnictví*, 2009. ISSN 1213-7596.

NISAR, Ahmad Mir, Charanjit SINGH RIAR a Sukhcharn SINGH. Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends in Food Science and Technology* [online]. 2018, May 2018, **2018**(volume 75), 170-180 [cit. 2018-04-02]. Dostupné z DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.tifs.2018.03.016>.

ORTEMBERGOVÁ, Adriana. *Mládne s antioxidanty*. Vyd. 1. Překlad Jana Mikuláštková. Praha: Ivo Železný, 2003, s. 126. Knížky dostupné každému. ISBN 80-237-3742-2.

OSMITZ, T.G., FRANZOSA, J.A., MACIVER, D.R., MAIBACH, H.I. Pyrethrum allergic contact dermatitis in humans – Real common, or not documented? An evidence – based approach, *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 2006, vol. 25 (4), 287-308 [cit. 2018-04-09]. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1080/15569520601183880>.

PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické Listy*. Biochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy university, 2004, **2004**(98), 174-179.

PELIKÁN, Miloš. Obiloviny jako funkční potravina. *Potravinářská revue*. 2005, 2005(4), 13-15.

Pohanka obecná. *Naše výživa* [online]. [cit. 2018-04-21]. Dostupné z: <http://www.nasevyziva.cz/sekce-obiloviny/clanek-pohanka-obecna-239.html>

Pšenice jednozrnka Bio. *ASO: Zdravý život* [online]. [cit. 2018-04-21]. Dostupné z: <http://www.aso-online.cz/psenice-jednozrnka>

Růži do salátu, měsíček do rýže. Na talíře se vracejí jedlé květy. *Ekolist.cz* [online]. [cit. 2018-04-21]. Dostupné z: <https://ekolist.cz/cz/zelena-domacnost/rady-a-navody/jedle-kvety-mohou-byt-zajimavym-doplnekem-pokrmu>

SHAHIDI, Fereidoon a Marian NACZK. Phenolics in food and nutraceuticals [online]. Boca Raton: CRC Press, 2003. ISBN 978-1-58716-138-4 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com.proxy.k.utb.cz/isbn/978-1-58716-138-4>

SHAHIDI, Fereidoon a Priyatharini AMBIGAIPALAN. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* [online]. Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, Canada, 2015. October 2015 (Volume 18, part B), Pages 820-897 [cit. 2018-02-04]. Dostupné z doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.

SHEN, Yun, Liang JIN, Peng XIAO, Yan LU, a Jinson BAO. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight, *Journal of Cereal Science* [online]. Elsevier, 2009, 49 (1), 106 – 111 [cit. 2018-02-04]. Dostupné z DOI: 10.1016/j.jcs.2008.07.010. ISSN 07335210.

SEGER, Christoph, Sonja STURM a Hermann STUPPNER. Mass spectrometry and NMR spectroscopy: modern high-end detectors for high resolution separation techniques – state of the art in natural product HPLC-MS, HPLC-NMR, and CE-MS hyphenations. *Natural Product Reports* [online]. 2013, June 2013 (30), 970-987 [cit. 2018-03-14]. DOI: 10.1039/C3NP70015A. Dostupné z: <http://pubs.rsc.org.proxy.k.utb.cz/en/Content/ArticleLanding/2013/NP/c3np70015a#!divAbstract>

SNYDER, Lloyd R., J. J. Kirkland a Joseph L., GLAJCH. *Practical HPLC method development*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1997, s. 765. ISBN 0-471-00703-6.

SUMCZYNSKI, Daniela, Eva KOUBOVÁ, Jan SNEYD, Susanne ERB-WEBER a Jana ORSAVOVÁ. Preparation of non-traditional Dickkopf and Richard wheat flakes: Phenolic and vitamin profiles and antioxidant activity. *LWT* [online]. 2017, **April 2018**(Volume 20), 31-37 [cit. 2018-04-15]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.lwt.2017.12.004>. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0023643817308836>

SUMCZYNSKI, Daniela, Zuzana BUBELOVÁ, Jan SNEYD, Susanne ERB-WEBER a Jiří MLČEK. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility

in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chemistry* [online]. 2015, **May 2015**(Volume 174), 319-325 [cit. 2018-04-03]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.foodchem.2014.11.065>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814614017944>

SUN, L., HY JIN, RT TIAN, MJ WANG, LN LIU, LP YE, TT ZUO a SC MA. Simple method for HPLC retention time prediction. *Chinese Medicine* [online]. Biomed Central, 2017, 12(1) [cit. 2018-04-04]. Dostupné z DOI: 10.1186/s13020-017-0137-x. ISSN 17498546.

SWARTZ, Michael. HPLC DETECTORS. *Journal of Liquid Chromatography* [online]. Taylor, 2010, 33(9-12), 1130-1150 [cit. 2018-04-04]. Dostupné z DOI: 10.1080/10826076.2010.484356. ISSN 10826076.

ŠNAJDROVÁ, Zuzana. *Nutriční charakteristika skořápkového ovoce a jeho využití v gastronomii*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2012, 55 s. (55 864). Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/23360>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav analýzy a chemie potravin. Vedoucí práce Vojtíšková, Petra.

TAYLOR, J.R.N. a J. KRUGER. Millets. *Reference Module in Food Science: Encyclopedia of Food and Health* [online]. University of Pretoria, Hatfield, South Africa, 2015, **2016**(September), 748-757 [cit. 2018-04-03]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/B978-0-12-384947-2.00466-9>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B9780123849472004669>

TEREFE, N.S., K. MATTHIES, L. SIMONS a C. VERSTEEG. Combined high pressure-mild temperature processing for optimal retention of physical and nutritional quality of strawberries (*Fragaria × ananassa*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [online]. 2009, **July 2009**(Volume 10), 297-307 [cit. 2018-04-04]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.ifset.2008.12.003>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1466856408001276>

V AŠÍČEK, Ondřej. *Využití metod kapalinové chromatografie k separaci oligonukleotidů modifikovaných genotoxickými látkami*. Brno, 2007. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta.

VELÍŠEK, Jan. *The chemistry of food*. Chichester, West Sussex: John Wiley, 2014, s.1113. ISBN 978-1-118-38384-1.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 333/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta, v platném znění.

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

YAN, Yan, Qianqian ZHANG a Fang FENG. HPLC–TOF-MS and HPLC–MS/MS combined with multivariate analysis for the characterization and discrimination of phenolic profiles in nonfumigated and sulfur-fumigated rhubarb. *Journal of Separation Science* [online]. 2016, (Volume 39, 14), 2667–2677 [cit. 2018-03-14]. DOI: 10.1002/jssc.201501382. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com.proxy.k.utb.cz/doi/10.1002/jssc.201501382/full>

ZHANG, Qiuqin, Xin RUI, Wei LI, X. CHEN, Mei JIANG a M. DONG. Anti-swarming and -biofilm activities of rose phenolic extract during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Control* [online]. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, China, 2015, **64**, June 2016,(June 2016.), 189-195 [cit. 2018-04-15]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.foodcont.2015.12.030>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0956713515303431>

ZHEN, Jing, Thomas S. VILLANI, Yue GUO, Yadong QI, Min-Hsiung PAN, Chi-Tang HO, James E. SIMON a Qingli WU. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry* [online]. 2016, **January 2016**(Volume 190), 673-680 [cit. 2018-04-23]. DOI: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814615008845>

Amaranth Seeds. *Arizona Wild Flowers* [online]. [cit. 2018-04-21]. Dostupné z: <https://delange.org/Amaranth/Amaranth.htm>



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AOA	Antioxidant aktivity - Antioxidační aktivita
DAD	Diode Array Detector – Detektor diodového pole
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
ECD	Electrochemical Detector – Elektrochemický detektor
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
HPLC	Vysokotlaká kapalinová chromatografie
LLC	Kapalinový rozdělovací systém
LSC	Kapalinový adsorpční systém
MS	Mass Spectrometry – Hmotnostní spektrometr
TPC	Total Phenolic Content - Celkový obsah polyfenolů

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1: <i>Dělení polyfenolů do jednotlivých podskupin (Shahidi and Ambigaipalan, 2015)</i> .....	14
Obr. 2: <i>Přehled dělení flavonoidů do podskupin (Shahidi and Ambigaipalan, 2015)</i> .....	16
Obr. 3: <i>Schéma kapalinového chromatografu (www.wikipedia.com)</i> .....	19
Obr. 4: <i>Pšenice jednozrnka (http://www.aso-online.cz/psenice-jednozrnka)</i> .....	23
Obr. 5: <i>Zrno amarantu (https://delange.org/Amaranth/Amaranth.htm)</i> .....	24
Obr. 6: <i>Zrno pohanky (http://www.nasevyziva.cz/sekce-obiloviny/clanek-pohanka-obecna-239.html)</i> .....	24
Obr. 7: <i>Zeleninový salát s pampeliškami, sedmikráskami a lístky růží (www.ekolist.cz)</i> .....	26
Obr. 8: <i>Příprava roztoků pro měření absorbance</i> .....	34
Obr. 9: <i>Vzorky pro stanovení celkových polyfenolů</i> .....	35

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: <i>Surovinová skladba vzorků müsli směsí obsahujících lepek</i> .....	31
Tabulka 2: <i>Surovinová skladba vzorků bezlepkových müsli směsí</i> .....	32
Tabulka 3: <i>Výsledky stanovení obsahu polyfenolů v müsli směsích s obsahem lepku</i> .....	39
Tabulka 4: <i>Výsledky stanovení obsahu polyfenolů v müsli směsích bez obsahu lepku</i> .....	40
Tabulka 5: <i>Naměřené hodnoty absorpance kyseliny gallové pro sestavení kalibrační křivky</i> .....	41
Tabulka 6: <i>Výsledky stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH u vzorků s obsahem lepku</i> .....	42
Tabulka 7: <i>Výsledky stanovení antioxidační aktivity pomocí metody s DPPH u vzorků bez obsahu lepku</i> .....	43
Tabulka 8: <i>Naměřené hodnoty úbytku absorpance přepočtené na hodnoty inaktivace</i> .....	44
Tabulka 9A-E: <i>Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí s obsahem lepku</i> .....	46
Tabulka 10A-E: <i>Naměřené hodnoty profilu polyfenolických látek müsli směsí bez obsahu lepku</i> .....	52

**SEZNAM GRAFŮ**

Graf 1: <i>Kalibrační křivka vyjadřující závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové</i> .....	41
Graf 2: <i>Kalibrační křivka znázorňující závislost absorbance na koncentraci troloxu metodou s DPPH</i> .....	44

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: *Názorná ukázka HPLC chromatogramu analýzy volných frakcí pro vzorek bezlepkové směsi s hlavní komponentou pšenicí Forhand.*

## PŘÍLOHA P I: NÁZORNÁ UKÁZKA HPLC CHROMATOGRAMU ANALÝZY VOLNÝCH FRAKČÍ PRO VZOREK BEZLEPKOVÉ SMĚSI S HLAVNÍ KOMPONENTOU PŠENICÍ FORHAND

1 (2.56 kyselina gallová), 2 (5.12 kyselina protokatechová), 3 (8.84 kyselina *p*-hydroxybenzoová), 4 (9.85 epigallokatechin), 5 (10.21 katechin), 6 (11.82 kyselina vanilová), 7 (12.49 kyselina chlorogenová), 8 (14.71 kyselina syringová), 9 (16.31 epikatechin), 10 (18.39 kyselina *p*-kumarová), 11 (20.41 kyselina ferulová), 12 (21.02 kyselina sinapová), 13 (21.87 kyselina ellagová), 14 (22.58 rutin), 15 (23.69 kyselina *o*-kumarová), 16 (25.17 etylester kyseliny protokatechové), 17 (27.24 resveratrol).

