

Stanovení obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity v procesu výroby netradičních vloček

Bc. Lucie Martináková

Diplomová práce
2023

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Lucie Martináková
Osobní číslo:	T21455
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Stanovení obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity v procesu výroby netradičních vloček

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Charakterizovat netradiční obiloviny a pseudoobiloviny použité k výrobě netradičních vloček při procesu hydrotermálního ošetření a rozvácování.

II. Experimentální část

Vyrobít vločky z netradičních zrn s barevnými obalovými vrstvami procesem hydrotermálního ošetření a rozvácování. V průběhu výroby monitorovat koncentrace polyfenolických látek a hodnot antioxidační aktivity pomocí HPLC a spektrofotometrických metod.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Šťastná, K. et al. (2019). The nutritional value of non-traditional gluten-free flakes and their antioxidant activity. *Antioxidants*, 8, 565
- [2] Alvarez-Jubete, L. et al. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 106-113
- [3] Niro, S. et al. (2019). Gluten-free alternative grains: Nutritional evaluation and bioactive compounds. *Foods*, 8, 208

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

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2022**
Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na výrobu vloček z rýžových zrn a na stanovení obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity. Teoretická část se věnuje popisu, chemickému složení a výrobě vloček. V praktické části byly vyrobeny v laboratorních podmínkách vločky procesem hydrotermálního ošetření s následným rozválcováním. U vzorků vloček byl stanoven obsah sušiny, celkových polyfenolů, antioxidační aktivity a byl měřen profil polyfenolických látek na HPLC. V diplomové práci byl prokázán pozitivní vliv obalových vrstev vázajících polyfenoly nejen na obsah polyfenolů samotných, ale i následnou antioxidační aktivitu. Nejvyšší antioxidační aktivitu měl vzorek vloček s černými obalovými vrstvami, stejně tak byl tento vzorek nejvíce bohatý na obsah polyfenolů. Vzorek vloček z bílé rýže měl kvůli své absenci obalových vrstev nejnižší obsah polyfenolů a s tím spojenou nízkou antioxidační aktivitu.

Klíčová slova: rýže, divoká rýže, *Oryza sativa*, *Zizania aquatica*, vločka, polyfenoly, antioxidační aktivita, HPLC

ABSTRACT

The thesis focusses on the production of rice flakes from grains and the determination of the content of polyphenols and the antioxidant activity. Furthermore, the theoretical part contains the characteristics of the grains, their chemical composition, and finally the production of the flakes. In the experimental part, flakes were produced under laboratory conditions by the hydrothermal treatment process followed by rolling. The dry matter and polyphenol contents with antioxidant activity of the flake samples were determined and the polyphenolic profile was measured using HPLC. In the thesis, a positive effect of the presence of polyphenol-binding coating layers was demonstrated on the higher polyphenol content and also on the subsequent higher antioxidant activity values. The sample of flakes with black coating layers had the highest antioxidant activity value, and this sample was also rich in polyphenol content. The white rice flake sample had the lowest polyphenol content and the lowest antioxidant activity value due to its lack of coating layers.

Keywords: rice, wild rice, *Oryza sativa*, *Zizania aquatica*, flake, polyphenols, antioxidant activity, HPLC

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D., za odborné rady, velkou trpělivost a skvělé vedení. Poděkování patří i Ing. Lence Fojtíkové za pomoc při realizaci praktické části mé diplomové práce.

Velké poděkování přísluší i mojí rodině a manželovi za úžasnou podporu po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 OBILOVINY.....	11
1.1 BOTANICKÝ POPIS A ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA ZRN	11
1.1.1 Stručná charakteristika tradičních obilovin.....	13
1.1.2 Stručná charakteristika netradičních obilovin a pseudocereálií	15
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ RÝŽOVÝCH ZRN (<i>ORYZA SATIVA</i> L.)	20
1.2.1 Bílkoviny	21
1.2.2 Sacharidy	22
1.2.3 Lipidy	23
1.2.4 Vitamíny a minerální prvky	23
1.2.5 Polyfenolické látky.....	24
1.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ZRN DIVOKÉ RÝŽE (<i>ZIZANIA AQUATICA</i> L.).....	24
2 TECHNOLOGIE VÝROBY VLOČEK.....	26
2.1 HYDROTERMÁLNÍ VÝROBA VLOČEK.....	26
2.2 EXTRUZNÍ VÝROBA VLOČEK.....	27
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	29
3 CÍL EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE	30
4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, POMŮCKY A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	31
4.2 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	32
4.3 STANOVENÍ VLHKOSTI.....	36
4.4.1 Extrakce volných polyfenolických látek.....	37
4.4.2 Extrakce vázaných polyfenolických látek hydrolyzou v zásaditém prostředí.....	38
4.6 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVY METODY	40
4.6.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou	40
4.7 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ZA POMOCI METODY SE ZHÁŠENÍM RADIKÁLU ABTS	41
4.7.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou se zhášením radikálu ABTS	42
4.8 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ZA POMOCI ZHÁŠENÍ RADIKÁLU DPPH.....	42
4.8.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou se zhášením radikálu DPPH	43
4.9 STATISTICKÁ ANALÝZA	43
5 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	44

5.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ VLHKOSTI.....	44
5.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ZA POMOCÍ METOD SE ZHÁŠENÍM RADIKÁLŮ DPPH A ABTS	50
	ZÁVĚR	53
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	54
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	59
	SEZNAM OBRÁZKŮ	60
	SEZNAM TABULEK.....	61

ÚVOD

V posledních letech se mnohem více začaly objevovat civilizační choroby, mezi které se řadí například obezita a cukrovka, se kterými se pojí i kardiovaskulární onemocnění a rakovina. S těmito onemocněními se propojuje nezdravý životní styl a nevyvážený jídelníček. Proto byl v posledních letech zaznamenán větší zájem spotřebitelů o potraviny, které mohou působit jako prevence právě vůči onemocněním. Mezi potraviny, které působí jako prevence se řadí například pseudocereálie, obiloviny s barevnými obalovými vrstvami a netradiční obiloviny. I u tradičních obilovin byl prokázán obsah polyfenolů a hodnoty antioxidační aktivity, ale nebyly tak vysoké, jako právě například u netradičních obilovin.

Polyfenoly, které jsou součástí především rostlin a jejich částí působí jako prevence proti chronickým onemocněním a to tak, že dokáží vychytávat volné radikály. Díky vychytávání volných radikálů dokáží polyfenoly omezit i žluknutí tuků. Polyfenoly mohou mít přírodní nebo syntetický původ a vzhledem k potravinářskému využití je lepší využití přírodních polyfenolů. Protože se polyfenoly řadí mezi antioxidanty, antikarcinogeny, antialergeny souvisí tak jejich obsah hlavně s antioxidační aktivitou daných potravin. Výhodou konzumace pseudocereálií a netradičních obilovin je taky v obsahu vitamínů, minerálních látek, vlákniny a také je většina těchto obilovin přirozeně bez lepku. Proto se s nimi často můžeme sekat v bezlepkových potravinách. Na vlákninu jsou bohaté především ty obiloviny, které nebyly zcela nebo vůbec zbaveny obalových vrstev. Důležitý obsah v obilovinách taky představuje obsah β -glukanů, které pozitivně snižují hladinu glukózy v krvi a hladinu cholesterolu. Na β -glukany je bohatý především oves. Kvalita obilovin může být posuzována i podle obsahu esenciální aminokyseliny lysin, který je podstatný pro vstřebávání vápníku a představuje stavební jednotku pro svaly. Veškeré obiloviny mají nedostatečný obsah lysinu, přesto se najdou výjimky, které jsou na lysin bohatší jako je například rýže nebo teff. Všechny obiloviny jsou bohaté na komplex vitamínů B, další obsah vitamínů se liší podle druhu obilovin či pseudoobilovin.

Přestože se na trhu najdou plodiny, které jsou bohatší na polyfenoly, například borůvky nebo zelený čaj, jsou i obiloviny dobrým zdrojem těchto látek. Tato práce se věnuje rýžovým zrnům, ze kterých byly vyrobeny vločky a v nich byl stanoven obsah polyfenolů a antioxidační aktivity.

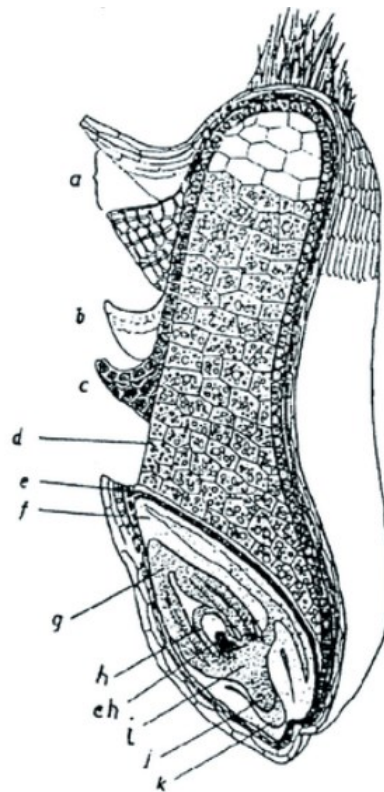
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBILOVINY

Obiloviny botanicky řadíme mezi traviny a téměř všechny obiloviny patří do čeledi lipnicovité. Obiloviny tvořící výjimku jsou například pohanka, amarant a merlík čilský (quinoa), které řadíme mezi pseudoobiloviny. Pohanka se řadí do čeledi rdesnovité, amarant patří do čeledi laskavcovité (amaranthovité) stejně tak jako merlík čilský. Vzájemná podobnost u obilovin nejen v chemickém složení, ale i ve vzhledu a stavbě rostlin je dána právě stejnou čeledí lipnicovité. Nejvíce pěstované obiloviny pro potravinářský průmysl jsou pšenice, žito, ječmen, oves, rýže, kukuřice. Do skupiny tradičních producentů obilovin spadá USA a Čína (Příhoda et al., 2004). Obilniny zaujímají 30–40 % celkové potřeby energie ve stravě. Z hlediska příjmu bílkovin pak obilniny zaujímají 20–60 %. Nevýhodou přijímání bílkovin z obilnin je nedostatečný obsah aminokyseliny lysinu, která je v nich limitující aminokyselinou. U kukuřice to je ještě tryptofan. Vitaminy bohatě obsažené v obilninách jsou B₁ a B₆ (Benda et al, 2005). Obiloviny si svou popularitu nejvíce získaly v pekárenství. V posledních letech se za pomoci genového inženýrství a šlechtění rozmohlo i možné jiné použití obilovin pro různá odvětví nejen potravinářského průmyslu, ale například pro výrobu biopaliv či krmiva (Příhoda et al., 2004).

1.1 Botanický popis a základní charakteristika zrn

Zrna obilovin mají vzhledem ke stejné čeledi podobnou morfologickou skladbu. Největší rozdíl mezi zrny je ve velikosti, tvaru a podílu vrstev. Jednotlivé obilky jsou pak tvořeny třemi hlavními částmi: obalovými vrstvami, endospermem a zárodkem. Charakteristickým znakem různých druhů zrn je přítomnost pluch či nikoliv. U zrn, které obsahují pluchy se musí před dalším zpracováním odstranit (Příhoda et al., 2004). Jednotlivé vrstvy pšeničné obilky jsou vyobrazeny na obrázku 1.



Obrázek 1 Řez obilkou pšenice

a – oplodí, b – osemení, c – aleuronová vrstva, d – endosperm, e – vrstva palisádových buněk (nasávací systém), f – štítek, g – koleoptile, h – základ 1. pravého listu, ch – vzrostný vrchol, i – mezokotyl, j – základ kořínku, k – kořenová čepička (Húska et al., 1997)

Podíl jednotlivých vrstev je odlišný na základě botanického druhu, jednotlivých odrůd, ale taky na podmínkách pěstování. Z celkové hmotnosti zrna připadá na endosperm 83–89 %, 8–14 % pak zaujmou obalové vrstvy a 1,5–2,3 % případně na embryo (Burešová a Lorencová, 2013). Oplodí se nachází na povrchu zrna a má ochrannou mechanickou funkci. Obalové vrstvy jsou tvořeny nejčastěji celulózou, která nepodléhá tak snadno bobtnání. Osemení je pro zrna důležité, protože díky obsahu barviv určuje konečnou barvu zrna (Příhoda et al., 2004). Aleuronová vrstva se nachází mezi obalovými vrstvami a endospermem. Je tvořena buňkami ve tvaru krychlí, které sice obsahují velké množství bílkovin, ale netvoří zásobní bílkoviny. Podle podmínek mletí jsou aleuronové buňky buď vymlety společně s endospermem do mouk nebo zůstávají jako součást otrub. Endosperm se nachází uvnitř zrna. Je bohatý na zásobní látky jako škrob a bílkoviny. Zásobní látky jsou důležité zejména jako zásobárna živin pro vytvoření nové rostliny (Burešová a Lorencová, 2013).

1.1.1 Stručná charakteristika tradičních obilovin

1.1.1.1 Pšenice

Jedná se o nejrozšířenější obilovinu pro lidskou výživu. Mezi největší producenty se řadí Čína, Indie a USA. Až na výjimky má pšenice bezpluchá zrna, mezi výjimku patří například pšenice špalda. Nejvýznamnější 2 druhy pěstovaných pšenic je pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) a pšenice tvrdá (*Triticum durum* L.). Pšenice tvrdá obsahuje 16 % bílkovin a 61 % škrobu, díky tomuto zastoupení tvoří mouku, která je vhodná na přípravu například těstovin (Morris a Bryce, 2002). V praxi se pak obsah bílkovin v zrně pohybuje v rozmezí 8–16 %. V pšenici hraje významnou roli obsah lepkových bílkovin, díky kterým vzniká schopnost vytvářet viskoelastické těsto důležité pro výrobu chleba. Pšeničné bílkoviny obsahují důležité esenciální aminokyseliny, mezi které patří lysin, izoleucin, leucin. Jen lysinu je v pšeničném zrně nedostatečné množství (Arendt a Zannini, 2013). Pšenice setá má ve svém složení 66 % škrobu a 12 % bílkovin, využívá se tak pro výrobu pečiva, lihovin a krmiva (Morris a Bryce, 2002). Škrob v pšeničných zrnech má dvě velikosti, velké čočkovité granule a malé kulovité granule, které jsou složeny z 25 % z amylosy a 75 % připadá na amylopektin. Fenolické látky jsou důležitou součástí pšeničných zrn, kdy největšího zástupce představuje kyselina ferulová, která zaujímá přibližně 77 % z celkového obsahu fenolických látek. Množství lipidů se v pšenici pohybuje okolo 3–4 %. Minerální prvky jsou v zrnech zastoupeny pouze okolo 1 %. Nejvíce zastoupeny jsou zinek, železo, hořčík a vápník (Arendt a Zannini, 2013).

1.1.1.2 Kukuřice

Kukuřice (*Zea mays* L.) je pěstována nejvíce v USA, Číně a Brazílii a je přirozeně bez lepku. Mezi nejvíce pěstované poddruhy se řadí kukuřice setá tvrdozrná, kukuřice setá koňský zub, kukuřice cukrová a kukuřice pukancová. Kukuřice se řadí do čeledi lipnicovité (Morris a Bryce, 2002). Kukuřičné zrno se skládá ze 70–75 % ze škrobu, 8–10 % bílkovin, 4–5 % lipidů, 1–3 % sacharidů, 1–4 % zaujímají vitaminy a minerální látky a obsahuje okolo 2 % vlákniny. Kukuřice obsahuje i vysoké množství fytosterolů. Bílkoviny, které jsou spojeny se škrobovými granulemi se nacházejí pouze na povrchu a jsou značně odlišné od zásobních bílkovin, které jsou obsaženy v zrně. V endospermu se nacházejí bílkoviny se zhoršenou kvalitou, zejména kvůli nedostatečnému obsahu esenciálních aminokyselin lysinu a tryptofanu. Kromě komplexu vitaminů B je v kukuřičných zrnech obsažen i vitamin E. Při dlouhodobé konzumaci nevhodně zpracovaných kukuřičných zrn a mouky v minulosti

docházelo až ke vzniku pelagry (kožní onemocnění způsobené nedostatkem vitamínu B₃). Nejrozšířenějšími minerálními prvky jsou v kukuřičném zrně fosfor, draslík a hořčík. Kukuřice má využití zejména pro výrobu mouky, tortill, kaší, krmiv, snídaňových cereálií, alkoholických či nealkoholických nápojů (Arendt a Zannini, 2013).

1.1.1.3 Ječmen

Přestože pěstování ječmene (*Hordeum* spp.) má dávný původ, v dnešní době jsou pěstovány nejvíce druhy sladovnického ječmene. Ječmen se řadí mezi obiloviny, které obsahují pluchy. V ČR se nejčastěji pěstují dva druhy ječmene: dvouřadý, jarní – sladovnický, potravinářský; víceřadý, ozimý má využití na krmivo (Burešová a Lorencová, 2013). Ječmen si získal svou oblibu díky vysokému obsahu vlákniny (zejména β -glukanů) a nízkému obsahu tuků. V zrně ječmene má největší zastoupení škrob, který zaujímá 65–68 %. Dále obsahuje 8–17 % bílkovin, 2–3 % tuků a 1,5–3,0 % vitaminů a minerálních látek. Mezi nejdůležitější složku ječmene patří s ohledem na lidskou výživu obsah β -glukanů. Obecně lze říct, že zrně ječmene obsahuje 2–10 g β -glukanů na 100 g. Dle nařízení Komise (EU) č. 432/2012 lze u β -glukanů z ječmene použít tvrzení o snižování hladiny glukózy v krvi, po jídle, které obsahuje minimálně 4 g β -glukanů na každých 30 g využitelných sacharidů. Pro ječmen je charakteristický vysoký obsah kyseliny glutamové a prolinu. Hlavní mastnou kyselinou je kyselina linolová v rozmezí 52–58 % z celkového obsahu mastných kyselin. V zrnech ječmene najdeme zástupce téměř všech vitaminů, nejvíce pak vitamínu E. Z minerálních prvků se nejvíce objevuje mangan a hořčík, dále v menším množství měď, železo a zinek (Nařízení Komise (EU) č. 432/2012, 2012; Arendt a Zannini, 2013).

1.1.1.4 Oves

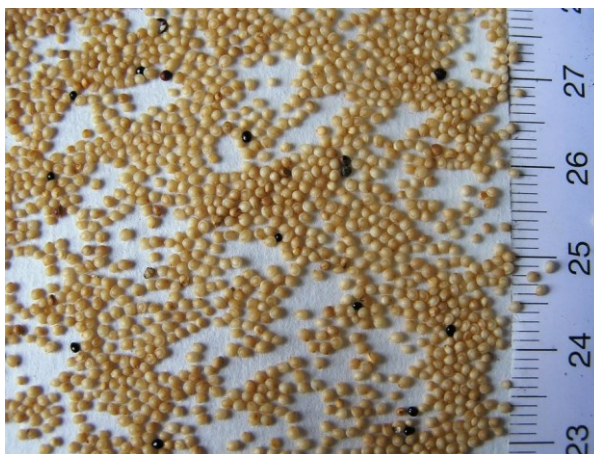
Oves (*Avena sativa* L.) je pluchaté zrně, ale vyskytují se i bezpluché odrůdy. Mezi největší pěstitele patří Rusko, Polsko, Finsko. V potravinářství je oves používán pro výrobu vloček, mouky a ovesných kaší. Oves je velmi bohatý na kyselinu linolovou, obsah vitaminů B₁, B₂, B₅, B₉ a β -glukany (Příhoda et al., 2004; Arendt a Zannini, 2013). Stejně jako u ostatních obilovin je nejvíce zastoupenou složkou v zrně ovsa škrob. Má i vyšší obsah tuků, což představuje hrozbu pro žluknutí a kažení. Škrobové granule ovsa mají průměrnou velikost od 3 do 10 μ m a jsou mnohem menší než například u pšenice či rýže. Jak bylo zmíněno, oves je bohatý na β -glukan (v ovesných vločkách se pohybuje v rozmezí 2–8 g/100 g). β -glukan ovsa zvyšuje viskozitu tráveniny v zažívacím traktu, dokáže snižovat hladinu cholesterolu v krvi a snižovat hladinu glukózy v krvi po konzumaci jídla, které dle Nařízení Komise (EU)

432/2012 obsahuje více než 4 g β -glukanů na každých 30 g využitelných sacharidů v jídle. Bílkoviny ovsu jsou více tvořeny globulinem, který je charakteristický pro vysoký obsah lysinu, menší část pak připadá na prolamin. Hlavní mastné kyseliny, kterými jsou zastoupeny lipidy ovsu jsou kyselina palmitová, olejová stearová a linolová. Největší zastoupení minerálních prvků je v podobě fosforu a draslíku, následně pak hořčíku a vápníku (Nařízení Komise (EU) č. 432/2012; Arendt a Zannini, 2013).

1.1.2 Stručná charakteristika netradičních obilovin a pseudocereálií

1.1.2.1 Amarant

Řadí se do pseudocereálií a spadá do čeledi laskavcovité. Do rodu laskavec (*Amaranthus*) se řadí okolo 60 druhů. Zrna amarantu jsou malá, vyznačují se čokovitým tvarem a jsou bez přítomnosti lepkových bílkovin. Amarant obsahuje 16 % bílkovin, které se skládají zejména z globulinů a albuminů. Amarant je bohatý i na vlákninu, které obsahuje přibližně okolo 20 %. Z obsahu vitaminů je nejvíce v amarantu zastoupený vitamin B₂, je skvělým zdrojem vitaminu E (5,7 mg na 100 g sušiny). Stejně tak je bohatý na vápník, hořčík a železo. Vápník je zastoupen v semenech amarantu okolo 180 mg/100 g. Tuk je v zrnech amarantu zastoupený okolo 5 %, z mastných kyselin je zrno bohaté na kyselinu linolovou (zaujímá 50% podíl z jejich celku), dalšími jsou kyseliny olejová a palmitová. Díky přítomnosti vitaminu E jsou pseudocereálie i přes vyšší obsah tuků chráněny před oxidací. Co se týče obsahu polyfenolů jsou v amarantu nejvíce obsaženy kyseliny kávová, ferulová a *p*-hydroxybenzoová. Důležitou vlastností pseudocereálií je taky obsah fytosterolů, které brání vstřebávání cholesterolu ve střevě a snižují tak celkovou hladinu LDL cholesterolu (Alvarez-Jubete, L. et al., 2010; Nitro et al., 2019).



Obrázek 2 Zrna amarantu (Tichá a Vyzínová, 2006)

1.1.2.2 Quinoa

Quinoa, taktéž známá jako merlík čilský (*Chenopodium quinoa* Willd) patří do čeledi laskavcovité. Je řazen do pseudocereálií. V zrnech se nachází asi 14 % bílkovin, tyto jsou složeny z globulinů a albuminů. Oproti ostatním pseudocereáliím má quinoa nejnižší obsah vlákniny, okolo 14 %. Quinoa ve svých zrnech obsahuje okolo 2 % minerálních látek a vitaminů. Nejvíce jsou zastoupeny vitaminy B₂, B₁ a B₉. Stejně jako amarant je quinoa bohatá na vitamin E. Z minerálních prvků je nejvíce zastoupen hořčík (206 mg na 100 g), ale quinoa je bohatá i na vápník, zinek a železo. Quinoa obsahuje asi 5 % tuku, který má nejvíce estericky vázány kyseliny linolovou, olejovou a palmitovou. V quinoe je hojně zastoupena i kyselina α -linolenová, která může pomoci snižovat riziko kardiovaskulárních chorob. Mezi polyfenoly, které jsou nejvíce zastoupeny v quinoi patří flavonoidy. Z negativního hlediska jsou zrna quinoi bohatá na saponiny, které způsobují hořkou chuť. Quinoa má nízký glykemický index a byla doporučena jako ideální pro výrobu bezpečných potravin (Alvarez-Jubete et al., 2010).



Obrázek 3 Obrázek 4 Zrno quinoi (ochutnejorech.cz, 2023)

1.1.2.3 Pohanka

Pohanka (*Fagopyrum esculentum*) je nenáročná rostlina, která se řadí do čeledi rdesnovitých a jejím plodem je nažka. Řadí se do pseudocereálií. Zrno pohanky má svůj typický trojúhelníkový tvar o velikosti 4–9 mm. Škrob se nejvíce nachází v endospermu. Pohanka má z výše jmenovaných pseudocereálií nejnižší obsah bílkovin, okolo 12 %, bílkoviny jsou nejvíce složeny z globulinů a albuminů. Na obsah vlákniny je pohanka nejbohatší, její obsah se v zrnech pohybuje okolo 29 %. Pohanka je dobrým zdrojem vitaminů B₁, B₂, B₆ a E,

obsahuje vápník, hořčík, zinek a železo, nejvíce je pak obsažen hořčík (203 mg/100 g). Obsah tuku v pohance je pouze okolo 2 % a jeho složení je díky vyššímu obsahu nenasycených mastných kyselin příznivé pro konzumaci. Pohanková zrna obsahují fagopyritoly, které dokáží kontrolovat glykemickou hladinu, což se projevilo příznivě na pacientech s diabetem, kteří nejsou závislí na inzulinu. Pohanka je i skvělým zdrojem polyfenolů, které jsou v zrnech hojně zastoupeny (Alvarez-Jubete et al., 2010).



Obrázek 4 Zrno pohanky (Tichá a Vyzínová, 2006)

1.1.2.4 Proso

Proso (*Panicum*) patří do čeledi lipnicovitých. Semena prosa jsou typická pro svůj velmi drobný vzhled podobný perličkám. Zrno obsahuje 13 % bílkovin, 63 % škrobu, 3 % vlákniny, 8 % tuku a 2 % minerálních látek. Jeho zrna jsou přirozeně bez lepku, obsahují esenciální aminokyseliny, nejvíce methionin a jsou tak dobrým zdrojem fytochemikálií a mikroživin. Výjimečná jsou zrna prosa oproti jiným obilovinám, kvůli obsahu vápníku, železa, hořčíku a fosforu. Zajímavý je i obsah fosfatidylcholinu. Stejně jako u jiných druhů obilovin je i proso bohaté na komplex vitaminů B. I pro vysoký obsah vlákniny a antioxidantů je zrno prosa vhodnou náhradou a alternativou pro zařazení do jídelníčku. Proso je vhodné na využití i v kojenecké výživě a výživě pro děti (Saleh et al., 2013; Habiyaemye, 2017).



Obrázek 5 Zrno prosa (Tichá a Vyzínová, 2006)

1.1.2.5 Teff

Pod českým názvem je znám jako milička habešská (*Eragrostis tef*). Zrna teffu jsou velmi drobná, kulovitěho tvaru a nejčastěji jsou s hnědými nebo bílými obalovými vrstvami. Nejpěstovanější stále zůstává bílý teff. Oproti prosu je teff bohatší na minerální prvky a esenciální aminokyseliny, včetně lysinu. Z celkového obsahu sušiny je zastoupení jednotlivých složek následující: 73 % škrobu, 11 % bílkovin, 3 % tuku a 3 % popela. Škrobové granule teffu jsou podobné granulím rýže, především tvořené rozvětvenou frakcí amylopektinu. Nejvíce zastoupeny z aminokyselin jsou kyseliny glutamová a asparagová, alanin, prolin, leucin a valin. Obsah methioninu, alaninu a histidinu je vyšší než u ostatních obilovin, naopak obsah serinu a glycinu je nižší. Teff má nízký obsah tuku, který je nejvíce zastoupen kyselinami olejovou, linolovou a palmitovou. Zrna teffu jsou bohatá na vlákninu, která zaujímá okolo 3 % sušiny. Z vitaminů je zrno teffu bohaté na vitaminy B₃, B₂, B₁ a obsahuje i vitamin C. Teff je velmi dobrým zdrojem železa, dále je zdrojem vápníku, fosforu mědi, zinku a hořčíku. Z fenolických látek je v teffu významně zastoupena kyselina ferulová (Arendt a Zannini, 2013).

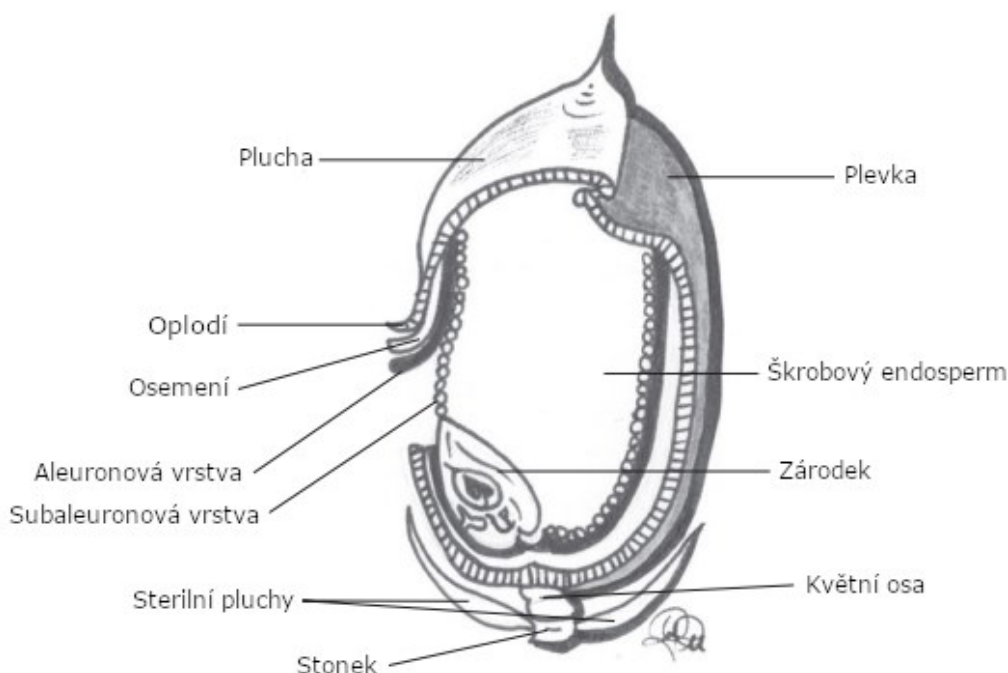


Obrázek 6 Zrno teffu (Naked Food Magazine, 2013)

1.2 Chemické složení rýžových zrn (*Oryza sativa* L.)

Rýže (*Oryza sativa* L.) se řadí mezi jednu z nejpěstovanějších obilovin. Nejvíce je pěstována v Asii. Rýže může být pěstována ponořená ve vodě, kdy se jedná o rýži vodomilnou. Může být ale i pěstovaná na suché půdě, kdy se jedná o rýži horskou, nejčastěji je tak pěstována v Alpách či Andách (Pan a Khir, 2019). Dle vyhlášky č. 18/2020 Sb. se rýží rozumí zrna získaná z kulturní rostliny rýže seté *Oryza sativa* L. a jejích odrůd, rýží neloupanou neloupané obilky rýže s celistvou vrchní slupkou, rýží pololoupanou nebo rýží natural zrna rýže zbavené vrchní slupky, rýží loupanou zrna rýže zbavená všech částí oplodí a osemení a částečně i klíčků, rýží dlouhozrnnou rýže, jejíž zrno je delší než 6 mm, rýží střednězrnnou rýže, jejíž průměrná délka zrna je mezi 5,2 a 6,0 mm a poměr délky a šířky zrna je menší než 3, rýží kulatozrnnou rýže, jejíž průměrná délka zrna je menší než 5,2 mm a poměr délky a šířky zrna je menší než 2 (Vyhláška č. 18/2020 Sb.). Rýže má ze všech obilovin nejnižší obsah bílkovin, škrobu a tuků, naopak je nejbohatší na lysin a minerální látky. Znalost chemického složení rýžového zrna je důležitá, protože rýže představuje pro více než polovinu světové populace zdroj energie, bílkovin, vitaminů a dalších základních živin (Pan a Khir, 2019).

Stavba rýžového zrna je velmi podobná ostatním obilovinám, přesný popis je na obrázku 7. Endosperm zaujímá největší plochu (89–94 %), dále potom slupka, perikarp a embryo. Pigmenty, které jsou patrné u barevných druhů rýže se nacházejí v semenném obalu nebo v perikarpu. Rýže je přirozeně bezlepková obilovina bohatá zejména na škrob. Zrna rýže, které mají barevné obalové vrstvy (černá, červená) mají i vysoký obsah minerálních prvků, vitaminů a vlákniny. Bohužel trh je chudší na výrobky z těchto barevných rýžových zrn. V dnešní době se stále více vyhledávají zdroje živin, které vykazují vysokou antioxidační aktivitu s nízkým obsahem volných cukrů a vysokým obsahem fenolických látek, protože u nich byla prokázána schopnost snížit riziko vzniku chronických onemocnění, například diabetes II. typu, kardiovaskulárních onemocnění nebo některé typy rakoviny. Tyto vlastnosti právě vykazují zrna rýže s barevnými obalovými vrstvami (Šťastná et al., 2019).



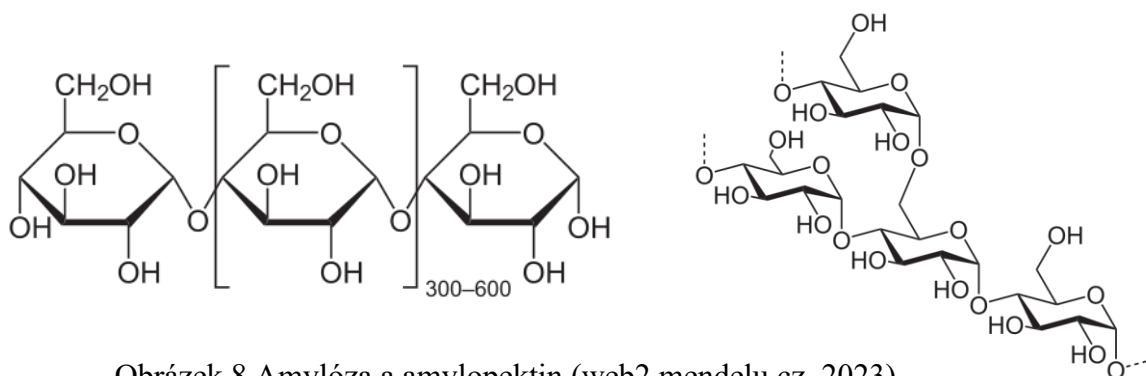
Obrázek 7 Stavba rýžového zrna (Upraveno dle Arendt a Zannini, 2013)

1.2.1 Bílkoviny

Přesné zastoupení bílkovin je důležité znát z hlediska nejen toho, že dokáží ovlivnit nutriční hodnotu rýže, ale taky z důvodu kulinární přípravy zrn. Obsah bílkovin se odvíjí na základě druhu rýžového zrna. Obecně je obsah bílkovin udáván v rozmezí od 6,5–17,5 %. Samotná stravitelnost proteinů je dána jejich vazbou na škrobová zrna a taky do jaké míry dochází k jejich denaturaci při tepelné úpravě (Sumczynski a Bubelová, 2014). Dle Osbornova rozdělení, které je založeno na rozpustnosti bílkovin, se bílkoviny dělí na 4 základní frakce. Ve vodě rozpustné albuminy; globuliny, které jsou rozpustné v solných roztocích; v 70–90 % alkoholu rozpustné prolaminy a gluteliny (gluteniny) rozpustné ve zředěných roztocích kyselin a zásad (Burešová a Lorencová, 2013). V rýži jsou z proteinů nejvíce zastoupeny gluteliny, které se řadí mezi zásobní bílkoviny. Ty jsou pro lidské tělo dobře stravitelné a k tomu jsou bohaté na lysin (Sumczynski a Bubelová, 2014), byť lysin představuje i limitující aminokyselinu. Aminokyseliny jsou v obsahu důležité pro hodnocení celkové kvality bílkovin. Rýže je z aminokyselin bohatá především na kyselinu glutamovou, asparagovou, valin a methionin. V rýžích, které mají barevné obalové vrstvy (černá, červená) je mnohem vyšší obsah aminokyselin, stejně tak u rýže divoké (*Zizania aquatica* L.) (Pan a Khir, 2019).

1.2.2 Sacharidy

Sacharidy se objevují od jednoduchých cukrů až po vysokomolekulární polysacharidy. Monosacharidy vznikají při fotosyntéze a uplatnění mají nejvíce ve strukturách polysacharidů. Rýže je z 90 % tvořena škrobem, který je zásobním polysacharidem. Je tvořen dvěma frakcemi: amylosem a amylopektinem (Příhoda et al., 2004). Škrobová zrna rýže jsou ta s nejmenší velikostí v rámci obilovin. Průměrná velikost se pohybuje od 3 do 8 μm . Rýžová škrobová zrna mají hranatý, polygonální tvar s hladkým povrchem (Pan a Khir, 2019). Amylóza je tvořena maltózovými jednotkami, které jsou vzájemně spojeny $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{4)}$ vazbou v lineární struktuře. Její vlastností je, že je rozpustná v horké vodě. Amylopektin tvoří větvenou strukturu (maltózy a izomaltózy) za pomoci vazeb $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{4)}$ a $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{6)}$. V horké vodě je nerozpustný, vytváří koloidní roztoky až mazy.



Obrázek 8 Amylóza a amylopektin (web2.mendelu.cz, 2023)

Rýže se řadí mezi obiloviny s větším zastoupením amylopektinu. Důležitou vlastností škrobu je i mazovatění. Škrobové granule ve vodě při zahřívání nad $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ začínají rychle zvětšovat svůj objem a amylóza začíná unikat do roztoku. V potravinářském průmyslu má rýžový škrob využití zejména na zahušťování, stabilizaci nebo jako plnicí složka (Burešová a Lorencová, 2013).

V rýžovém zrně můžeme najít i neškrobové polysacharidy, které se nejvíce vyskytují v obalových vrstvách a jsou stavebními (strukturními) polysacharidy. Mezi nejvýznamnější patří celulóza, hemicelulózy a doprovází je polyfenol lignin, kterými je tvořena vláknina. Vlákna na sebe snadno váže vodu a dokáže měnit i viskozitu potravin, díky čemuž přispívá k omezenému vstřebávání cholesterolu a triacylglycerolů. Slouží jako prevence proti zácpě, tím udržuje správnou funkci tlustého střeva a pomáhá snižovat hladinu glukózy v krvi. Vlákna se nejvíce vyskytují v neloupaných zrnech rýže (Sumczynski a Bubelová, 2014).

1.2.3 Lipidy

Obsah lipidů je v rýžovém zrně velmi nízký, nejčastěji se pohybuje do 3,5 % a nejvíce jej nalezneme v klíčku zrna. Z mastných kyselin jsou nejvíce v rýžovém zrně zastoupeny kyseliny palmitová, olejová a linolová. Vzhledem k vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin hrozí snadná oxidace a žluknutí zrn. To může mít za následek zhoršení sensorických vlastností, například kyselou chuť, žluklý zápach. Obsah tuků je důležitý především z hlediska chuťového vjemu. Příliš vysoký obsah lipidů v rýžovém zrně by způsoboval problém především z hlediska skladovatelnosti, protože by docházelo k oxidaci. Rýže s vysokým obsahem lipidů je proto vhodná ke konzumaci krátce po sklizni (Pan a Khir, 2019).

1.2.4 Vitaminy a minerální prvky

Vitaminy se nacházejí především v obalových vrstvách a klíčku, endosperm je na vitaminy poměrně chudý. Obiloviny jsou považovány za hlavní zdroj skupiny vitaminů B a není tomu jinak ani u rýže. Rýže je především bohatá na vitaminy B₁, B₂, B₃, B₅ a E. Nepřítomnost vitamínu A v rýžových zrnech může být problém u populace, která má stravu založenou především na rýži a pokrmech z ní. Tento problém začínají řešit geneticky modifikované druhy rýže, které obsahují asi 3 mg na 100 g provitaminu A (Příhoda et al., 2004).

Minerální látky je možné souhrnně označit jako obsah „popela“, tedy anorganický zbytek po spálení rostlinného materiálu. Obsah popela se zvyšuje se stupněm vymletí a používá se jako klasifikace pro označování mouk. Minerální prvky jsou soustředěny především v obalových vrstvách. Jedná se o ukazatele nutriční kvality zrna či rýžové mouky. Nejvíce se v zrnech vyskytuje vápník, draslík, sodík, hořčík a fosfor. Minerální prvky se objevují ve formě solí či jako komplexy s vitaminy nebo hormony. Fosfor se pak vyskytuje ve formě kyseliny fytové, která je součástí obalových vrstev. Ta má schopnost vázat na sebe vápník, hořčík nebo železo, což zapříčiní neschopnost vstřebávání těchto prvků v organismu, a tak může docházet k jejich nedostatkům při zvýšené konzumaci například otrub (Příhoda et al., 2004). Problém v zrnech rýže představuje obsah arsenu, který při vysokých dávkách je pro tělo toxický. Světová zdravotnická organizace (WHO) dříve stanovila prozatímní tolerovaný týdenní příjem pro anorganický arsen z rýže na 0,015 mg/kg tělesné hmotnosti. Ve vzorcích bílé rýže se obsah arsenu pohybuje v rozmezí 0,11–0,49 mg/kg, zatímco u vzorků hnědé rýže se obsah arsenu pohybuje v rozmezí 0,08–0,25 mg/kg. Nejpravděpodobnější zdroj arsenu je voda, kterou jsou rýžová pole bohatě zavlažována. V některých zemích obsah arsenu

představoval závažný problém pro pěstování rýže, jako například jamajské půdy, ve kterých se rýže nesmí pěstovat. Vysoký obsah arsenu byl zjištěn i u rýží, který měli původ v USA (Antoine et al., 2012).

1.2.5 Polyfenolické látky

Rostliny polyfenoly syntetizují jako sekundární metabolity a využívají je pro svou ochranu například proti UV záření. V lidské stravě vykazují prevenci proti chronickým onemocněním tím, že dokážou vychytávat volné radikály. Díky tomu také přispívají ke snížení tvorby těkavých produktů rozkladu, například aldehydů nebo ketonů a tím omezují procesy žluknutí. Přírodní polyfenoly se dělí na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny, kumariny, lignany a taniny. Fenolové kyseliny jsou víceúčelové bioaktivní sloučeniny, které jsou součástí celé rostlinné říše. Mají několik zdravotně-ochranných účinků, jako například antioxidační, antimutagenní, protizánětlivé aj. Fenolové kyseliny jsou děleny na deriváty kyseliny hydroxybenzoové a hydroxyskořicové, přičemž hydroxyskořicové jsou více rozšířené. Mezi nejběžnější hydroxyskořicové kyseliny patří kyselina kávová a ferulová a asi nejznámější vázanou hydroxyskořicovou kyselinou je chlorogenová. Deriváty kyseliny hydroxybenzoové jsou v potravinách nejčastěji ve formě glukosidů a mezi nejběžnější patří kyselina vanilová a protokatechinová. Jejich antioxidační aktivita je způsobena vychytáváním radikálů prostřednictvím donace vodíkového atomu. Nejvýznamnější a nejrozšířenější skupinou přírodních polyfenolů v rostlinách jsou bezpochyby flavonoidy. Nejběžnější flavonoidy jsou flavanoly, flavony, isoflavony a flavonoly a antokyanidy. Významnými zástupci skupiny flavanolů jsou kvercetin, skupiny flavonů rutin a apigenin. Známými zástupci flavanolů pak katechin, epikatechin a gallokatechin, z anthokyanů rýže pak delfinidin a kyanidin. Taniny neboli třísloviny se podle chemické struktury dělí na hydrolyzovatelné a kondenzované. Kondenzované třísloviny jsou oligomery a polymery, hydrolyzovatelné jsou glykosylované deriváty kyseliny gallové. Třísloviny jsou významné pro svou schopnost inhibovat peroxidaci lipidů a vychytávat radikály (Hou et al., 2013; Shahidi a Ambigaipalan, 2015).

1.3 Chemické složení zrn divoké rýže (*Zizania aquatica* L.)

Divoká rýže není ve skutečnosti rýže, ale jedná se o zrna bahenní trávy, která roste především v okolí velkých jezer USA. Je vyhledávána pro svou lískooříškovou chuť a tmavě hnědou barvu. Je většinou konzumována spolu ve směsi s rýžovými zrny, ale může být pomleta i na mouku (Experts from The Mayo Clinic, 2002).

Zrna divoké rýže jsou nutričně velmi bohatá. V celkovém obsahu mají zrna 12–15 % bílkovin, 71–84 % sacharidů ze kterých okolo 60–65 % zaujímá škrob. Škrob divoké rýže je oproti škrobu v klasické rýži rychleji stravitelný a má i vyšší rozpustnost a bobtnavost. Zrna divoké rýže mají nízký glykemický index, tedy po její konzumaci pomaleji stoupá hladina glukózy v krvi. To je nejspíše způsobeno vysokým obsahem vlákniny a bílkovin. Vlákniny je v zrnech divoké rýže okolo 5 %. Výhodou je vysoký obsah lysinu v zrnech divoké rýže, který se pohybuje od 3,8 do 4,2 %, což je asi dvakrát vyšší množství než v ostatních obilovinách. Divoká rýže získává na své popularitě i díky velmi nízkému obsahu tuků, který se pohybuje v rozmezí 0,7–1,1 %. Pozitivní je vyšší zastoupení mastných kyselin v podobě kyselin linolové, linolenové a palmitové. Stejně jako ostatní obiloviny i divoká rýže je bohatá na komplex vitaminů B, především B₁ a B₂, zrna jsou bohatá i na vitamin E. Z minerálních prvků představuje divoká rýže významný zdroj vápníku, železa, hořčíku, fosforu a zinku. Díky vysoké antioxidační aktivitě a nutričnímu složení je v poslední době často vyhledávaná konzumenty jako zdroj přírodních antioxidantů (Bavec a Bavec, 2007; Yu et al., 2020). Vysoká antioxidační aktivita ukazuje na vysoký obsah polyfenolických sloučenin, které se vyskytují v rozsahu od 2470 do 4070 mg GAE/kg. Obsah volných flavonoidů ve vzorcích divoké rýže je nižší než obsah vázaných. Celkový obsah flavonoidů se pohybuje v rozmezí 578–791 mg RE/kg. Největší zastoupení z volných flavonoidů představoval rutin, epikatechin, epigallokatechin a katechin. Z vázaných flavonoidů byl ve vzorcích divoké rýže nejvíce přítomen epikatechin a epigallokatechin. Kyseliny ferulová, gallová a sinapová tvořily hlavní část volných fenolických frakcí, mezi zástupce vázaných kyselin patřily ferulová, sinapová, chlorogenová a ellagová (Sumczynski et al., 2017).

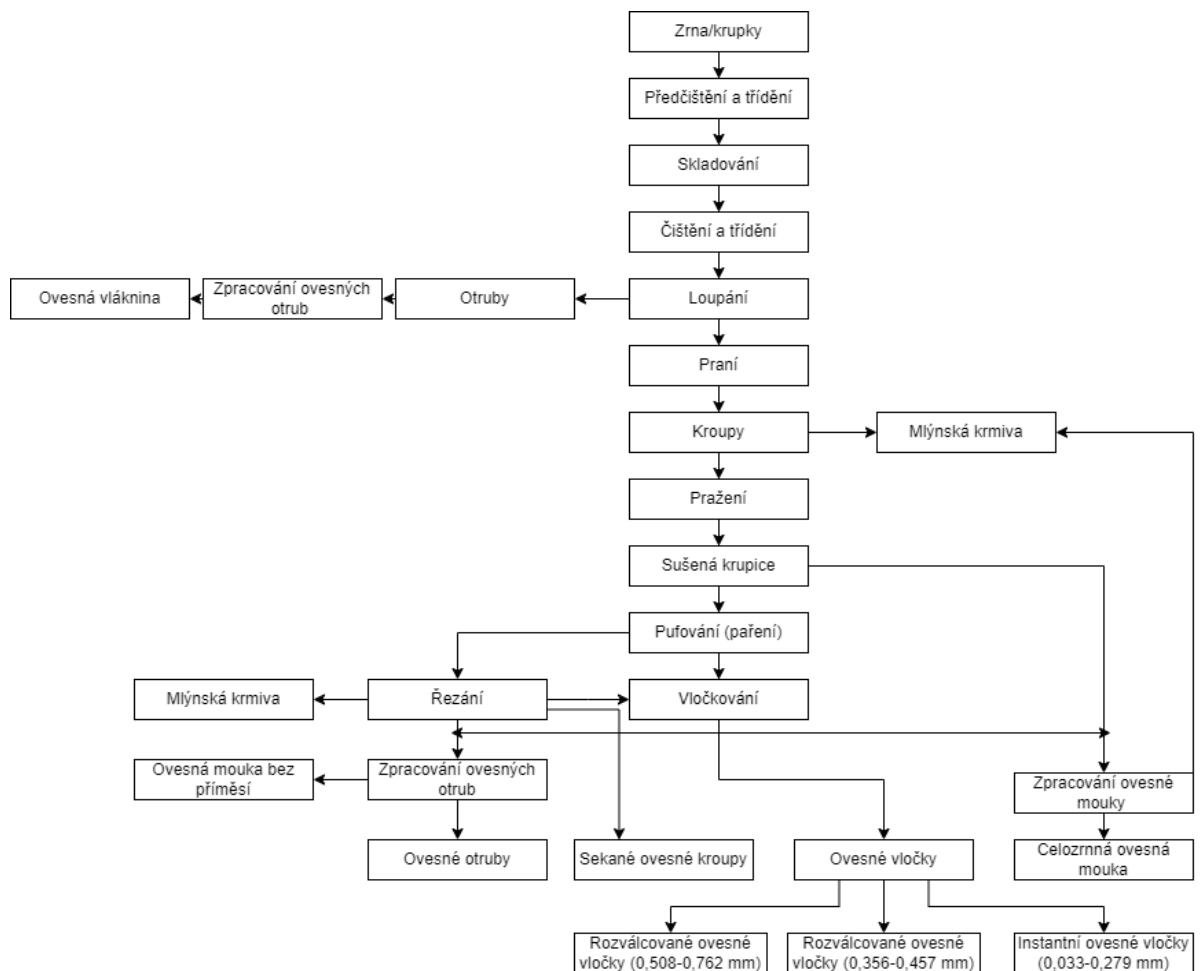
2 TECHNOLOGIE VÝROBY VLOČEK

Pro výrobu vloček se nejčastěji využívají zrna ovsa (*Avena sativa* L.), je však samozřejmě možné pro výrobu použít i jiný druh obilovin, například pšenice, kukuřice či rýže. Zrna se třídí podle velikosti a u pluchatých zrn se odstraňují pluchy na loupacích strojích. Při výrobě vloček se uplatňují dva druhy výroby. Jedná se o hydrotermální ošetření, kdy se využívá teplo pro záhřev zrna nebo termomechanické ošetření, u kterého se využívá mechanická síla pro podporu snížení času a energie pro výrobu vloček (Příhoda et al., 2004).

2.1 Hydrotermální výroba vloček

Hydrotermální způsob výroby je takový, který se vyznačuje vysokým obsahem vlhkosti, přesto však by vlhkost suroviny neměla být vyšší než 28 %, protože by mohlo docházet k lepidlosti a tím ztížené manipulaci. Hydrotermální ošetření může probíhat za atmosférického tlaku nebo za vyššího tlaku, který se právě využívá při výrobě vloček či parboiled rýže. Zrna jsou ošetřena teplotou do 95 °C při vaření nebo teplotou 130 °C při použití vyššího tlaku. Díky použití vysokých teplot dochází k tomu, že škrobová zrna ztratí svou krystalickou podobu a zároveň k destrukci zrn (Guiné, 2013). Před samotným hydrotermálním ošetřením jsou odstraněny obalové vrstvy a zrno je nasekáno na menší kusy, aby se zajistila jedna velikost vyráběných ovesných vloček. Po povaření zrna dojde k rozválnování na požadovanou tloušťku. Tloušťka zrna se volí podle dalšího zpracování, a to v rozmezí od 0,45 až do 0,8 mm. Rozválnování se provádí za pomoci dvou protichůdně rotujících válců. Některé druhy vyrobených ovesných vloček mohou díky vyššímu obsahu tuku (například oves) snadněji podléhat kažení. Tomuto problému právě napomáhá hydrotermální ošetření, vysoká teplota inaktivuje lipázu, která štěpí lipidy a tím se prodlouží trvanlivost výsledných vloček (Manley, 1998).

Rýžové vločky jsou lehce stravitelné a mají více možností způsobů výroby. Lze je vyrobit za pomoci pufování, rehydratací nebo pražením v oleji. Samotná výroba je z neloupané rýže, která se nechá namočit ve vodě alespoň 45 minut. Po dostatečném namočení se nechají zrna vysušit a praží se v pražičkách. Následně jsou zrna rozválnována na požadovanou tloušťku. Posledním krokem ve výrobě jsou síta, která zajistí jednu velikost výrobku (Guiné, 2013).



Obrázek 9 Schéma výroby vloček (Upraveno dle Girardet a Webster; 2011)

2.2 Extruzní výroba vloček

Za extrudovanou potravinu považujeme takovou, která byla vyrobena z obilnin za pomoci tepla a mechanických, třecích, smykových a tlakových sil. Oproti výrobě vloček hydrotermálním způsobem se extruzní výroba vyznačuje nižší vlhkostí, teplotou a kratší dobou výroby. Na základě těchto parametrů se tento způsob výroby označuje jako high temperature short time = HTST proces. Výhodou použití extruzní výroby je univerzálnost výroby, možnosti vytvoření různých velikostí a tvarů, větší automatizace výroby. Extruze probíhá v extrudéru, který během výroby zajistí všechny potřebné procesy, například míchání, homogenizaci, mletí, mazování škrobu a jiné procesy. Existuje více druhů extruderů, ale nejvíce využívané jsou jednošnekové pro mokrou nebo suchou extruzi a dvoušnekový extrudér. Jako pracovní jednotka slouží ve všech extrudérech jeden nebo dva šneky. Principem výroby u extruze je zahřátí suroviny, ztekucení, působení sil, tvorba struktury, konečný tvar výrobku.

Mezi výrobky, u kterých se nejvíce používá extruze patří těstoviny, popcorn a snídaňové cereálie, kde jsou základem vločky. Vločky jsou vyráběny z celých zrn, které byly předvařeny. Předvařená zrna jsou umístěna do komory, do které začne proudit horký vzduch, který zrna přivede k teplotě 300–400 °C. Celá výroba v komoře trvá asi 5 minut, kdy po uplynutí této doby se víko komory otevře, dojde k prudkému vyrovnání tlaku a díky tomu začnou zrna „pufovat“, tedy vylétávat z komory ven. Hotový výrobek (vločky) se sbírá, suší a třídí. V dnešní době jsou v oblibě už kontinuální linky na výrobu. Stejným způsobem můžeme vyrobit i výrobek známý jako rýžové burizony. Typická křupavost vloček je zajištěna právě jejich sušením a opékáním, čímž se zajistí vlhkost okolo 4 %. Vločky se udržují při teplotě asi 150 °C a následně se opékají při teplotách 200–300 °C. Po opečení se výrobky ochlazují proudícím studeným vzduchem. U toho způsobu výroby může být problém šedá barva, která vzniká v průběhu výroby. Problematiku řeší přidávání barviva, aby vznikla očekávaná bílá barva (Sumczynski, 2016; Maskan a Altan, 2012).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍL EXPERIMENTÁLNÍ PRÁCE

Cílem experimentální části diplomové práce je vyrobit vločky z rýžových zrn převážně s barevnými obalovými vrstvami a použít i vzorek zrn divoké rýže. U vyrobených vloček potom stanovit celkové polyfenoly, antioxidační aktivitu a polyfenolický profil pomocí HPLC.

4 METODIKA PRÁCE

4.1 Použité chemikálie, pomůcky a přístrojové vybavení

- Metanol (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- NaOH (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- HCl (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma Aldrich, Německo)
- Na₂CO₃ (Ing. Petr Lukeš, Česká republika)
- ABTS (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina) (Sigma Aldrich, Německo)
- K₂S₂O₈ (Ing. Petr Lukeš, Česká republika)
- CH₃COONa (Ing. Petr Lukeš, Česká republika)
- CH₃COOH (Ing. Petr Lukeš, Česká republika)
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Německo)
- Redestilovaná voda
- Acetonitril (Ing. Petr Švec, Penta, Česká republika)
- Standard kyseliny gallové (Sigma Aldrich, Německo)
- Standard troloxu (Sigma Aldrich, Německo)

- Běžné laboratorní sklo
- Keramické odpařovací misky
- Pasteurova pipetka
- Lékovky
- pH papírky
- Magnetické míchačky
- Vaříč ETA

- Mlýnek a vločkovač Waldner Biotech Combi-Star (Waldner Biotech GmbH, Rakousko)
- Sušárna Venticell (BMT, Česká republika)
- Analytické váhy Voyager PRO VP214C (Ohaus corporation Ltd., USA)
- Ultrazvuková lázeň PS 0400A (Notus-Powersonic s.r.o., SR)
- Odstředivka EBA 20 (Hettich Zentrifugen GmbH, Německo)
- Aparatura pro HPLC Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific Inc., USA)
 - Autosampler Dionex UltiMate 3000 WPS-3000 SL a WPS-3000 RS
 - Pumpa Dionex UltiMate 3000 SD
 - Kolona Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm x 4,6 mm; 5 µm)
 - Detektor Dionex Diode Array Detector DAD-3000 RS
 - Vyhodnocovací program Chromeleon 7 (verze 7.2.1.5537)
- Spektrofotometr SPECORD 210 Plus (Analytik Jena, Německo).

4.2 Charakteristika vzorků

Pro přípravu vloček byly použity 4 vzorky rýžových zrn a jeden vzorek zrn divoké rýže. Všechny 5 vzorků je komerčně prodáváných a jsou dostupné v tržní síti. Všechny vzorky zrn byly povařeny ve vodě o teplotě 95–98 °C (kontrolováno teploměrem) do konzistence konzumní (na skus) a následně z nich za pomoci vločkovače (Waldner Biotech CombiStar, Rakousko) byly vyrobeny vločky. Tyto byly potom sušeny v sušárně při teplotě do 35 °C (kvůli stabilitě polyfenolických látek) cca 5–8 hodin tak dlouho, až obsah vlhkosti ve vločkách byl nižší než 14 %. Všechny vzorky byly připravovány v laboratorních podmínkách v klimatizované laboratoři při 23 °C.

První byl vzorek bílé rýže, kde byla jako země původu uveden Pákistán. 1000 g vzorku bylo vloženo do neosolené vody o teplotě 95–98 °C, ve které byl vzorek vařen 15 minut, tedy do doby, než byla rýže uvařená na skus. Nutriční hodnoty vzorku jsou uvedeny v tabulce 1. Vzhledem k tomu, že vzorek bílých rýžových vloček nedržel tvar, není fotograficky prezentován.

Tabulka 1 Nutriční hodnoty vzorku zrn bílé rýže

Energie	365 kcal
Tuky	1,2 g
z toho nenasycené mastné kyseliny	0,3 g
Sacharidy	79 g
z toho cukry	0 g
Vláknina	0,7 g
Bílkoviny	8,4 g
Sůl	0 g

Druhý vzorek byl připraven z rýže dlouhozrné natural, jednalo se o vzorek rýže z Itálie. Opět bylo připraveno 1000 g rýžových zrn stejným způsobem, jako je popsáno výše, jen doba vaření zrn byla 25 minut. Nutriční hodnoty na obalu rýžových zrn jsou uvedeny v tabulce 2. Vzorek neuvařené dlouhozrné natural rýže je na obrázku 10 a vyrobené vločky jsou na obrázku 11.

Tabulka 2 Nutriční složení zrn dlouhozrné rýže natural

Energie	356 kcal
Tuky	2,5 g
z toho nenasycené mastné kyseliny	0,4 g
Sacharidy	75 g
z toho cukry	0,4 g
Vláknina	1,5 g
Bílkoviny	8,4 g
Sůl	< 0,01 g



Obrázek 10 Vzorek dlouhozrné rýže



Obrázek 11 Vločky dlouhozrné rýže

Jako třetí vzorek byly připraveny vločky z černé rýže. Tento byl původem z Itálie a doba tepelné úpravy byla 25 minut. Nutriční hodnoty z obalu zrn černé rýže jsou uvedeny v tabulce 3. Vzorek zrn černé rýže je na obrázku 12 a výsledné vločky jsou na obrázku 13.

Tabulka 3 Nutriční hodnoty zrn černé rýže

Energie	346 kcal
Tuky	3 g
z toho nenasycené mastné kyseliny	0,8 g
Sacharidy	67,9 g
z toho cukry	1,1 g
Vláknina	4,2 g
Bílkoviny	9,8 g
Sůl	0,002 g



Obrázek 12 Vzorek černé rýže



Obrázek 13 Vločky černé rýže

Čtvrtým vzorkem byla zrna červené rýže původem z Kambodže. Vzorek zrn byl povařen 25 minut na skus před vločkováním. Nutriční hodnoty, které jsou uvedeny na obale zrn rýže jsou v tabulce 4. Na obrázku 14 je zrno červené rýže, na obrázku 15 připravené vločky.

Tabulka 4 Nutriční hodnoty zrn červené rýže

Energie	346 kcal
Tuky	3 g
z toho nenasycené mastné kyseliny	0,8 g
Sacharidy	67,9 g
z toho cukry	1,1 g
Vláknina	4,2 g
Bílkoviny	9,8 g
Sůl	0,002 g



Obrázek 14 Vzorek červené rýže



Obrázek 15 Vločky červené rýže

Jako poslední, pátý vzorek, byly připraveny vločky ze zrn rýže divoké (také nazývané jako indiánské). Tento vzorek byl původem z USA. Zrna byla povařena po dobu 45 minut. Nutriční hodnoty z obalu výrobku jsou vypsány v tabulce 5. Vzorek zrn indiánské rýže je na obrázku 16 a připravené vločky na obrázku 17. Vločky z indiánské rýže byly připraveny ručně rozválčováním. Zrna jsou totiž velmi úzká a dlouhá, propadala vločkovačem a lámala se.

Tabulka 5 Nutriční hodnoty zrn indiánské rýže

Energie	360 kcal
Tuky	1 g
z toho nenasycené mastné kyseliny	0,2 g
Sacharidy	75 g
z toho cukry	3 g
Vláknina	6,2 g
Bílkoviny	15 g
Sůl	0 g



Obrázek 16 Vzorek indiánské rýže



Obrázek 17 Vločky indiánské rýže

4.3 Stanovení vlhkosti

Předem vysušené hliníkové misky byly zváženy s přesností na 0,1 mg. Do takto připravených misek byl navážen 1 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Vzorky byly vysušeny v sušárně při teplotě 130 ± 3 °C po dobu 120 minut. Po vychladnutí v exsikátoru byly vzorky znovu zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Metoda byla provedena dle normy ČSN ISO 712. Stanovení jednotlivých vzorků bylo provedeno 3x (ČSN ISO 712, 2003). Vlhkost byla vypočítána dle následujícího vzorce:

$$V = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} * 100 \quad (1)$$

m_0 – hmotnost navážky vzorků [g],

m_1 – hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g],

m_2 – hmotnost vysušené prázdné misky [g],

V – vlhkost [%].

4.4 Stanovení polyfenolů a antioxidační aktivity

Před samotnou extrakcí polyfenolů došlo k pomletí připravených rýžových vloček. Vločky byly pomlety za pomoci obilného mlýnku Waldner Biotech na stupeň nejjemnější mletí, kdy manuál udává velikost částic cca 10 μ m. Po pomletí jednotlivých vzorků se namleté vločky uchovávaly v uzavíratelných sáčkách bez přístupu světla a laboratorní teplotě 23 ± 2 °C.



Obrázek 18 Mlýnek a vložkovač Waldner Biotech

4.4.1 Extrakce volných polyfenolických látek

Byly připraveny tmavé lékovky, které byly důkladně vymyty, vysušeny a označeny dle příslušného vzorku. Do každé lékovky bylo naváženo 1,5 g vzorku (s přesností na 0,1 mg) předem rozemletých vloček a každý vzorek byl navážen 2x vedle sebe. Ke každé navážce bylo přidáno 15 ml 80% metanolu. Takto připravené vzorky byly vloženy na 30 minut do ultrazvukové lázně, aby došlo k extrakci volných polyfenolů. Po vytažení z ultrazvukové lázně byly vzorky ponechány 10 minut v klidu. Za pomoci Pasteurovy pipetky byl odsát metanolicý extrakt, který byl převeden do keramické odpařovací misky. Následovala opakovaná extrakce, kdy se ke zbytkům vzorků v lékovce přidalo dalších 10 ml 80% metanolu a vzorky byly vloženy na 30 minut opět do ultrazvukové lázně k extrakci. Po vytažení z ultrazvuku se vzorky nechaly opět stát 10 minut v klidu. Extrakt byl odsán Pasteurovou pipetkou a byl spojen s prvním extraktem v keramické odpařovací misce. Extrakty v odpařovacích miskách byly přemístěny na vodní lázeň a byly opatrně odpařeny do sucha. Teplota odpařovací vodní lázně byla nastavena na 70 °C. Odpařené extrakty do sucha byly roz-suspendovány v 10 ml 80% metanolem a byly přemístěny do 10ml odměrných baněk. Tyto připravené extrakty volných polyfenolů byly zfiltrány přes syringe filtr o velikosti pórů 0,2 μm do tmavých vialek a extrakt byl okamžitě injektován do HPLC Dionex Ultimate 3000. Zbýlý extrakt byl kvantitativně převeden do Eppendorfek

a zamrazení při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tyto extrakty byly v následujících dnech použity pro stanovení celkových polyfenolů (TPC) a antioxidačních aktivit (se zhášením radikálů ABTS a DPPH) (Qiu et al., 2009).



Obrázek 19 Extrakce vzorků v ultrazvukové lázni

4.4.2 Extrakce vázaných polyfenolických látek hydrolyzou v zásaditém prostředí

Pevný zbytek po extrakci volných polyfenolických látek byl v lékovkách zalit 20 ml 0,1 mol/l NaOH. Do takto připravených lékovek bylo vloženo míchadlo a vzorky se nechaly hydrolyzovat 4 hodiny na magnetické míchačce. Po 4 hodinách se upravila hodnota pH každého obsahu lékovky tak, aby se hodnota pH pohybovala v rozmezí 3–5. Hodnoty pH byly upravovány pomocí 6 mol/l HCl. Po upravení hodnoty pH byly vzorky odstředěny a přefiltrovány přes syringe filtry o velikosti pórů $0,45\text{ }\mu\text{m}$. Přefiltrované vzorky s vázanými polyfenoly byly plněny do tmavých vialek a jejich obsah byl ihned injektován do HPLC. Zbylý objem vzorků obsahujících vázané polyfenolické látky byl uchován v Eppendorfkách při mrazírenských teplotách ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) do dalších analýz stejně jako v případě volných polyfenolů (Qiu et al., 2009).



Obrázek 20 Vzorčky pro uchování do dalších analýz

4.5 Stanovení polyfenolů metodou HPLC/UV

Ke stanovení přítomnosti a obsahu jednotlivých polyfenolů ve vzorcích byla použita metoda HPLC s UV detekcí při které byla použita kolona Phenomenex Kinetex C 18 (150 mm × 4,6 mm; 5 μm). Využitá mobilní fáze byla tvořena dvěma složkami a stanovení probíhalo gradientově. Mobilní fáze A byla tvořena směsí redestilované vody a ledové kyseliny octové (99,8 %) v poměru 99:1. Mobilní fáze B byla tvořena směsí vody, acetonitrilu a ledové kyseliny octové (99,8 %) v poměru 67:32:1. Objem nástřiku na kolonu byl 10 μl a teplota kolony byla nastavena na 30 °C. Mobilní fáze protékala rychlostí 1 ml/min a délka analýzy trvala 45 minut. Měření na detektoru probíhalo při vlnových délkách 210, 254, 275 a 375 nm, odečítání ploch píků a jejich vyhodnocení probíhalo u všech analytů při vlnové délce 275 nm. Každý extrakt byl proměřen dvakrát, a tedy z každé frakce jednoho vzorku byly získány 4 hodnoty. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno pomocí softwaru Chromeleon™ 7.2 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Vyhodnocení bylo provedeno na základě retenčního času, plochy píku a případně byla použita metoda standardního přídatku. Kalibrační křivky byly sestrojeny jako závislost plochy píku na koncentraci daného analytu. Hodnoty korelačního koeficientu pro analyty byly vždy vyšší než 0,9887. Kalibrace pro jednotlivé polyfenolické kyseliny byly již připraveny a slouží pro účely měření na UACHP (Kotásková et al., 2016).

4.6 Stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuovy metody

Do předem připravených 10ml odměrných baněk bylo odměřeno 5 ml redestilované vody. K nim bylo přidáno 500 μ l extraktu vzorku volných nebo vázaných polyfenolů, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% Na_2CO_3 . Takto připravené odměrné baňky byly doplněny redestilovanou vodou po rysku a ponechány 30 minut v klidu v temnu. Po uplynutí této doby byla měřena absorbance vzorků na spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 765 nm proti blanku. Ze získaných hodnot absorbance a za pomoci rovnice lineární regrese, získané z kalibrační křivky standardu kyseliny gallové byl vypočten celkový obsah polyfenolů (TPC) ve vzorku. Tento byl vyjádřen jako množství ekvivalentu mg kyseliny gallové v 1 g vzorku. Z každého vzorku vložek byly připraveny tři sady opakování a ty následně byly proměřeny 4x, pro každý vzorek bylo tedy získáno 12 hodnot.



Obrázek 21 Vzorky pro stanovení TPC

4.6.1 Kalibrační křivka pro stanovení obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

Jako standard byla použita kyselina gallová, z níž byl připraven zásobní roztok tak, že se rozpustila kyselina gallová v metanolu na výslednou koncentraci 4 000 mg/l. Za pomoci ředění byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50, 100, 200, 400, 600 a 800 mg/l.

Do 10ml odměrné baňky bylo napipetováno 5 ml redestilované vody ke které bylo přidáno 500 μ l standardu, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% Na_2CO_3 . Takto připravené odměrné baňky byly doplněny redestilovanou vodou po rysky a uchovány 30 minut v temnu. Připravené jednotlivé koncentrace byly proměřeny pomocí spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 765 nm. Ze získaných hodnot byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance A na koncentraci c kyseliny gallové [mg/l].

4.7 Stanovení antioxidační aktivity za pomoci metody se zhášením radikálu ABTS

První krokem při tomto stanovení bylo připravit radikál kationtu ABTS (2,2-azinobis(3-ethyl2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonátu)), a to za pomoci reakce ABTS s peroxodisíranem draselným. Do 10ml odměrné baňky bylo naváženo 0,018 g ABTS a odměrná baňka byla doplněna redestilovanou vodou po rysku. K takto připravenému roztoku bylo přidáno 0,2 ml $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Peroxodisíran draselný byl předem připraven o koncentraci 0,06 mol/l. Takto připravená odměrná baňka s ABTS a přidaným peroxodisíranem byla ponechána v klidu a v temnu 16 hodin ke generaci radikálu.

Dalším krokem bylo připravení reakční směsi. Byl vytvořen octanový pufr smícháním 250 ml 0,2 mol/l CH_3COOH s 116,3 ml 0,2 mol/l CH_3COONa . Výsledný octanový pufr měl hodnotu pH 4,3. Pro vytvoření reakční směsi bylo smícháno 312 ml octanového pufru s 8 ml radikálu ABTS, tak aby byl dodržen poměr 39:1. Proti octanovému pufru byla změřena absorbance vytvořené reakční směsi při vlnové délce 734 nm.

Pro měření vzorků bylo v kádince smícháno 12 ml reakční směsi se 150 μ l vzorku. Takto připravená směs se nechala v klidu a temnu reagovat 30 minut. Následně byl změřen úbytek absorbance na spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 734 nm. Z úbytku absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace v %. Za pomoci rovnice získané z kalibrační křivky byla na základě hodnoty inaktivace vypočtena hodnota antioxidační aktivity, která byla vyjádřena v ekvivalentech troloxu (mg TE/g vzorku). Od každého vzorku byly připraveny dva extrakty v opakování, každý byl proměřen 4x, od každého vzorku bylo získáno 8 hodnot (Sumczynski et al., 2015).

4.7.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou se zhášením radikálu ABTS

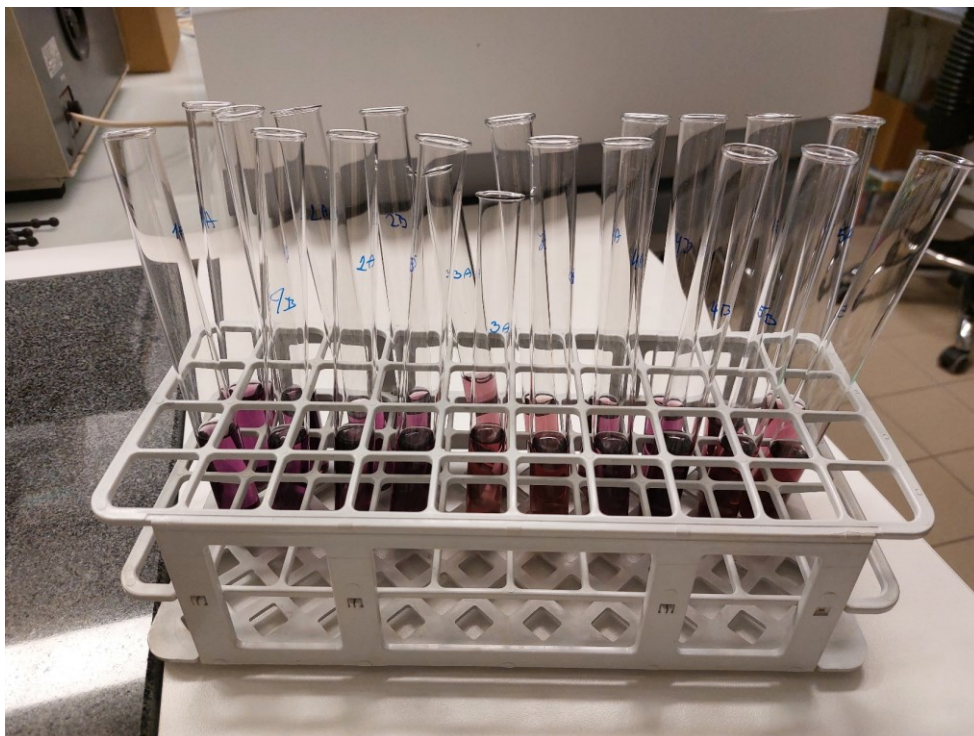
Standardem byl trolox, u kterého byl připraven zásobní roztok rozpuštěním v metanolu na koncentraci 0,4 mmol/l. Ze zásobního roztoku byla připravena kalibrační řada o koncentracích 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 a 0,30 mmol/l.

Jednotlivé koncentrace byly přidány ke 12 ml reakční směsi v objemu 150 μ l a byly uloženy na 30 minut do temna. Následně byly proměřeny na spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 734 nm. Z naměřených hodnot úbytku absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace v %. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu (mmol/l) (Sumczynski et al., 2015).

4.8 Stanovení antioxidační aktivity za pomoci zhášení radikálu DPPH

Před začátkem stanovení byl nachystán zásobní roztok syntetického radikálu DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu). Bylo naváženo 24 mg prášku DPPH, který byl rozpuštěn ve 100 ml metanolu. Takto připravený roztok byl dán do ultrazvukové lázně na 15 minut, aby došlo k dokonalému rozpuštění. Ze zásobního roztoku byl připraven pracovní roztok smícháním 100 ml směsi spolu se 450 ml metanolu. Byla změřena absorbance pracovního roztoku proti metanolu při vlnové délce 515 nm.

Pro samotné měření bylo odpipetováno 8,55 ml připraveného pracovního roztoku DPPH ke kterému bylo přidáno 450 μ l vzorku a takto připravený vzorek byl ponechán v klidu a temnu 60 minut. Po uplynutí doby byly proměřeny úbytky absorbance na spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 515 nm. Z úbytků absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace v %. Za pomoci rovnice lineární regrese získané z kalibrační křivky (závislost inaktivace na koncentraci troloxu) byla vypočtena antioxidační aktivita vzorku, vyjádřená jako ekvivalentní množství mg troloxu v 1 g vzorku. Od každého vzorku byly připraveny dvě sady a každá byla proměřena 4x, od každého vzorku bylo získáno 8 hodnot (Sumczynski et al., 2015).



Obrázek 22 Vzorčky pro stanovení antioxidační aktivity za pomoci DPPH

4.8.1 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou se zhášením radikálu DPPH

Jako standard při této metodě byl použit trolox, který byl připraven rozpuštěním v metanolu na potřebnou koncentraci 800 mg/l. Za pomoci ředění byla připravena kalibrační řada o koncentracích 40, 80, 120 a 160 mg/l.

Takto připravené koncentrace v množství 450 μ l byly smíchávány s 8,55 ml pracovního roztoku a uchovány po dobu 60 minut v temnu. Po uplynutí dané doby byly absorbance měřeny na spektrofotometru SPECORD 210 Plus při vlnové délce 515 nm. Ze získaných hodnot úbytků absorbance byla vypočtena hodnota inaktivace (%). Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu (mg/l) (Sumczynski et al., 2015).

4.9 Statistická analýza

Na základě získaných experimentálních dat bylo zvoleno vyhodnocení pomocí parametrického testu, při hladině významnosti 0,05. Byl použit Studentův *t*-test za účelem zjištění rozdílu u středních hodnot.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Veškeré výsledky jsou uvedeny ve formátu aritmetického průměru se směrodatnou odchylkou a byly statisticky zpracovány. Výsledky jsou porovnány s různými studii a diskutovány.

5.1 Výsledky stanovení vlhkosti

Vlhkost byla stanovena dle postupu, který je uvedený v kapitole 4.3. Z naměřených hodnot byla, dle vzorce 1, vypočtena vlhkost stanovovaných vzorků rýžových vloček. Výsledky vlhkosti jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6 Stanovení vlhkosti

Vzorek	Vlhkost [%]
Vločky bílé rýže	5,57±0,20 ^a
Vločky rýže natural	5,95±0,20 ^b
Vločky černé rýže	5,24±0,12 ^c
Vločky červené rýže	5,72±0,11 ^d
Vločky divoké rýže	6,27±0,11 ^e

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=3). Výsledky ve sloupcích se stejnými malými písmennými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$).

Vlhkost různých vzorků rýžových vloček se pohyboval v rozmezí od 5,24 do 6,27 %. Nejvyšší vlhkost měl vzorek vloček z divoké rýže. Dle vyhlášky č. 18/2020 Sb. o požadavcích na mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta je požadovaná vlhkost rýžových vloček do 14 % (Vyhláška č. 18/2020 Sb.). Všechny testované vzorky vloček tuto vyhlášku splňují. Vlhkost patří mezi jeden z jakostních parametrů u mlýnských obilných výrobků, který se sleduje z důvodu vlivu na oxidační stabilitu a s tím spojenou nežádoucí mikrobiologickou aktivitou. Jelikož vločky patří mezi trvanlivé výrobky je potřeba dodržovat požadovaný maximální obsah vlhkosti, aby nedošlo k předčasnému stárnutí výrobku. Mikrobiologické kažení objevující se v důsledku vyšší vlhkosti se nejvíce projevuje výskytem plísní s následnou tvorbou mykotoxinů (Sumczynski, 2016).

5.2 Výsledky stanovení polyfenolů metodou HPLC/UV

Pro stanovení polyfenolického profilu jednotlivých vzorků, bylo měřeno 21 analytů. Za pomoci rovnic lineární regrese z kalibračních křivek bylo vypočítáno množství jednotlivých polyfenolických látek ve všech vzorcích rýžových vloček. Všechny výsledky, jak pro volné, tak vázané polyfenolické látky jsou uvedeny v tabulkách 7 a 8.

V profilu volných polyfenolických látek byla nejvíce zaznamenána kyselina ellagová, která byla detekována ve 4 z 5 testovaných vzorků. Tato kyselina nebyla detekována ve vzorku vloček z divoké rýže. Kyselina gallová, etylester kyseliny protokatechové, kyseliny kávová a sinapová byly detekovány ve 3 z 5 vzorků. V žádném z testovaných vzorků nebyla stanovena kyselina chlorogenová, epigallokatechin a katechin. Vločky z bílé rýže obsahují z volných polyfenolických látek kyselinu ellagovou (5,63 $\mu\text{g/g}$), etylester kyseliny protokatechové (1,51 $\mu\text{g/g}$) a kyselinu kávou (5,02 $\mu\text{g/g}$). Ve vločkách z bílé rýže nebyly detekovány žádné flavonoidy a přes velmi nízké obsahy 3 detekovaných polyfenolů, lze očekávat, že tento vzorek bude mít velmi nízkou antioxidační aktivitu, která úměrně souvisí s obsahem polyfenolů. Ve vzorku vloček z dlouhozrnné rýže natural bylo detekováno 9 volných polyfenolických látek. Ze skupiny derivátů kyseliny hydroxybenzoové byly detekovány kyseliny gallová (1,73 $\mu\text{g/g}$), 4-hydroxybenzoová (2,93 $\mu\text{g/g}$), ellagová (9,49 $\mu\text{g/g}$) a etylester kyseliny protokatechové (2,46 $\mu\text{g/g}$). Ze skupiny derivátů kyseliny hydroxyskořicové byly ve vzorku detekovány kyseliny kávová (0,71 $\mu\text{g/g}$), *trans-p*-kumarová (4,38 $\mu\text{g/g}$), ferulová (13,6 $\mu\text{g/g}$) a sinapová (3,37 $\mu\text{g/g}$). Posledním zástupcem z polyfenolického profilu vloček z rýže dlouhozrnné natural byl epikatechin (2,48 $\mu\text{g/g}$), který spadá do skupiny flavonoidů. Přestože se nejedná o druh vloček z rýže s barevnými obalovými vrstvami, je to vzorek vloček z rýže, která má částečně zachovány obalové vrstvy, což se jednoznačně projevilo na obsahu jednotlivých polyfenolických látek. Vločky ze vzorku černé rýže obsahovaly celkově 12 volných polyfenolických látek. Ze standardů derivátů kyseliny hydroxybenzoové byly v tomto vzorku zastoupeny kyseliny gallová (4,17 $\mu\text{g/g}$), 3,4-dihydroxybenzoová (90,1 $\mu\text{g/g}$), vanilová (7,43 $\mu\text{g/g}$), ellagová (3,99 $\mu\text{g/g}$) a etylester kyseliny protokatechové (6,51 $\mu\text{g/g}$). Ze zástupců derivátů kyseliny hydroxyskořicové se v těchto vločkách vyskytují kyseliny neochlorogenová (14,6 $\mu\text{g/g}$), kávová (7,37 $\mu\text{g/g}$), *trans-p*-kumarová (3,98 $\mu\text{g/g}$), sinapová (4,30 $\mu\text{g/g}$) a *trans*-skořicová (1,86 $\mu\text{g/g}$). Flavonoidy byly zastoupeny epikatechinem (244 $\mu\text{g/g}$) a rutinem (16,3 $\mu\text{g/g}$). Nejen kvůli hojnému zastoupení polyfenolických látek, ale taky kvůli jejich vysokému obsahu lze očekávat, že vzorek vloček vyrobených z černé rýže, bude mít vysokou

antioxidační aktivitu. Vločky vyrobené z červených vloček byly překvapivě na volné polyfenolické látky chudé, obsahovaly pouze kyseliny 3,4-hydroxybenzoovou (4,93 µg/g), 4-hydroxybenzoovou (3,69 µg/g) a ellagovou (6,26 µg/g). Vločky tedy obsahovaly pouze zástupce derivátů kyseliny hydroxybenzoové. Posledním analyzovaným vzorkem byly vločky z divoké rýže. V těchto vločkách bylo detekováno celkem 6 volných polyfenolických látek. Byly detekovány kyseliny gallová (174 µg/g), syringová (9,33 µg/g), sinapová (208 µg/g), *trans*-2-hydroxyskořicová (91,8 µg/g), kaempferol (40,2 µg/g) a kvercetin (97,7 µg/g).

U vázaných polyfenolických látek byla ve všech testovaných vzorcích rýžových vloček zastoupena kyselina ellagová. Druhou nejvíce zastoupenou polyfenolickou látkou byla kyselina ferulová, která byla zastoupena ve 3 z 5 testovaných vzorků. Kyseliny vanilová, syringová, 4-hydroxybenzoová, ethylester kyseliny protokatechové, kyseliny neochlorogenová, chlorogenová, *trans*-skořicová, epigallokatechin, katechin a epikatechin nebyly detekovány v žádném testovaném vzorku vloček. U vázaných polyfenolických látek byla ve vzorku vloček z bílé rýže detekována pouze kyselina ellagová (25,3 µg/g). U vloček vyrobených ze vzorku rýže dlouhozrnné natural byly detekovány kyseliny 3,4-dihydroxybenzoová (15,3 µg/g), ellagová (628 µg/g), kávová (4,34 µg/g), ferulová (49,1 µg/g) a kvercetin (114 µg/g). Tyto vločky obsahovaly celkem 5 vázaných polyfenolických látek a spolu s vločkami z divoké rýže, které stejně tak obsahují 5 polyfenolických látek to jsou vzorky, které byly nejvíce bohaté na vázané polyfenolické látky. Vločky vyrobeny z černé rýže obsahovaly celkem 4 vázané polyfenolické látky. Konkrétně se jednalo o kyselinu ellagovou (395 µg/g), kávovou (13,8 µg/g), ferulovou (33,6 µg/g) a kvercetin (101 µg/g). Ve vločkách červené rýže byly detekovány kyseliny ellagová (395 µg/g), ferulová (23,1 µg/g) a kaempferol (8,91 µg/g). Vzorek vloček z divoké rýže obsahoval kyseliny gallovou (140 µg/g), ellagovou (171 µg/g), sinapovou (56,2 µg/g), *trans*-2-hydroxyskořicovou (8,70 µg/g) a rutin (53,9 µg/g).

Na obsah polyfenolických látek, a tedy i výslednou antioxidační aktivitu má vliv, jakým způsobem byly vločky připraveny. Studie Tang et al. (2016) prokázala, že povařením rýžového zrna ve vodě po dobu 35 minut dojde ke snížení celkového obsahu polyfenolů o 42 %. Vařením zrn se snižuje koncentrace zejména volných derivátů kyseliny hydroxyskořicové, přičemž by se měla zvyšovat koncentrace derivátů hydroxybenzoových kyselin. Tento jev je zapříčiněn tím, že hydrotermální proces podporuje více uvolňování hydroxybenzoových kyselin z obalových vrstev zrn. Hydrotermální proces by taky měl

zvýšovat minimálně o 40 % vyvazování vázaných polyfenolických látek a flavanoidů. Považením rýžového zrna ve vodě se snižuje i úbytek celkových flavonoidů (Min et al., 2014; Fares et al., 2010).

Tabulka 7 Výsledky stanovení volných polyfenolických látek pomocí HPLC

Volné polyfenoly [μg/g]	Vločky bílé rýže	Vločky rýže natural	Vločky černé rýže	Vločky červené rýže	Vločky divoké rýže
<i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i>					
gallová	ND	1,73±0,02 ^a	4,17±0,13 ^b	ND	174±7 ^c
3,4-dihydroxy- benzoová	ND	ND	90,1±1,0 ^a	4,93±0,34 ^b	ND
4-hydroxy- benzoová	ND	2,93±0,15 ^a	ND	3,69±0,37 ^b	ND
vanilová	ND	ND	7,43±0,40	ND	ND
syringová	ND	ND	ND	ND	9,33±0,37
ellagová	5,63±0,30 ^a	9,49±0,27 ^b	3,99±0,11 ^c	6,26±0,52 ^d	ND
etyléster protokatechové	1,51±0,28 ^a	2,46±0,10 ^b	6,51±0,47 ^c	ND	ND
<i>Deriváty kyseliny hydroxyskořicové</i>					
neochlorogenová	ND	ND	14,6±1,2	ND	ND
chlorogenová	ND	ND	ND	ND	ND
kávová	5,02±0,40 ^a	0,71±0,02 ^b	7,37±0,22 ^c	ND	ND
<i>trans-p</i> -kumarová	ND	4,38±0,30 ^a	3,98±0,10 ^b	ND	ND
ferulová	ND	13,6±0,4	ND	ND	ND
sinapová	ND	3,37±0,20 ^a	4,30±0,05 ^b	ND	208±2 ^c
<i>trans-2</i> - hydroxyskořicová	ND	ND	ND	ND	91,8±3,1
<i>trans</i> -skořicová	ND	ND	1,86±0,04	ND	ND
<i>Flavonoidy</i>					
epigallokatechin	ND	ND	ND	ND	ND
katechin	ND	ND	ND	ND	ND
epikatechin	ND	2,48±0,22 ^a	244±1 ^b	ND	ND
rutin	ND	ND	16,3±0,3	ND	ND
kaempferol	ND	ND	ND	ND	40,2±2,0
kvercetin	ND	ND	ND	ND	97,7±1,3

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v rádcích se stejnými malými písmennými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými

písemnými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$). ND – nedetekováno. Hodnoty LOQ: kyseliny gallová, 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hydroxybenzoová, kávová, vanilová, siringová, *trans-p*-kumarová, chlorogenová, *trans*-skořicová, *trans*-2-hydroxyskořicová a keampferol 0,01 µg/g, kyselina sinapová, ferulová, ellagová, etylester protokatechové kyseliny 0,04 µg/g, kvercetin, katechin, epigallocatechin, epikatechin, rutin and neochlorogenová kyselina 0,05 µg/g.

Tabulka 8 Výsledky stanovení vázaných polyfenolických látek pomocí HPLC

Vázané polyfenoly [µg/g]	Vločky bílé rýže	Vločky rýže dlouhozrnná natural	Vločky černé rýže	Vločky červené rýže	Vločky divoké rýže
<i>Deriváty kyseliny hydroxybenzoové</i>					
gallová	ND	ND	ND	ND	140±3
3,4-dihydroxybenzoová	ND	15,3±1,4	ND	ND	ND
4-hydroxybenzová	ND	ND	ND	ND	ND
vanilová	ND	ND	ND	ND	ND
siringová	ND	ND	ND	ND	ND
ellagová	25,3±0,6 ^a	628±1 ^b	519±3 ^c	395±3 ^d	171±2 ^e
etylester protokatechové	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Deriváty kyseliny hydroxyskořicové</i>					
neochlorogenová	ND	ND	ND	ND	ND
chlorogenová	ND	ND	ND	ND	ND
kávová	ND	4,34±0,64 ^a	13,8±3,3 ^b	ND	ND
<i>trans-p</i>-kumarová	ND	ND	ND	ND	ND
ferulová	ND	49,1±0,9 ^a	33,6±1,5 ^b	23,1±1,0 ^c	ND
sinapová	ND	ND	ND	ND	56,2±3,0
<i>trans</i>-2-hydroxyskořicová	ND	ND	ND	ND	8,70±0,71
<i>trans</i>-skořicová	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Flavonoidy</i>					
epigallocatechin	ND	ND	ND	ND	ND
katechin	ND	ND	ND	ND	ND
epikatechin	ND	ND	ND	ND	ND
rutin	ND	ND	ND	ND	53,9±1,9
kaempferol	ND	ND	ND	8,91±0,7	ND
kvercetin	ND	114±2 ^a	101±3 ^b	ND	ND

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr \pm SD ($n=4$). Výsledky v řádcích se stejnými malými písemnými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými písemnými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$). ND – nedetekováno. Hodnoty LOQ: kyseliny gallová, 3,4-dihydroxybenzoová, 4-hydroxybenzoová, kávová, vanilová, siringová, *trans-p*-kumarová, chlorogenová, *trans*-skořicová, *trans*-2-hydroxyskořicová a keampferol 0,01 $\mu\text{g/g}$, kyselina sinapová, ferulová, ellagová, etylester protocatechové kyseliny 0,04 $\mu\text{g/g}$, kvercetin, catechin, epigallocatechin, epikatechin, rutin and neochlorogenic acid 0,05 $\mu\text{g/g}$.

5.3 Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí

Folin-Ciocalteuovy metody

Dle tabulky 9 je zřejmé, že se celkový obsah polyfenolických látek ve volné formě u testovaných vzorků vloček pohyboval v rozmezí od 0,25 do 0,54 mg GAE/g. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u vzorku vloček vyrobených z rýže dlouhozrné natural původem z Itálie s obsahem 0,54 mg GAE/g. Naopak nejnižší obsah byl zaznamenán u vzorku vloček z divoké rýže pocházející z USA. Obsah vázaných polyfenolů v testovaných vzorcích se pohyboval v rozmezí od 0,32 do 1,01 mg GAE/g. Výjimku v tomto stanovení tvořil vzorek vloček z bílé rýže pocházející z Pákistánu. U tohoto vzorku nebyl obsah polyfenolů vůbec detekován. I po větším přídávku vzorku, dle návodu v kapitole 4.6, se vzorek nezbarvil dostatečně tak, aby se dal proměřit na spektrofotometru. Min et al. (2014) publikoval ve své studii, že zrna rýže s barevnými obalovými vrstvami obsahují celkových polyfenolických látek více ve vázané formě než ve formě volné, což se potvrdilo i u naší studie. Stejná studie upozornila na to že, vzorky bílé nebo dlouhozrné rýže mají naopak více celkových polyfenolů ve volné formě. Na vyšší obsah polyfenolických látek ve volné formě, oproti vázané, u zrn rýže bílé, celozrné či loupané upozornila i studie Scaglioni et al. (2014). To se stanovením TPC podařilo prokázat pouze u vzorku vloček z rýže dlouhozrné natural. Naopak Kong a Lee (2010) a Shao et al. (2014) uvedli ve svých pracích vyšší množství vázaných polyfenolických látek než volných polyfenolů v rýžích s barevnými obalovými vrstvami. Je tedy zřejmé že u stanovení TPC nemusí být podstatná barva rýže, ale spíše je důležitá odrůda. Při pohledu na profil jednotlivých polyfenolů stanovený za pomoci metody HPLC, který je uvedený v tabulkách 7 a 8, lze říct, že i toto stanovení potvrzuje výsledky zmíněné studie Min et al (2014). Přestože za pomoci metody TPC nebylo možno ve vzorku bílých rýžových vloček polyfenoly detekovat, při pohledu do tabulek 7 a 8 bylo detekováno více polyfenolických látek ve volné formě než ve vázané u barevných vloček. To, že se nepovedlo stanovit celkový obsah za pomoci TPC bylo nejspíš způsobeno velmi nízkým obsahem polyfenolických látek ve vzorku, jak je i zřejmé z tabulek

7 a 8. U vzorků vloček vyrobených z černých a červených rýžových zrn byl celkový obsah polyfenolů, dle statistických údajů stejný. U vzorku vloček černé rýže byl obsah stanoven na 1,35 mg GAE/g, vzorek vloček z červené rýže obsahoval celkově 1,34 mg GAE/g. Vzorek vloček z divoké rýže pak obsahoval celkově 0,73 mg GAE/g.

Tabulka 9 Výsledky stanovení TPC ve frakcích polyfenolů

Vzorek	Volné TPC [mg GAE/g]	Vázané TPC [mg GAE/g]	Celkem TPC [mg GAE/g]
Vločky rýže natural	0,54±0,01 ^a	0,32±0,01 ^a	0,86±0,02 ^a
Vločky černé rýže	0,53±0,05 ^a	0,82±0,07 ^a	1,35±0,08 ^b
Vločky červené rýže	0,33±0,02 ^b	1,01±0,04 ^b	1,34±0,05 ^b
Vločky divoké rýže	0,25±0,03 ^c	0,48±0,01 ^c	0,73±0,03 ^c

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=12). Výsledky ve sloupcích se stejnými malými písmennými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$).

5.4 Výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci metod se zhášením radikálů DPPH a ABTS

Z tabulky 10 s výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci reakce testované látky s DPPH lze říct, že nejvyšší antioxidační aktivitu měl vzorek vloček vyrobený z černé rýže s 1,24 mg TE/g. Nejnižší hodnotu 0,71 mg TE/g měl vzorek vloček z bílé rýže. Při měření antioxidační aktivity za pomoci metody se zhášením radikálu ABTS, která využívá vytvoření radikálu ABTS^{•+}, který je následně zhášen antioxidačními látkami vzorku byla nejvyšší hodnota AOA naměřena u vzorku vloček z černé rýže, kde hodnota činila 6,79 mg TE/g, druhá nejvyšší hodnota byla naměřena u vzorku vloček z červené rýže s hodnotou 5,87 mg TE/g. Nejnižší hodnotu, stejně jako při metodě se zhášením radikálu DPPH, měl vzorek vloček z bílé rýže 3,09 mg TE/g. Jelikož je každá metoda založena na jiném principu, tak se naměřené hodnoty nedají navzájem porovnávat. Přesto však spolu naměřené hodnoty korelují. Hodnota antioxidační aktivity vzorků potom klesala v tomto pořadí vločky z černé rýže > vločky z červené rýže > vločky z rýže dlouhozrné natural > vločky z divoké rýže > vločky z bílé rýže. Min et al. (2014) a Scaglioni et al. (2014) udávají ve své studii výsledky o tom, že zrna rýže, které mají barevné obalové vrstvy mají vyšší antioxidační aktivitu ve volné formě polyfenolických frakcí než ve formě vázané, což koresponduje s našimi

naměřenými daty. Výjimku opět tvořily vzorky vloček z bílé rýže a vzorek vyrobený z rýže dlouhozrné natural, které měly vyšší antioxidační aktivitu ve vázané formě. To také potvrzuje studie Min et al. (2014) a studie Scaglioni et al. (2014).

Tabulka 10 Výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci zhášení radikálu DPPH

Vzorek	AOA volné DPPH [mg TE/g]	AOA vázané DPPH [mg TE/g]	AOA celkem DPPH [mg TE/g]
Vločky bílé rýže	0,26±0,02 ^b	0,45±0,02 ^d	0,71±0,02 ^a
Vločky rýže natural	0,09±0,01 ^a	0,77±0,01 ^a	0,86±0,10 ^b
Vločky černé rýže	0,67±0,02 ^c	0,57±0,09 ^c	1,24±0,09 ^c
Vločky červené rýže	0,62±0,02 ^e	0,43±0,04 ^c	1,05±0,05 ^d
Vločky divoké rýže	0,52±0,02 ^b	0,26±0,01 ^b	0,78±0,02 ^e

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=8). Výsledky ve sloupcích se stejnými malými písmennými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$).

Tabulka 11 Výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci zhášení radikálu ABTS

Vzorek	AOA volné ABTS [mg TE/g]	AOA vázané ABTS [mg TE/g]	AOA celkem ABTS [mg TE/g]
Vločky bílé rýže	1,22±0,02 ^a	1,87±0,10 ^a	3,09±0,11 ^a
Vločky rýže natural	1,31±0,01 ^b	4,04±0,54 ^b	5,35±0,54 ^b
Vločky černé rýže	4,78±0,01 ^c	2,01±0,24 ^c	6,79±0,24 ^c
Vločky červené rýže	4,33±0,38 ^d	1,54±0,06 ^d	5,87±0,38 ^d
Vločky divoké rýže	3,38±0,01 ^d	0,96±0,07 ^e	4,34±0,07 ^e

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=8). Výsledky ve sloupcích se stejnými malými písmennými indexy mezi sebou statisticky významné rozdíly nevykazují ($p \geq 0,05$). Výsledky s odlišnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky liší ($p < 0,05$).

Výsledky z jednotlivých měření vzájemně korelují. Vzorek vloček, který byl připravený ze zrn černé rýže se po všech stanoveních projevil jako vzorek s nejvyšším obsahem polyfenolů a s tím spojenou nejvyšší antioxidační aktivitou. Z profilu jednotlivých polyfenolických látek byl znatelný vysoký obsah polyfenolů a tento fakt byl ověřen za pomoci Folin-Ciocalteho metody, která stanovuje celkový obsah polyfenolických látek. Kdy při tomto stanovení vyšly vločky z černé rýže spolu s vločkami z červené rýže jako vzorky s nejvyšším obsahem celkových polyfenolů. Vysoký obsah polyfenolických látek se odrazil i při stanovování antioxidační aktivity za pomoci metod se zhášením radikálů DPPH a ABTS. I při těchto stanoveních byla u vzorku vloček z černé rýže naměřena nejvyšší aktivita. Druhý vzorek s nejvyšší antioxidační aktivitou byly vločky z červené rýže. Přestože tento vzorek na jednotlivé polyfenoly stanoveny za pomoci metody HPLC nebyl úplně bohatý jeho antioxidační aktivita byla vysoká. Je možné, že na tento vzorek negativně působila doba varu, při kterém se povařila zrna červené rýže, a tak došlo k většímu vyluhování polyfenolů. Vzorek vloček vyrobených z rýže dlouhozrné natural, která pocházela z Itálie, byl překvapivě bohatý jak na celkový obsah polyfenolů, tak i na antioxidační aktivitu. Vliv na obsah polyfenolů má i země původu, ze kterého vzorek pochází. Vločky připravené ze vzorku divoké rýže měl překvapivě nízký obsah polyfenolů i antioxidační aktivity. Studie provedená Liyana-Pathirana et al. (2006) uvedla, že varem zrn rýže s černými obalovými vrstvami ve vodě po dobu 35 minut dochází ke snížení antioxidační aktivity u o 7–9 %. Vzorek divoké rýže byl pro přípravu vloček vařen ve vodě 45 minut, jednalo se o nejdelší dobu přípravy. Divoká rýže má černé obalové vrstvy a lze usuzovat dle Liyana-Pathirana et al. (2006), že doba přípravy měla významný vliv na obsah polyfenolických látek a následnou antioxidační aktivitu. Dle očekávání nejhůře dopadl vzorek vloček připravených z bílé rýže, který neobsahuje prakticky žádné obalové vrstvy. Tento vzorek měl velmi nízký obsah polyfenolických látek stanovených jak metodou HPLC, tak spektrofotometricky (tam nebylo možno polyfenoly detekovat). U antioxidační aktivity, která byla stanovována metodou s využitím radikálů DPPH a ABTS byly hodnoty toho vzorku velmi nízké.

Právě polyfenoly, které jsou obsaženy v obalových vrstvách příznivě působí na lidské zdraví. Působí jako prevence proti kardiovaskulárním onemocněním, diabetu a jiným chronickým onemocněním. Konzumací potravin s vysokou antioxidační aktivitou by se mohlo předcházet těmto onemocněním (Shahidi a Ambigaipalan, 2015).

ZÁVĚR

V teoretické části diplomové práce byly popsány druhy vybraných obilovin a pseudoobilovin. Část teoretické práce byla věnována chemickému složení zrn rýže (*Oryza sativa*) a divoké rýže (*Zizania aquatica*) a výrobě vloček. Pro výrobu rýžových vloček, které byly v práci analyzovány byla použita metoda hydrotermálního ošetření s následným rozválním zrn. Byly vybrány vzorky rýže bílé, dlouhozrné natural, černé, červené a zrna divoké rýže. Jednotlivý profil polyfenolů byl stanoven za pomoci metody HPLC, následně byl stanoven celkový obsah polyfenolů metodou TPC. Pro stanovení antioxidační aktivity byly zvoleny metody se zhášením radikálů DPPH a ABTS.

Po provedení jednotlivých analýz vzorek vloček vyrobených ze zrn černé rýže vykazoval nejvyšší obsah polyfenolických látek a s tím spojenou nejvyšší antioxidační aktivitu ze všech testovaných vzorků. Vločky černé rýže měly bohatý polyfenolický profil, který byl nejvíce zastoupený ve volné formě epikatechinem a rutinem, které spadají do flavonoidů. Hojně zastoupená byla i kyselina 3,4-dihydroxybenzoová, která spadá do skupiny derivátů kyseliny hydroxybenzoové. Z formy vázaných polyfenolických látek byla nejvíce zastoupena kyselina ellagová, kvercetin a kyselina ferulová. Nejnižší hodnoty u všech stanovení měl vzorek vloček vyrobený ze zrn bílé rýže. Tento vzorek měl velmi chudý polyfenolický profil, který byl ve volné formě zastoupen kyselinou ellagovou, etylesterem kyseliny protokatechové a kyselinou kávovou. Vázaná forma byla zastoupena pouze jedinou polyfenolickou látkou, a to kyselinou ellagovou. Vločky z bílé rýže měly nejnižší antioxidační aktivitu a spektrofotometrickou metodou pro stanovení TPC nebylo možno polyfenoly detekovat.

Při analýzách použitých v této diplomové práci byl zjištěn a potvrzen příznivý vliv přítomnosti barevných obalových vrstev na obsah polyfenolů s výslednou vyšší hodnotou antioxidační aktivity. Výsledkem práce může být i doporučení k vhodnému doplnění jídelníčku o rýžové vločky nebo přímo zrna s barevnými obalovými vrstvami. V oblasti analýzy rýžových vloček by bylo dobré věnovat se jejich stravitelnosti a jak tato ovlivní uvolňování jednotlivých polyfenolů při procesu trávení.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

10 GLUTEN-FREE GRAINS FOR EVERYONE. *Naked food magazine* [online]. 2013 [cit. 2023-03-27]. Dostupné z: <https://nakedfoodmagazine.com/10-gluten-free-grains-for-everyone/>

Alvarez-Jubete, L. et al. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 106-113

ANTOINE, Johann M.R. et al., 2012. Dietary intake of minerals and trace elements in rice on the Jamaican market. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 26(1-2), 111-121 [cit. 2023-04-14]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2012.01.003

ARENDDT, E. a E. ZANNINI, 2013. *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Woodhead Publishing Limited. ISBN 978-0-85709-413-1.

BAVEC, Franc a Martina BAVEC. *Organic production and use of alternative crops* [online]. Boca Raton: CRC/Taylor, 2007 [cit. 2023-02-14]. ISBN 978-142-0017-427. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/isbn/9781420017427>

BENDA et al., 2005. *Biologie II*. 3. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-402-5.

Biochemie – přednášky: *Polysacharidy, 2023*. Web2.mendelu.cz [online]. Brno: AF Mendelu, 2023 [cit. 2023-02-12]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1662&typ=html

BUREŠOVÁ, Iva a Eva LORENCOVÁ, 2013. *Výroba potravin rostlinného původu: zpracování obilovin*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7454-278-7.

CARDOSO, Leandro De Morais et al., 2017. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Food Science and Nutrition* [online]. 2017, (57), 372-390 [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/10408398.2014.887057?needAccess=true&role=button>

ČESKO, 2020. Vyhláška č. 18/2020 Sb.: *Vyhláška o požadavcích na mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta*. In: . Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, ročník 2020, částka 8, číslo 18. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2020-18>

ČSN EN ISO 712 (461014): *Obiloviny a výrobky z obilovin – Stanovení vlhkosti – Referenční metoda*. Praha: Český normalizační institut, 2003.

Experts from The Mayo Clinic, 2002. 8.2.1 *Bread*. In: *Encyclopedia of Foods: A Guide to Healthy Nutrition*. Elsevier. ISBN 978-0-12-219803-8.

FARES, Clara et al., 2010. Effect of processing and cooking on phenolic acid profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta enriched with debranning fractions of wheat. *Food Chemistry* [online]. 119(3), 1023-1029 [cit. 2023-05-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.08.006

GIRARDET, N. a F.H. WEBSTER, 2011. *Oats: Chemistry and technology*. 2nd ed. St. Paul, Minn.: American Association of Cereal Chemists International. ISBN 978-189-1127-649.

GUINÉ, Raquel de Pinho Ferreira. *Engineering aspects of cereal and cerealbased products* [online]. Boca Raton: CRC Press, 2013 [cit. 2023-02-28]. ISBN 978-143-9887-035. Dostupné z: <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/b15246/engineering-aspects-cereal-cereal-based-products-paula-maria-dos-reis-correia-raquel-de-pinho-ferreira-guine>

HABIYAREMYE, Cedric et al. MATANGUIHAN, 2017. *Proso Millet (Panicum miliaceum L.) and Its Potential for Cultivation in the Pacific Northwest, U.S: A Review*. *Frontiers in Plant Science*. 7. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.01961

HOU, Zhaohua et al. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International* [online]. 2013, 691-697 [cit. 2023-02-28]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911004856?via%3Dihub>

KONG, Suhyun a Junsoo LEE, 2010. Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. *Food Chemistry* [online]. 120(1), 278-281 [cit. 2023-05-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.089

KOTÁSKOVÁ, Eva et al., 2016. Determination of free and bound phenolics using HPLC-DAD, antioxidant activity and in vitro digestibility of *Eragrostis tef*. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 46, 15-21 [cit. 2023-04-14]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2015.11.001

LIYANA-PATHIRANA, Chandrika et al., 2006. Antioxidant Properties of Wheat As Affected by Pearling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 54(17), 6177-6184 [cit. 2023-05-04]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf060664d

MANLEY, D., 1998. *Oats. In: Biscuit, Cookie and Cracker Manufacturing: Manual 1 - Ingredients*. Woodhead Publishing, s. 26-27. ISBN 978-1-85573-292-6.

MASKAN, Medeni a Aylin ALTAN, 2012. *Advances in Food Extrusion Technology* [online]. Boca Raton: CRC Press [cit. 2023-03-06]. ISBN 9780429131325. Dostupné z: <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/b11286/advances-food-extrusion-technology-aylin-altan-medeni-maskan>

MIN, Byungrok et al., 2014. Effects of hydrothermal processes on antioxidants in brown, purple and red bran whole grain rice (*Oryza sativa* L.). *Food Chemistry* [online]. 159, 106-115 [cit. 2023-04-18]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.164

Nariadení Komise (EU) č. 432/2012, 2012. In: . Úřední věstník Evropské unie, ročník 2012. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:136:0001:0040:CS:PDF>

NIRO, S. et al. (2019). Gluten-free alternative grains: Nutritional evaluation and bioactive compounds. *Foods*, 8, 208

P. C., Morris a Bryce J. H., 2002. *Cereal Biotechnology*. Woodhead Publishing. ISBN 978-1-85573-498-2.

PAN, Zhongli a Ragab KHIR, 2019. *Advances in Science & Engineering of Rice*. DEStech Publications. ISBN 978-1-60595-191-1.

PETR, Jiří a Jozef HÚSKA et al., 1997. *Speciální produkce rostlinná I: Obecná část a obilniny*. Praha: Česká zemědělská univerzita, Agronomická fakulta. ISBN 80-213-0152-X.

PŘÍHODA, Josef et al., 2004. *Cereální chemie a technologie I: Cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 80-7080-530-7.

QIU, Yang et al., Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry* [online]. 2009, (121), 140-147 [cit. 2023-04-14].

ISSN 0308-8146. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0308814609014241>

Quinoa bílá, 2023. Ochutnejorech.cz [online]. [cit. 2023-03-27]. Dostupné z: <https://www.ochutnejorech.cz/quinoa-bila-559>

SALEH, Ahmed S.M. et al., 2013. Millet Grains: Nutritional Quality, Processing, and Potential Health Benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 8.4.2013, 12(3), 281-295 [cit. 2023-03-09]. Dostupné z: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12012>

SCAGLIONI, Priscila Tessmer et al., 2014. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. *Journal of Cereal Science* [online]. 60(3), 526-532 [cit. 2023-05-04]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2014.08.005

SHAHIDI, Fereidoon a Priatharini AMBIGAIPALAN, 2015. *Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. Journal of functional foods*. Elsevier, (18), 820-897.

SHAO, Yafang et al., 2014. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science* [online]. 59(2), 211-218 [cit. 2023-05-04]. ISSN 07335210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2014.01.004

SUMCZYNSKI, Daniela a Zuzana BUBELOVÁ, 2015. Stanovení nutričních charakteristik, vlákniny a stravitelnosti barevných druhů rýže. *Chemické Listy* [online]. Praha: Chemické listy, 8. 8. 2014, (109), 147-150 [cit. 2023-02-10]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_02_147-150.pdf

SUMCZYNSKI, Daniela et al., 2015. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chemistry* [online]. 174, 319-325 [cit. 2023-04-14]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.065

SUMCZYNSKI, Daniela et al., 2017. Contribution of individual phenolics to antioxidant activity and in vitro digestibility of wild rices (*Zizania aquatica* L.). *Food Chemistry* [online]. 1. 3. 2017, (218), 107-115 [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814616314443?via%3Dihub>

SUMCZYNSKI, Daniela, 2016. Jakost netradičních surovin a jejich využitelnost v technologii výroby cereálních směsí. Zlín. *Habilitační práce*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

ŠŤASTNÁ, K. et al. (2019). The nutritional value of non-traditional gluten-free flakes and their antioxidant activity. *Antioxidants*, 8, 565

TANG, Yayuan, Weixi CAI a Baojun XU, 2016. From rice bag to table: Fate of phenolic chemical compositions and antioxidant activities in waxy and non-waxy black rice during home cooking. *Food Chemistry* [online]. 191, 81-90 [cit. 2023-04-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.001

TICHÁ, Markéta a Petra VYZÍNOVÁ, 2006. AMARANT. *Multimediální skriptum* [online]. Brno: Veterinární univerzita Brno [cit. 2023-02-22]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/laskavec.htm>

TICHÁ, Markéta a Petra VYZÍNOVÁ, 2006. AMARANT. *Multimediální skriptum* [online]. Brno: Veterinární univerzita Brno [cit. 2023-02-22]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/pohanka.htm>

TICHÁ, Markéta a Petra VYZÍNOVÁ, 2006. AMARANT. *Multimediální skriptum* [online]. Brno: Veterinární univerzita Brno [cit. 2023-02-22]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/proso.htm>

YU, Xiuting et al., 2020. Wild rice (*Zizania* spp.): A review of its nutritional constituents, phytochemicals, antioxidant activities, and health-promoting effects. *Food Chemistry* [online]. 30.11. 2020, (331), 1-15 [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620311559>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ČR	Česká republika
°C	stupně Celsia
TPC	celkový obsah polyfenolů
ABTS	2,2-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)
DPPH	(2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl)
pH	záporný dekadický logaritmus vodíkových iontů
ND	nedetekováno
LOQ	množství analytu, který lze s definovanou přesností ještě stanovit

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Řez obilkou pšenice	12
Obrázek 2 Zrno amarantu (Tichá a Vyzínová, 2006)	15
Obrázek 3 Obrázek 4 Zrno quinoi (ochutnejorech.cz, 2023)	16
Obrázek 4 Zrno pohanky (Tichá a Vyzínová, 2006)	17
Obrázek 5 Zrno prosa (Tichá a Vyzínová, 2006)	18
Obrázek 6 Zrno teffu (Naked Food Magazine, 2013)	19
Obrázek 7 Stavba rýžového zrna	21
Obrázek 8 Amylóza a amylopektin (web2.mendelu.cz, 2023).....	22
Obrázek 9 Schéma výroby vloček (Upraveno dle Girardet a Webster; 2011)	27
Obrázek 10 Vzorek dlouhozrnné rýže	33
Obrázek 11 Vločky dlouhozrnné rýže	33
Obrázek 12 Vzorek černé rýže.....	34
Obrázek 13 Vločky černé rýže.....	34
Obrázek 14 Vzorek červené rýže.....	35
Obrázek 15 Vločky červené rýže.....	35
Obrázek 16 Vzorek indiánské rýže	36
Obrázek 17 Vločky indiánské rýže	36
Obrázek 18 Mlýnek a vločkovač Waldner Biotech	37
Obrázek 19 Extrakce vzorků v ultrazvukové lázni	38
Obrázek 20 Vzorky pro uchování do dalších analýz	39
Obrázek 21 Vzorky pro stanovení TPC	40
Obrázek 22 Vzorky pro stanovení antioxidační aktivity za pomoci DPPH	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Nutriční hodnoty vzorku zrn bílé rýže.....	33
Tabulka 2 Nutriční složení zrn dlouhozrné rýže natural.....	33
Tabulka 3 Nutriční hodnoty zrn černé rýže	34
Tabulka 4 Nutriční hodnoty zrn červené rýže	34
Tabulka 5 Nutriční hodnoty zrn indiánské rýže.....	35
Tabulka 6 Stanovení vlhkosti	44
Tabulka 7 Výsledky stanovení volných polyfenolických látek pomocí HPLC.....	47
Tabulka 8 Výsledky stanovení vázaných polyfenolických látek pomocí HPLC.....	48
Tabulka 9 Výsledky stanovení TPC ve frakcích polyfenolů	50
Tabulka 10 Výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci zhášení radikálu DPPH.	51
Tabulka 11 Výsledky stanovení antioxidační aktivity za pomoci zhášení radikálu ABTS.	51