

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Kateřina Veselá

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Antioxidační kapacita a sorpční vlastnosti rostlinných doplňků
stravy

Bakalářská práce

2021

Kateřina Veselá

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Antioxidant capacity and sorption properties of plant-based
supplements

Bachelor thesis

2021

Kateřina Veselá

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Veselá**
Osobní číslo: **C18112**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Antioxidační kapacita a sorpční vlastnosti rostlinných doplňků stravy**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Zpracovat teoretickou rešerši na téma rostlinných doplňků stravy, zejména jejich účinky na zdraví a možné způsoby přípravy. V rámci teoretické části práce zapracujte také informace o metodách využitých při experimentální práci. Použijte dostupné databáze odborných a recenzovaných periodik (knih).
2. U vybraných vzorků stanovte antioxidační kapacitu a sorpční vlastnosti.
3. Výsledky vyhodnoťte pomocí odpovídajících statistických metod a kriticky diskutujte s již publikovanými daty.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Antioxidační kapacita a sorpční vlastnosti rostlinných doplňků stravy jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 02. 07. 2021

Kateřina Veselá

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat doc. Ing. Liborovi Červenkovi, Ph.D. za odborné vedení mé práce, za jeho čas, cenné poznámky a poskytnutí literatury a dalších podkladů k tomuto tématu se vztahujících. Ráda bych také poděkovala doc. Ing. Alešovi Hornovi, CSc. z Institutu Nutrice a Diagnostiky s.r.o. za možnost využití výzkumné laboratoře pro experimentální část této práce s podnětnými radami a s odbornou pomocí. Děkuji také Ing. Jaroslavu Hradílkovi, Ph.D. za pomoc při gramatické kontrole práce.

ANOTACE

Práce se soustředí na vybrané rostlinné doplňky stravy z řas, mladých výhonků obilnin, listů keře čajovníku, listů stromů a bylin ve formě prášků, jejich pěstování, zpracování a nutriční využití. Popisuje jednotlivé bioaktivní látky, které se v rostlinných materiálech vyskytují, zabývá se problematikou antioxidantů, metodami používanými k hodnocení antioxidační kapacity různých druhů látek a měřením sorpčních vlastností pro vyobrazení sorpčních izoterm.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antioxidační aktivita, Sorpční izotermy, Rostlinné doplňky stravy

ANNOTATION

This work focuses on selected plant-based supplements from micro algae, cereal grasses, tree leaves and herbs in a form of green powders. Describes their cultivation, processing, nutritional use and bioactive substances. Research and experimental part focuses on a topic of antioxidants, methods used to evaluate the antioxidant capacity and measurement of sorption properties to describe sorption isotherms.

KEYWORDS

Antioxidant activity, Sorption Isotherms, Plant-based food supplements

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

- AA... Kyselina arachidonová
- ABTS+ ... 2,2'-azinobis (3-ethyl-2,3- dihydrobenzothiazol-6- sulfonát)
- aw (water activity)... Aktivita vody
- BHA... Butylovaný hydroxyanisol
- BHT... Butylovaný hydroxytoluen
- C... Jednotka elektrického náboje Coulomb
- CAT... Kataláza
- DHA... Kyselina dokosaheptaenová
- DHBA... Kyselina dihydroxybenzoová
- DMPD... N, N-dimethyl-1,4-diaminobenzen
- DPPH... 2,2-difeny-1-pikrylhydrazylu
- ECD (electro chemical detection)... Elektro – Chemická detekce
- EGC... Epigalokatechin
- EGCG... Epigalokatechin galát
- EKG... Epikatechin gallát
- EPA... Kyselina eikosapentaenová
- ESR... Elektronová spinová rezonance
- FIA (flow injection analysis)... Analýza vstřikování toku
- FRAP (Ferric reduction antioxidant power)... Antioxidační síla redukce železitého iontu
- GABA... Kyselina gama-aminomáselná
- GAE... Kyselina galová
- GLA... Kyselina linolenová
- GSHpx... Glutathionperoxidáza
- HAT (hydrogen atom transfer) ... Přenos atomu vodíku
- HPLC (high performance liquid chromatography)... Vysoko-účinná kapalinová chromatografie
- ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)... Absorpční kapacita kyslíkových radikálů
- PUFA... Polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
- R-PE... R-fykoerythrin
- SET (single electron transfer) ... Přenos jednoho elektronu
- SOD... Superoxid dismutáza
- TBHQ... Terc-butyl hydrochinon
- TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)... Ekvivalence antioxidační kapacity troloxu
- TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)... Celkový antioxidační parametr zachycování radikálů
- Trolox... 6- hydroxy- 2,5,7,8- tetramethylchroman -2- karboxylová kyselina

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

<i>Obrázek 1. Ilustrace atomu kyslíku, volného radikálu způsobeného ztrátou elektronu a atomu s donorem elektronu tzv. antioxidantu</i>	13
<i>Obrázek 2. Schéma působení oxidačního stresu</i>	14
<i>Obrázek 3. Chemická struktura chlorofylu – A: porfyrinový kruh B: postranní řetězce Zdroj: Reaxys®</i>	18
<i>Obrázek 4. Chemické struktury běžných karotenoidů, Zdroj: Reaxys®</i>	19
<i>Obrázek 5. Obecná chemická struktura flavonoidů, Zdroj: Reaxys®</i>	20
<i>Obrázek 6. Fenolové kyseliny – kyselina benzoová a kyselina skořicová, Zdroj: Reaxys®</i>	20
<i>Obrázek 7. Chlorella Vulgaris, zvětšení 400x [11]</i>	29
<i>Obrázek 8. Spirulina platensis- A: měřítko 40 µm, B: měřítko 20 µm [14]</i>	31
<i>Obrázek 9. Mladé obilniny A: Mladý ječmen [21] B: Mladá pšenice, Zdroj: Wikimedia Commons</i>	33
<i>Obrázek 10. Kopřiva Dvoudomá – Urtica Dioica, Zdroj: Wikimedia Commons</i>	34
<i>Obrázek 11. Pampeliška lékařská – Taraxacum officinale, Zdroj: Wikimedia Commons</i>	36
<i>Obrázek 12. A: Listy stromu Moringa Oleifera [34] B: Strom Moringa Oleifera [33]</i>	37
<i>Obrázek 13. Listy čajovníku čínského – Camellia sinensis, Zdroj: Wikimedia Commons</i>	39
<i>Obrázek 14. Proces zpracování vybraných přírodních doplňků stravy</i>	43
<i>Obrázek 15. Fázový diagram vody, Solid=pevné, liquid=kapalné, Gas=plynné, Triple point= trojný bod [40]</i>	44
<i>Obrázek 16. Typy adsorpčních izoterm, osa x: aktivita vody, osa y: vlhkost [47]</i>	48
<i>Obrázek 17. Zobecněné sorpční izotermy pro potraviny [47]</i>	49
<i>Obrázek 18. Typy hysterezních smyček [46]</i>	51
<i>Obrázek 19. Postup přípravy vzorku pro FIA/ECD analýzu antioxidačních aktivit</i>	54
<i>Obrázek 20. Postup přípravy vzorku pro spektrofotometrickou analýzu antioxidačních aktivit</i>	54
<i>Obrázek 21. A: Celá aparatura CoulArray B: Vkládání připravených vialek do autosampleru</i>	56
<i>Obrázek 22. Záznam analýzy FIA/ECD</i>	57
<i>Obrázek 23. Kalibrační křivka DHBA z FIA/ECD</i>	58
<i>Obrázek 24. Grafické znázornění výsledků analýzy měření antioxidační aktivity FIA/ECD v C na g prášků</i>	59
<i>Obrázek 25. Grafické znázornění výsledků spektrofotometrické analýzy měření antioxidační aktivity metodou DPPH</i>	60
<i>Obrázek 26. Grafické znázornění sorpčních vlastností vybraných doplňků stravy z mikrořas (A- Chlorella, B- Spirulina) a obilnin (C – Mladá pšenice, D – Mladý ječmen)</i>	61
<i>Obrázek 27. Grafické znázornění sorpčních vlastností vybraných doplňků stravy z bylin (A – Kopřiva, B– Pampeliška) a z listů stromu a keře (C – Moringa, D – Matcha)</i>	62
<i>Tabulka 1. Porovnání procent proteinu, tuku a vlákniny v sušině vybraných rostlin [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]</i>	40
<i>Tabulka 2. Porovnání obsahu minerálních látek v mg/100g sušiny [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]</i>	41
<i>Tabulka 3. Porovnání obsahu vitamínu C, E a pigmentů v mg/100 g [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]</i>	42
<i>Tabulka 4. Rozdělení vlhkosti potravin podle aktivity vody [41]</i>	46
<i>Tabulka 5. Časové rozložení jednotlivých sekvencí analýzy metodou FIA/ECD</i>	57
<i>Tabulka 6. Naměřené hodnoty absorbance a procenta inhibice DPPH u vzorků prášků</i>	60

OBSAH

1	TEORETICKÁ ČÁST.....	13
1.1	ANTIOXIDANTY.....	13
1.1.1	<i>Volné radikály</i>	13
1.1.2	<i>Oxidační stres</i>	14
1.1.3	<i>Dělení antioxidantů</i>	15
1.2	PŘÍRODNÍ LÁTKY.....	16
1.2.1	<i>Primární metabolity</i>	17
1.2.2	<i>Sekundární metabolity</i>	19
1.3	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA A JEJÍ MĚŘENÍ.....	20
1.3.1	<i>Mechanismus působení antioxidantů</i>	21
1.3.2	<i>Antioxidační aktivita přírodních látek</i>	21
1.3.3	<i>Detekce a způsoby měření antioxidační aktivity</i>	21
1.4	VYBRANÉ PŘÍRODNÍ DOPLŇKY STRAVY.....	26
1.4.1	<i>Mikrořasy</i>	27
1.4.2	<i>Mladé obilniny</i>	31
1.4.3	<i>Byliny</i>	33
1.4.4	<i>Listy stromu</i>	36
1.4.5	<i>Zelený čaj</i>	38
1.4.6	<i>Porovnání látek ve vybraných doplňcích stravy</i>	40
1.5	ZPRACOVÁNÍ VYBRANÝCH PŘÍRODNÍCH DOPLŇKŮ STRAVY.....	43
1.5.1	<i>Sušení</i>	43
1.5.2	<i>Mletí a skladování</i>	45
1.6	VODA A SORPČNÍ VLASTNOSTI.....	45
1.6.1	<i>Aktivita vody</i>	46
1.6.2	<i>Sorpční izotermy</i>	47
1.6.3	<i>Sorpční hystereze</i>	49
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	52
2.1	POMŮCKY A POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	52
2.2	EXTRAKCE VZORKŮ.....	53
2.3	POSTUP MĚŘENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU FIA-ECD.....	55
2.4	POSTUP MĚŘENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY SPEKTROFOTOMETRICKOU METODOU.....	56
2.5	STANOVENÍ SORPČNÍCH IZOTEREM A HYSTEREZE.....	56
3	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	57
3.1	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA STANOVENÁ METODOU FIA-ECD.....	57
3.2	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA STANOVENÁ SPEKTROFOTOMETRICKY.....	59
3.3	SORPČNÍ IZOTERMY A HYSTEREZE.....	60
4	ZÁVĚR.....	64
5	POUŽITÁ LITERATURA.....	65

ÚVOD

Potraviny rostlinného původu tvoří odjakživa významnou část našeho jídelníčku. Látky poskytnuté přírodou mohou být pro naše zdraví velice prospěšné. Ovoce, zelenina, luštěniny, obiloviny, čaj i káva mají velmi příznivé nutriční i energetické vlastnosti a jsou cenným zdrojem bioaktivních látek. Obecně se doporučuje konzumace potravin rostlinného původu a v posledních letech je jejich úloze v lidském zdraví věnována zvýšená pozornost. Lidé si uvědomují, že to, co do sebe přijímají jako součástí stravy se přímo odráží na jejich zdraví. Bylo potvrzeno, že alternativní terapie založená na přírodních léčbách může hrát velmi užitečnou roli při léčbě mnoha onemocnění.

Všechny rostlinné potraviny mají jedno společné, u všech se mluví se o jejich bohatém nutričním profilu. Mají vysoký obsah fytochemikálií, což jsou obecně rostlinné látky. Díky nim mají své vlastnosti, jako je barva, vůně a chuť. Dále díky nim mají vysokou antioxidační aktivitu a společně s tím mnoho pozitivních vlivů na zdraví člověka.

V této práci se zaměřím na 8 mnou vybraných přírodních doplňků stravy. Zakoupené doplňky se na první pohled se zdají být stejné. Všechny prošly podobným procesem zpracování, který vedl ke stejnému výsledku, a to k vysušenému zelenému prášku. Každý ale pochází z jiné kategorie rostlin, z jiného světového pásma a obsahuje jiné látky. Řasy jsou pro své nutriční vlastnosti široce komerčně využívány, zato o doplňcích stravy z listů stromů a keřů se příliš často nemluví. Některé pro nás velmi blízké byliny také mohou být zajímavými alternativními zdroji funkčních potravin.

Cílem této práce je udělat obecný přehled o antioxidační aktivitě a antioxidantech, změřeni antioxidační aktivity vybraných přírodních doplňků stravy elektro-chemickou metodou a radikálovou metodou a potvrdit jejich korelaci. V další části se práce zaměří na určování sorpčních vlastností prášků. Cílem je vyobrazit sorpční izotermy jednotlivých vzorků a porovnat, zda jejich tvary a hystereze souvisí s jejich základním složením.

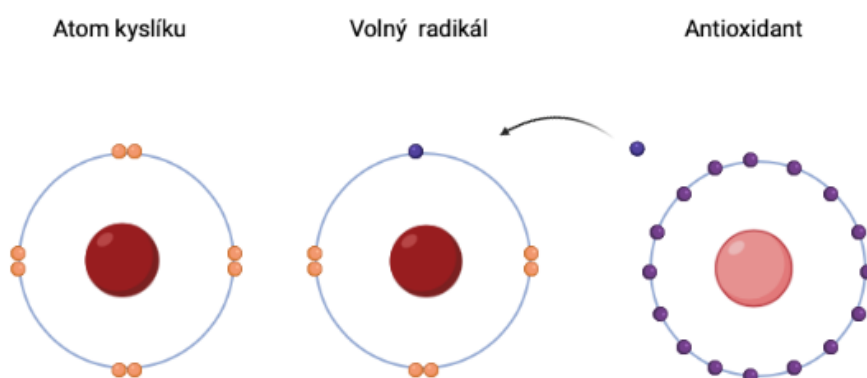
1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Antioxidanty

Antioxidanty neboli látky s antioxidační aktivitou jsou všechny látky, které díky své struktuře molekul zabraňují oxidaci. Ať už v potravinách, kam se přidávají jako konzervanty, tak i v lidském organismu kde hrají zcela zásadní roli v boji proti volným radikálům [1, 2, 3, 4].

1.1.1 Volné radikály

Volné radikály jsou molekuly, atomy nebo ionty, které obsahují alespoň jeden nepárový elektron ve valenční sféře a jsou schopné samostatné existence. Nejznámější volné radikály jsou reaktivní formy dusíku a kyslíku (hydrogenperoxylový, superoxidový, peroxilový a hydroxylový radikál). Na Obrázku 1 je ilustrace volného radikálu, který vznikl z atomu kyslíku a antioxidant, který jako donor elektronu slouží k neutralizaci volného radikálu.



Obrázek 1. Ilustrace atomu kyslíku, volného radikálu způsobeného ztrátou elektronu a atomu s donorem elektronu tzv. antioxidantu

Volné radikály v našem organismu vznikají jako běžný vedlejší produkt látkové výměny v buňkách. Jsou to přirozené produkty dýchání a mitochondriální syntézy.

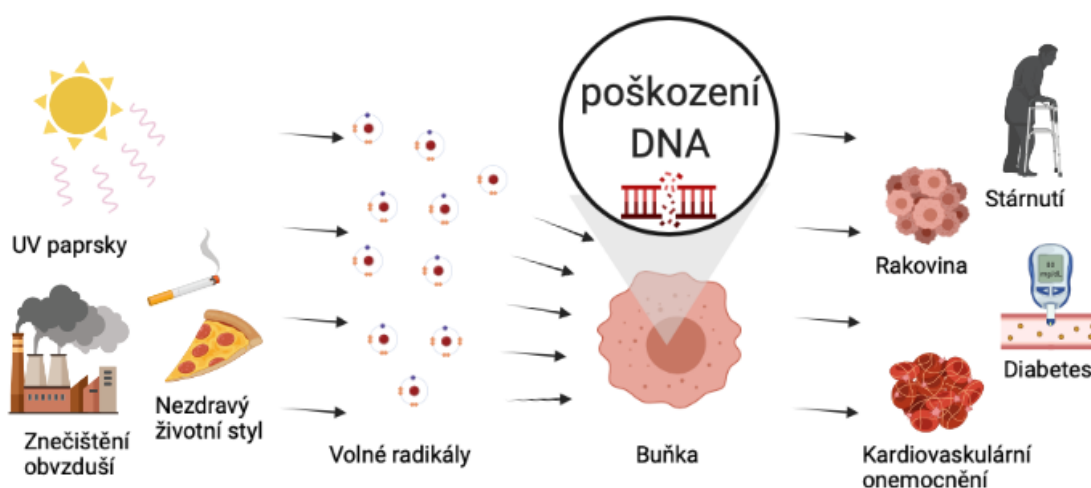
Volné radikály plní v organismu řadu životně důležitých fyziologických funkcí. Jsou například produkovány leukocyty a makrofágy pro likvidaci bakterií, nebo ve spermiích k průniku do vajíčka. Nesmí se však tvořit v nadměrném množství, v takovém případě vzniká oxidační stres [1, 2, 3].

1.1.2 Oxidační stres

Oxidační stres je stav, při kterém výskyt volných radikálů v těle přesáhne možnosti endogenní regulace. Sám lidský organismus je vybaven ochrannými antioxidantními systémy, které mohou reaktivní radikály pohlcovat, nebo jejich tvorbu brzdít. Je ale zapotřebí jejich dostatečné množství.

Oxidační stres je v zásadě způsoben dvěma hlavními mechanismy. Snížením koncentrace antioxidantů v organismu, nebo se zvýšením počtu reaktivních látek. Může tomu tak nastat vlivem vnitřních (nezdravý způsob stravování, poruchy metabolismu) a vnějších (životní podmínky, kouření) faktorů.

Volné radikály jsou vysoce nestabilní a při jejich nadměrném množství rychle reagují s okolními molekulami a vyvolávají tak silný oxidační stres, který může být pro tělo velmi škodlivý. Jak je vyobrazeno v Obrázku 2, volné radikály poškozují buňky, napadají lipidy, cukry, proteiny nebo deoxyribonukleové kyselinu. Stávají se tak nebezpečné a mohou být příčinou rozvoje závažných patologických projevů. Dochází k urychlení procesu degenerace a stárnutí buněk, narušení přirozené obranyschopnosti organismu a poškození genetického vybavení buňky. Výsledkem jsou chronická onemocnění, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, diabetes a rakovina [1, 2].



Obrázek 2. Schéma působení oxidačního stresu

1.1.3 Dělení antioxidantů

Látky s antioxidační aktivitou lze rozdělit podle dvou kritérií. Různé látky mají různé mechanismy působení, rychlost působení, strukturu, charakter a původ [3, 4].

1.1.3.1 Dělení antioxidantů podle rozpustnosti

Antioxidanty se podle rozpustnosti dělí na:

- Rozpustné ve vodě
- Rozpustné v tucích

To, zda jsou antioxidační látky rozpustné ve vodě (hydrofilní) nebo v lipidech (hydrofobní) je důležitá kategorizace, protože vnitřek našich buněk a tekutina mezi nimi jsou složeny převážně z vody, ale buněčné membrány jsou z velké části vyrobeny z lipidů. Antioxidanty rozpustné v tucích (jako jsou vitamíny E a A, karotenoidy a kyselina lipoová) se tedy primárně nacházejí v buněčných membránách, zatímco antioxidanty rozpustné ve vodě (jako je vitamin C, polyfenoly a glutathion) jsou přítomny ve vodných tělesných tekutinách, jako je krev a tekutiny uvnitř a kolem buněk (cytosol nebo cytoplazmatická matrice). Volné radikály mohou zasáhnout obsah vodnatých buněk nebo tukovou buněčnou membránu, takže buňka potřebuje obranu pro oba [3].

1.1.3.2 Dělení antioxidantů podle původu

Podle původu látky s antioxidační aktivitou dělíme na syntetické a přírodní, které se dále dělí na enzymatické a neenzymatické.

- Syntetické

Látky působící jako antioxidanty chrání potraviny před žluknutím tuků, z čehož vyplývá, že jsou velmi důležité i jako přídatná látka do zpracovaných potravin. Pro tyto účely byly vyvinuty synteticky vyrobené fenolické antioxidanty. Přidávají se do potravin záměrně za účelem zabránění oxidace lipidů během zpracování a skladování. Většina syntetických antioxidantů je fenolového typu. Rozdíly v jejich antioxidačních aktivitách souvisejí s jejich chemickými strukturami, které také ovlivňují jejich fyzikální vlastnosti, jako je těkavost, rozpustnost a tepelná stabilita. Komerčně dostupnými a v současné době používanými syntetickými antioxidanty jsou butylovaný hydroxyanisol (BHA), butylovaný hydroxytoluen (BHT) a terc-butyl hydrochinon (TBHQ) [2, 3].

- Přírodní
 - Enzymatické

Enzymatické antioxidanty mají schopnost volné radikály rozkládat a odstraňovat. Tyto antioxidační enzymy vyplavují nebezpečné oxidační produkty, ty přemění na peroxid vodíku a poté na vodu. Takový vícestupňový proces vyžaduje řadu kofaktorů stopových kovů (měď, zinek, mangan a železo). Tyto enzymatické antioxidanty nelze doplňovat orálně, ale převážně musí být produkovány v našem těle. Příkladem může být:

- Superoxid dismutáza (SOD), který je podporován mědí, zinkem, manganem a železem, štěpí superoxid na kyslík a peroxid vodíku.
- Kataláza (CAT): Převádí peroxid vodíku na vodu a kyslík (pomocí kofaktorů železa a manganu), a tím dokončuje proces detoxikace, který zahájil SOD.
- Glutathionperoxidáza (GSHpx) a glutathionreduktáza: Tyto enzymy obsahující selen pomáhají štěpit peroxid vodíku a organické peroxidy na alkoholy.

- Neenzymatické

Neenzymatické antioxidanty přerušují řetězovou reakci volných radikálů. Řadíme sem obecně látky nacházející se v rostlinách viz. kapitola 1.2 Přírodní látky, jako jsou:

- Fenolické sloučeniny
- Karotenoidy
- Vitamíny a jejich deriváty (vitamíny A, E a K, vitamín C)
- Minerální látky (selen, zinek)
- Další (proteiny, kofaktory, organosírové sloučeniny, neproteinové sloučeniny dusíku)

1.2 Přírodní látky

Rostliny jsou z výživového hlediska velmi důležitými zdroji bioaktivních látek, které podporují zdraví člověka. Těmito látkám se říká fytochemikálie a jsou nedílnou součástí lidské stravy. Fytochemikálie mají mnoho potenciálních benefitů pro lidský organismus, je to ale stále nedostatečně prozkoumaná oblast. Za primární užitečnou vlastnost konzumace fytochemikálií se považuje právě jejich vysoká antioxidační aktivita. Tyto přírodní látky mají skvělou strukturální rozmanitost a variace v chemickém složení a nacházejí se v téměř všech rostlinách,

mikroorganismech, houbách, a dokonce i ve zvířecí tkáni. V rostlinách se vyskytují ve všech částech (listy, stonky, kořeny, ovoce i semena). Tyto látky jsou v rostlinách přítomné odjakživa, ale lidstvo o jejich existenci ví zhruba 100 let. Jejich obrovské množství zapříčiňuje jedinečnost každé rostliny, protože právě tyto látky mají na starosti jejich vzhled, strukturu, barvu, chuť i vůni. Roli v senzorických vlastnostech, jako je chuť a vůně hrají silice (esenciální oleje), což jsou těkavé látky složené z terpenů, esterů, alkoholů a ketonů. Barvu zapříčiňují pigmenty karotenoidy, chlorofyly a flavonoidy. Fytochemikálie jsou v zásadě kategorizovány jako primární nebo sekundární metabolity rostlin [5].

1.2.1 Primární metabolity

Primární metabolity jsou ty látky, které se přímo podílí na růstu, vývoji a reprodukce rostliny. Patří sem:

- Sacharidy a jednoduché cukry, bílkoviny a aminokyseliny, tuky a mastné kyseliny
- Puriny a pirimidiny nukleových kyselin
- Hormony, enzymy
- Ostatní organické látky (kyseliny, alkoholy)
- Pigmenty

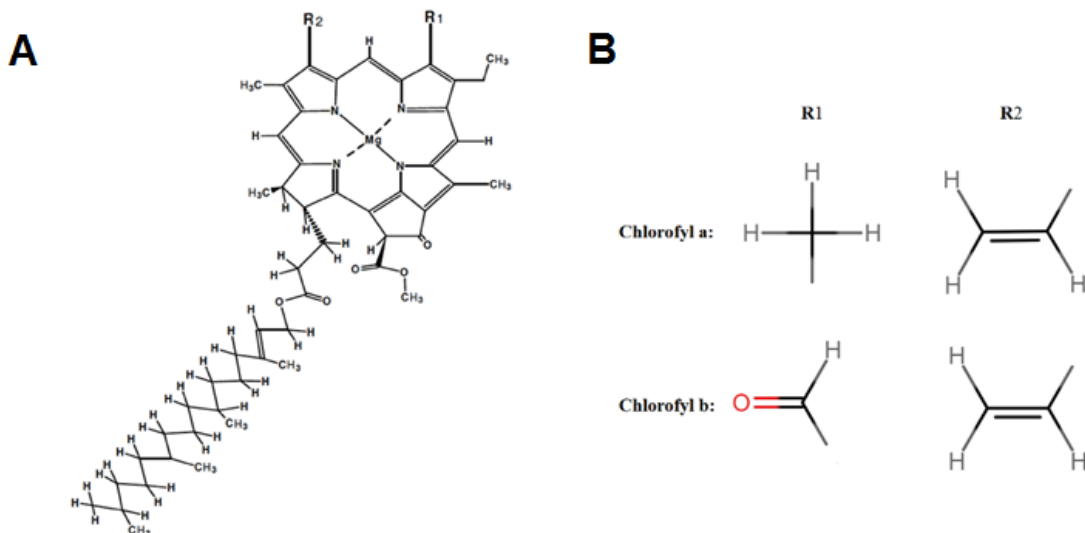
Z hlediska antioxidační aktivity rostlin, mezi nejdůležitější primární metabolity patří výše zmíněné enzymy a pigmenty chlorofyl a karotenoidy.

1.2.1.1 Chlorofyl

Chlorofyl je nejčastěji se vyskytující přírodní zelený pigment. Nachází se v chloroplastech většiny rostlin. Dalo by se říct, že je to ta nejdůležitější organická molekula, protože hraje klíčovou roli ve fotosyntéze. Existuje více forem chlorofylové struktury, ale v zelených potravinách se vyskytují pouze dvě [6]:

- *Chlorofyl a* je zeleno-žlutý primární fotosyntetický pigment, který přenáší světelnou energii na chemický akceptor. Chlorofyl *a* pohlcuje modré a červené světlo, tudíž odráží vlnovou délku, která se lidskému oku jeví zeleně. Světlo, které je absorbováno, poskytuje energii pro fotosyntézu.
- *Chlorofyl b* je modrozelený doplňkový pigment ve fotosyntéze. Nachází se ve vyšších rostlinách a zelených řasách a společně s chlorofylem *a* přenáší světelnou energii.

Struktura chlorofylu vyobrazená Obrázky 3 A a B se skládá z porfyrinového kruhu s hořčíkem v centru. Chlorofyl *b* se liší od chlorofylu *a* pouze v aldehydové skupině vázané na porfyrin ve srovnání s methylovou skupinou pro chlorofyl *a* [6].

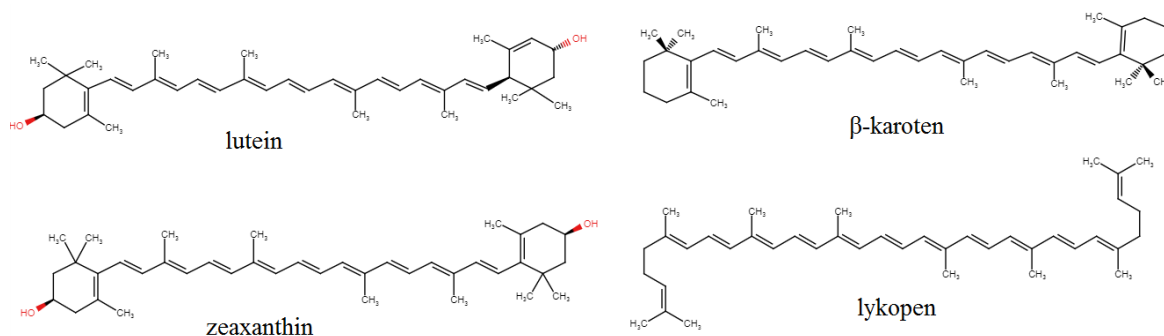


Obrázek 3. Chemická struktura chlorofylu – A: porfyrinový kruh B: postranní řetězce Zdroj: Reaxys®

1.2.1.2 Karotenoidy

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty vyznačující se červenou, oranžovou a žlutou barvou. Fungují jako doplňkové fotosyntetické pigmenty a pokrývající oblasti viditelného spektra, které nevyužívají chlorofyly. Chemická struktura vybraných běžných karotenoidů je vyobrazena v Obrázku 4. Existuje přes 700 karotenoidů, které se dělí do dvou hlavních tříd lišící se obsahem kyslíku ve své struktuře [2, 5, 6].

- Xantofyly (žluté), které ve svém složení obsahují kyslík, příkladem jsou zeaxanthin a lutein.
- Karoteny (červené), které kyslík neobsahují, například lykopen a β -karoten.



Obrázek 4. Chemické struktury běžných karotenoidů, Zdroj: Reaxys®

1.2.2 Sekundární metabolity

Sekundárními složkami jsou nevyživné rostlinné látky, které ale ovlivňují lidský organismus. Tyto složky jsou v rostlinách obsaženy v malém množství, ale pro rostlinu jsou velmi důležité. Hlavní roli hrají v jejím přežití a její ochraně. Řadíme sem tyto skupiny [2, 5]:

- Alkaloidy
- Izoprenoidy
 - Terpeny (s atomem kyslíku – terpenoidy)
 - Rostlinné steroidy (s – OH skupinou fytosteroly)
- Glykosidy
- Polyfenolické látky

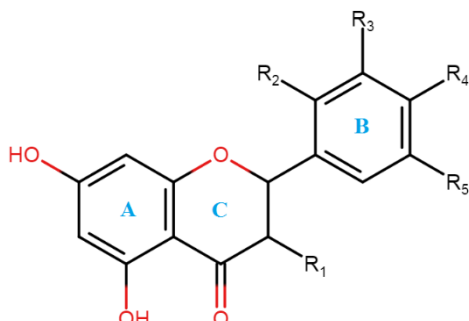
Z hlediska antioxidační aktivity jsou nejdůležitějšími sekundárními metabolity polyfenolické látky. Polyfenolických látek bylo prozatím identifikováno přes 8000, z čehož více jako polovina jsou flavonoidy, druhá velká kategorie jsou fenolové kyseliny a zbytek tvoří stilbeny (resveratrol), kumariny, třísloviny, lignany, saponiny a další.

1.2.2.1 Flavonoidy

Flavonoidy se v rostlinách tvoří z aromatických aminokyselin fenylalaninu a tyrosinu a malonátu. Obecná chemická struktura je vyobrazena v Obrázku 5. Podle druhu pigmentu se flavonoidy dělí na:

- Anthokyaniny (jsou zodpovědné za červenou, modrou a fialovou barvu)
- Anthoxantiny (jsou bezbarvé, nebo jsou zodpovědné za bílou až žlutou barvu)
 - Flavony (apigenin, chrysin, luteolin)
 - Flavonoly (datiscetin, quercetin, kaemperol)
 - Flavanoly (katechin)

- Isoflavony (genistein, daidzein)
- Flavanony (hesperetin, naringenin)
- Chalkony

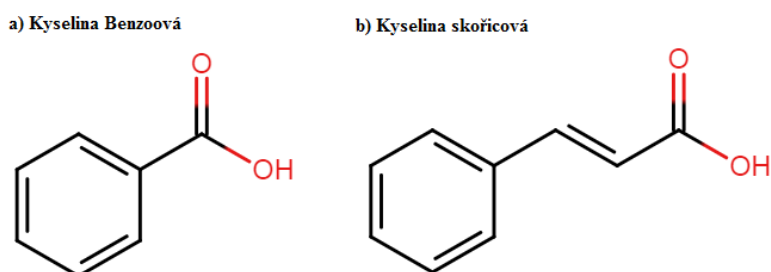


Obrázek 5. Obecná chemická struktura flavonoidů, Zdroj: Reaxys®

1.2.2.2 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou hydroxyderiváty dvou aromatických karboxylových kyselin, jejichž chemická struktura je vyobrazena v Obrázku 6:

- Kyseliny benzoové (kyselina gallová, vanilová, 3,4 dihydroxybenzoová)
- Kyseliny skořicové (kyselina kávová, ferulová, sinapová, rosmarinová, chlorogenová)



Obrázek 6. Fenolové kyseliny – kyselina benzoová a kyselina skořicová, Zdroj: Reaxys®

1.3 Antioxidační aktivita a její měření

Obecně se schopnosti látek v organismu chránit buňky proti všem škodlivým volným radikálům říká celková antioxidační aktivita. Tento termín je ale bez kontextu specifických reakčních podmínek jako je teplota, tlak, reakční médium, referenční body, chemická reaktivita atd. nesmyslný. Je potřeba se odkazovat na specifické termíny oxidantů jako je například „schopnost zachytávat peroxidové radikály“, „kapacita zachycování superoxidu“ atd. [3].

1.3.1 Mechanismus působení antioxidantů

Ne všechny antioxidanty pracují stejným mechanismem. Obecně antioxidanty inhibují, nebo zpomalují oxidaci dvěma způsoby, podle kterých je dělíme na primární a sekundární.

- Primární antioxidanty oxidaci inhibují přímo zachycováním volných radikálů. Příkladem jsou polyfenolické látky.
- Sekundární antioxidanty jsou preventivní a zpomalují rychlost oxidace. To nastává například navázáním na kovovou vazbu, přeměňováním hydroperoxidů na neradikální druhy, deaktivací singletového kyslíku nebo absorpcí UV záření.

Rozdíly mechanismů působení antioxidantů je nutno zohlednit při detekci a měření antioxidační aktivity látek [2, 3].

1.3.2 Antioxidační aktivita přírodních látek

Antioxidační aktivita jednotlivých látek velmi závisí na jejich chemické struktuře. U fenolových kyselin a jejich derivátů závisí na typu substituentů, na jejich počtu, na vazebném místě a na poloze hydroxylových skupin vázaných na aromatický kruh. Například bylo zjištěno, že deriváty hydroxyskořicové kyseliny mají významně vyšší antioxidační aktivitu než hydroxybenzoové kyseliny. U polyfenolů je ve skutečnosti chemická struktura důležitější než jejich koncentrace [2].

1.3.3 Detekce a způsoby měření antioxidační aktivity

V důsledku sledování rozvoje kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění, stárnutí a rakoviny v posledních desetiletích vzrůstá zájem o studium antioxidační aktivity potravin. Za tímto účelem bylo vyvinuto a stále je vyvíjeno mnoho různých chemických a fyzikálně – chemických metod hodnotící antioxidační aktivity. Ideální metoda by měla [2, 3, 4]:

- být spolehlivá
- být jednoduchá
- používat snadno dostupné a levné chemikálie
- být dobře reprodukovatelná
- být přizpůsobivá stanovení hydrofilních i lipofilních antioxidantů.

V dnešní době stále neexistuje univerzální metoda, která by brala v úvahu všechny aspekty látek, jako jejich rozpustnost a mechanismus působení. Vhodnou metodu tedy musíme vybrat podle charakteru látek, které chceme hodnotit [2, 3].

1.3.3.1 Chemické metody založené na eliminaci radikálů

Chemické neboli radikálové metody jsou ty nejčastěji vyžívané a existuje jich velké množství. Tato kategorie metod měří schopnost antioxidantů inhibovat oxidaci v modelovém systému sledováním souvisejících změn pomocí fyzikálních, chemických nebo instrumentálních prostředků. Obecně platí, že radikálové metody dělíme podle mechanismu působení fenolických antioxidantů do dvou skupin. První skupinu SET (single electron transfer) na mechanismech přenosu jednoho elektronu a druhou skupinu metod HAT (hydrogen atom transfer) založenou na přenosu atomů vodíku. Konečný výsledek se bez ohledu na mechanismus neliší, ale kinetika a potenciál pro dané reakce jsou různé [2, 3, 4].

1.3.3.1.1 Metody přenosu jednoho elektronu (SET)

Testy založené na metodě SET zahrnují jednu redoxní reakci s oxidantem jako indikátor koncového bodu reakce. Tato skupina metod tedy detekuje schopnost potenciálního antioxidantu přenášet jeden elektron za účelem redukce jakékoli sloučeniny. Tyto metody jsou závislé na pH a obvykle velmi pomalé. Indikují se změnou barvy při redukci a tyto změny se detekují spektrofotometricky.

- **ABTS^{•+}**

Tato metoda testuje schopnost látek ve vzorku zachycovat a odbarvovat syntetický radikál (*2,2'-azinobis (3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)*). Výsledky měření touto metodou se udávají v přepočtu na trolox. Trolox (*6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman -2-karboxylová kyselina*) je synteticky vyrobená látka, analogická vitamínu E, se známou antioxidační aktivitou. Vyjádření výsledků, jako ekvivalence troloxu je pojmenováno zkratkou **TEAC** (Trolox equivalent antioxidant capacity).

- **DPPH[•]**

Metoda je založená na schopnosti stabilního syntetického radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu, díky své struktuře akceptovat elektrony. Výrazné fialové zbarvení komplexu je způsobeno nepárovým elektronem. Působením látek s antioxidační aktivitou se intenzita zbarvení snižuje. Pro detekci je možné použít spektrofotometr, nebo HPLC. Výsledky se udávají jako inhibice DPPH v procentech, nebo stejně jako předchozí metoda v podobě TEAC. Tato metoda je považována za jednu z nejzákladnějších a nejpoužívanějších pro posouzení protiradikálové aktivity látek a různých směsí vzorků.

- **DMPD \cdot +**

Tato metoda zachycuje radikál N,N-Dimetyl-p-fenylenediamin. Látka DMPD (N,N-dimethyl-1,4-diaminobenzen) se v testovaném roztoku převede na relativně stabilní a barevnou radikálovou formu, a to pomocí železité soli. Po přidání vzorku se v přítomnosti redukčních faktorů radikál zhasí a tím odbarvuje.

- **FRAP (Ferric reduction antioxidant power)**

Tato metoda nepracuje s volnými radikály, ale stanovuje využití antioxidační kapacity látky jako redukční činidlo k redukci bezbarvého železitého iontu na modrý železnatý iont. Následné množství barevných komplexů je ekvivalentní k množství antioxidačních látek.

- **Test na celkovou fenoliku pomocí testu s činidly Folin – Ciocalteu**

V této metodě se stanovují fenolické látky díky redukci směsi fosfomolybdenanu a fosfowolframanu, při kterém dochází k modrému zbarvení. Výsledné hodnoty se udávají jako ekvivalenty kyseliny galové (GAE).

- **CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity)**

Tato metoda využívá ke stanovení antioxidační kapacity měděné ionty jako chromogenní oxidační činidlo. Tato metoda je výhodnější než jiné testy založené na SET, protože rozsah pracovního pH pro tuto analýzu je pH 7 na rozdíl od alkalického pH použitého v metodě Folin nebo kyselého pH používaného v metodě FRAP. Metoda je použitelná jak na hydrofilní, tak na lipofilní antioxidanty. Spektrofotometricky se pozoruje změna barvy od světle modré po oranžově žlutou.

1.3.3.1.2 Metody přenosu atomu vodíku (HAT)

Druhá skupina měří schopnost antioxidantu odebírat volné radikály darováním vodíku. Tyto reakce jsou poměrně rychlé, nezávislé na rozpouštědle a pH. Přítomnost redukčních činidel jako jsou kovové ionty ale může vést k chybně vysoké reaktivitě. Patří sem tyto metody [2, 3, 4]:

- **TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)**

Tato metoda hodnotící celkový antioxidační parametr zachycování radikálů používá R-rykoerythrin (R-PE) jako fluorescenční sondu. Průběh reakce je tedy monitorován

fluorometricky. Hodnoty TRAP se počítají z délky zpoždovací fáze způsobené antioxidantem ve srovnání s délkou Troloxu.

Lze také použít luminol jako chemiluminiscenční látku. Jeho signál lze měřit luminometrem. Po přidání vzorku s antioxidanty dojde díky vychytávání volných radikálů ke snížení signálu luminolu. Po vyčerpání antioxidantů se signál zase zvedne, reakce je tedy úměrná na čas.

- **Lipidově peroxidační metody (Thiokyanátová metoda)**

Tyto metody vychází z toho, že volné radikály v organismu způsobují lipidovou peroxidaci. Obecně se pro stanovení možného účinku bioaktivních sloučenin testuje jejich afinita k omezení peroxidace emulze kyseliny linolové. Thiokyanátová metoda se používá k měření množství peroxidu během počáteční úrovně peroxidace lipidů. Peroxidy vznikají při oxidaci kyseliny linolové a reagují s Fe^{2+} za vzniku Fe^{3+} . Tyto ionty tvoří komplex s thiokyanátem (SCN^-) a tento komplex lze měřit spektrofotometricky, kdy se sleduje eliminace lipidové peroxidace přidáním testované látky s antioxidační aktivitou. V přítomnosti antioxidantů bude oxidace kyseliny linolové pomalá, tudíž vývoj barvy (tvorby thiokyanátu) bude pomalý.

- **Test *spoluoxidace (bělení) β-karotenu***

Tato metoda je vhodná pro odhad antioxidačního potenciálu éterických olejů. Metoda bělení β-karotenu je založena na ztrátě žluté barvy β-karotenu v důsledku jeho reakce s radikály. β-karoten má díky svému systému dvojných vazeb ve svém řetězci výbornou schopnost pohlcovat volné radikály. Proto se po přidání do vzorku zoxiduje a následně se spektrofotometricky měří pokles absorbance bez přidání a s přidáním látek s antioxidační aktivitou. Antioxidační aktivita je vyjádřena jako procenta inhibice oxidace β-karotenu.

- **ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)**

Tato zkumavková metoda hodnotící absorpční kapacitu kyslíkových radikálů se zabývá schopností testovaného vzorku zpomalit či zastavit radikálovou reakcí vygenerovaných kyslíkových radikálů, což lze detekovat úbytkem fluorescence. Tato metoda využívá techniku "plochy pod křivkou" a kombinuje tak dobu inhibice i stupeň inhibice působení volných radikálů antioxidantem.

1.3.3.2 Fyzikálně chemické metody

- Chemiluminiscenční test

Tato metoda stejně jako chemické metody HAT měří schopnost antioxidantů odebírat volné radikály darováním vodíku. Chemiluminiscence je jev pozorovaný, když chemická reakce produkuje elektronicky excitované látky, které buď chemickou energii přímo mění na světelnou, nebo přenášejí energii do fluoroforu, který generuje nepřímou chemiluminiscenci.

Primárně jsou metody založené na přímé chemiluminiscenci a zahrnují chemiluminiscenční látky, nejčastěji luminol. Luminol reaguje se silným oxidačním činidlem H_2O_2 za vzniku 3-aminoftalátu v excitovaném elektronickém stavu, což produkuje světlo. Látky s antioxidační aktivitou mohou uhasit H_2O_2 darováním atomu vodíku, inhibují chemiluminiscenci indukovanou H_2O_2 a snižují intenzitu světla. Chemiluminiscenční test je v podstatě založen na konkurenci mezi antioxidanty a luminolem o H_2O_2 [2, 3, 4].

- ESR (Elektronová spinová rezonance)

Touto metodou je možno určit přítomnost iontů s nepárovými elektrony, a to díky zkoumání rozdělení energií v magnetickém poli a přechodů mezi jednotlivými stavy.

- Elektrochemické metody

Elektrochemické metody stejně jako metoda FRAP nepracují s volnými radikály, ale hodnotí redoxní vlastnosti testovaných látek.

- Voltametrie

Tato metoda indikuje schopnost látek odštěpovat elektrony. Na pracovní elektrodu se přivádí potenciálový pulz s určitou rychlostí polarizace a sledují se proudové odezvy v roztoku vzorku. Výsledkem je cyklický voltamogram.

- HPLC s elektrochemickou detekcí

Látky, které jsou elektroaktivní lze velmi přesně detekovat za použití amperometrických nebo coulochemických detektorů při analýze HPLC. Při HPLC-ECD (high performance liquid chromatography – electro chemical detection) se na pracovní elektrodu detektoru vkládá určitý kladný potenciál při kterém, pokud je látka oxidována

dostaneme pík. Látku je tak možno charakterizovat jak pomocí retenčního času, tak i podle potenciálu, ve kterém se oxiduje. Při použití těchto metod je potřeba dbát na čistotu mobilní fáze.

Výhodou fyzikálně – chemických metod je, že není potřeba brát v úvahu barvu měřeného vzorku. Výraznější zbarvení testovaných látek může mít negativní vliv u chemických metod, které převážně hodnotí barevnou změnu vzorku.

Velmi důležité je zmínit, že metody měření antioxidační aktivity nám sice poskytují užitečnou indikaci, ale data získaná těmito metodami je velice obtížné použít na biologické systémy. Měření antioxidační aktivity in vitro nám sice udělá přehled o tom, která potravina má vyšší a která nižší hodnoty, ale nebere to v úvahu to, jak je organismus schopný tuto antioxidační aktivitu využít.

1.4 Vybrané přírodní doplňky stravy

Všech 8 vybraných přírodních doplňků stravy pochází ze zelených částí rostlin a komerčně se prodávají pro své příznivé účinky na zdraví. I přestože nám doplňky stravy nenahradí plnohodnotnou stravu, můžou náš jídelníček obohatit o mnoho nutričně významných látek. Ty nejvýznamnější látky v těchto doplňcích stravy, protože se jedná o rostliny, jsou samozřejmě fotochemikálie.

Každý přírodní doplněk stravy z rostlin obsahuje celou škálu různých metabolitů, od kterých se přímo odvíjí jejich vlastnosti. Jednotlivé druhy fytochemikálií jsou podrobněji popsány u každé rostliny zvláště a v kapitole [1.4.5] jsou porovnána jejich množství. Pro všechny tyto rostliny ale platí, že disponují obecnými benefity spojené s příjmem těchto látek.

Mají vysokou antioxidační aktivitu, takže chrání před nechtěnými volnými radikály. Jsou protizánětlivé, antimikrobiální a antikoagulační. Působí jako prevence chronických onemocnění jako jsou kardiovaskulární nemoci či rakovina, pomáhají regulovat krevní cukr, cholesterol a celkově napomáhají imunnímu systému.

Všechny vybrané přírodní doplňky se shodují ve vysokém obsahu (až několik procent sušiny) chlorofylu. Porfyrin ve struktuře chlorofylu je velmi podobný skupině hemů nalezené v hemoglobinu, kde je centrálním atomem železo. Tato podobnost z něj tedy dělá látku velmi prospěšnou lidskému organismu. Osvědčil se při zvyšování počtu červených krvinek. Chelatuje s některými karcinogeny a mutageny čímž také snižuje riziko rakoviny [6, 7].

1.4.1 Mikrořasy

Mikrořasy patří k nejprimitivnějším formám života na Zemi, které tu byly jedním z prvních organismů již před více jak 2,7 miliardami let [8, 9]. Sdílejí vlastnosti s rostlinami, protože mají schopnost provádět fotosyntézu a mají užitečné nutriční složení, které je známo již tisíce let a kterého se dodnes využívá ve formě doplňků stravy. Tyto doplňky stravy se v dnešní době nejčastěji prodávají v podobě kapsulí, stlačených tablet a prášků, které se přimíchávají do různých pokrmů či nápojů [9]. Mikrořasy však mají i mnoho dalších využití jako biopaliva, barviva, ve farmacii, v kosmetice, ve výživě zvířat a k obhospodařování vodních ploch. Můžeme je najít jak ve sladkých a slaných vodách, tak i v extrémních podmínkách jako pod zmrzlou půdou v severních zemích, nebo v horké pouštní půdě na Saahaře [7, 9].

Do skupiny mikrořas se řadí statisíce druhů a popsáno je okolo 50 tisíc zástupců. Můžou být jak vysoce toxické, tak i jedlé, kam se řadí neznámější a nejvyužívanější zástupci *Chlorella* a *Spirulina*.

1.4.1.1 Chlorella

Chlorella je jedna z nejnámějších jednobuněčných řas s průměrem buňky 2-10 μm . *Chlorella* je eukaryotický mikroorganismus nacházející se ve sladkých vodách. Nejčastěji se vyskytující a nejvíce prozkoumaným druhem je *Chlorella Vulgaris*. Ročně se této řasy vyprodukuje přes 2000 tun a jejími předními spotřebiteli jsou Japonsko, Německo a Taiwan [7, 8, 9].

Sušina *Chlorelly* se až z 60 % skládá z proteinů s většinou esenciálních aminokyselin. Procento tuků v sušině se může velmi lišit. Při pěstování ve správných podmínkách se v sušině nachází okolo 5 %, v nepříznivých podmínkách obsahuje tuků až 58 % [7, 9].

Významné primární metabolity *Chlorelly* jsou:

- Glykolipidy, fosfolipidy a vosky
- Volné mastné kyseliny – olejová, palmitová
- Polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (PUFA)
 - Omega 6- Kyselina γ -linolenová (GLA) a arachidonová (AA)
 - Omega 3- Kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosaheptaenová (DHA)

Díky PUFA může doplňování *Chlorelly* zvyšovat výkon, snižovat únavu a špatnou paměť, pomoci se suchou kůží a srdečními potížemi, působit jako prevence neurologických onemocnění.

Většina zdravotních benefitů Chlorelly pochází z její nejdůležitější součásti, a to z velkého množství pigmentů chlorofylu *a* a chlorofylu *b* (1-4% sušiny). To z ní dělá nejbohatší dostupný zdroj chlorofylu a díky tomu má Chlorella svou tmavě zelenou barvu [9, 10]. Ta zakrývá ostatní barviva, která jsou obsažena v menších koncentracích [7, 8, 9]:

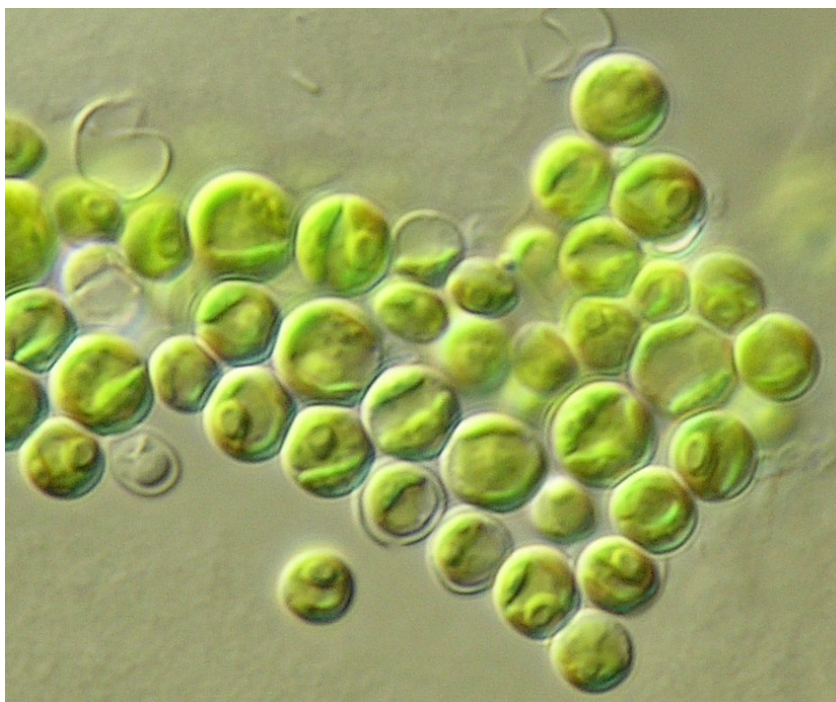
- Karotenoidy
 - Karoteny – β -karoten
 - Xantofyly – lutein, astaxantin, kantaxantin, violoxantin
- Porfyriny – feofytin

Součástí Chlorelly jsou také významné sekundární metabolity a antioxidanty:

- Polyfenolické látky
 - Fenolické kyseliny – Kyselina kávová, ferulová a P-kumarová
 - Flavonoidy – apigenin
- Fytosteroly
- Floroglucinol

Buňky Chlorelly se rozmnožují nepohlavně, a to pomocí spor. Pro pěstování Chlorelly existuje vícero metod. Nejběžnější způsob pěstování je v otevřených rybnících a jezerech. V takovém případě ale existuje významné riziko znečištění vzduchu a vody, napadení bakteriemi, příměsí jiných řas a nedá se dobře zajistit stálá teplota, pH, stabilní přísun CO₂ a slunečního svitu. Druhou možností jsou uzavřené fotobioreaktory, kde se zmíněné faktory prostředí dají kontrolovat. Tyto produkty jsou do farmaceutického průmyslu vhodnější. Zvolený způsob přímo ovlivňuje poměry živin a látek ve vypěstované řase [9, 11].

Po sklizni je nejdůležitější částí zpracování dezintegrace její silné buněčné stěny. Ta je na bázi chitosanu, celulózy, proteinů a lipidů, která se mění v tloušťce a složení podle růstových podmínek. Buněčná stěna se musí narušit, aby došlo k uvolnění vnitřních složek buňky, jako jsou lipidy a bílkoviny. Jedině tak jsou živiny dobře vstřebatelné do organismu. Existuje mnoho metod, jak toho docílit. Nejčastější mechanické způsoby jsou mletí, ultrazvuk, vysokotlaká homogenizace a mikrovlny. Další možností jsou chemické metody, kdy je stěna narušena pomocí chemické hydrolýzy, nebo enzymaticky [7, 9, 10].



Obrázek 7. *Chlorella Vulgaris*, zvětšení 400x [11]

1.4.1.2 Spirulina

Spirulina je společně s Chlorellou nejznámějším zástupcem mikrořas nacházející se také ve sladkých vodách. Na rozdíl od Chlorelly je Spirulina prokaryotický mikroorganismus, vláknitá mnohobuněčná sinice s průměrem 20-100 μm . Název Spirulina byl odvozen právě z jejího spirálovitého tvaru. Spirulina je nejvíce produkovaná mikrořasa na světě, ročně se jí vyprodukuje až 3000 tun a jejím nejčastějším zástupcem je *Spirulina platensis*.

Sušina obsahuje velké množství (až 70 %) bílkovin se všemi esenciálními aminokyselinami. Složení tuků má podobné jako Chlorella- sulfolipidy, glykolipidy, esenciální mastné kyseliny a polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (GLA). Benefity z těchto látek, v menším množství, sdílí s chlorelou [8].

Důležitou úlohu hraje významné množství barviv:

- Chlorofylů
- Karotenoidů
 - Karoteny – β -karoten, echinenon
 - Xantofyly – zeaxanthin, myxoxantofyl
- Fykobilinů – C-fykocyanin, alophykocyanin

Fykocyanin je modré barvivo, díky kterému má Spirulina až namodralou barvu. Fykobiliny působí jako ochranná antioxidační látka lidských erytrocytů proti působení peroxyradikálů.

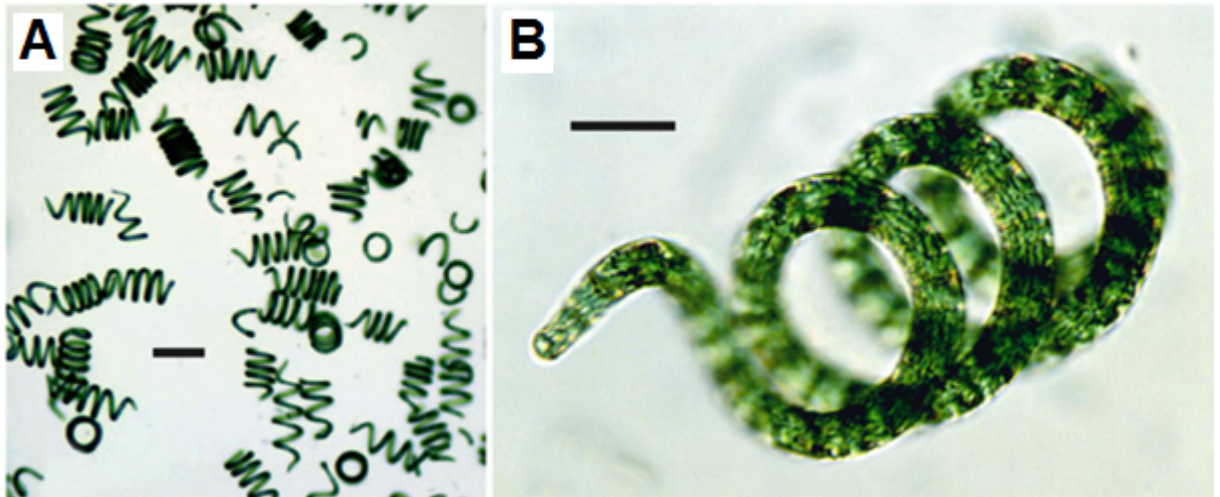
Součástí Spiruliny jsou sekundární metabolity [8]:

- Polyfenolické látky
 - Fenolické kyseliny – Kyselina kávová, ferulová a P-kumarová
 - Flavonoidy – apigenin
- Floroglucinol
- Enzym superoxid dismutasa (SOD)

Spirulina významně snižuje hladinu lipidů v krvi, triacylglycerolů v játrech a chrání před gama zářením. Dále působí antialergicky, má ochranný vliv na střevní mikroflóru a schopnost sorbovat kationty těžkých kovů z vhodného prostředí. V některých studiích Spirulina vykazuje i antivirovou aktivitu [12, 13].

Hlavní faktory pro správný a rychlý růst jsou teplota (okolo 30 °C), pH (zásadité 10-12), oxid uhličitý a intenzita světla. Důležité pro výslednou kvalitu je kvalita vody a zabránění kontaminace jinými řasami, bakteriemi nebo larvami komárů. Výslednou kvalitu také ovlivňuje stálost prostředí, jako je déšť, vítr, nebo kolísání teploty [13].

Nejlepší podmínky pro růst mají oblasti s vhodnými klimatickými podmínkami, a to zejména sluneční svit po celý rok, jako je Subsaharská Afrika a centrální Amerika. Právě v těchto oblastech se konzumuje již po tisíciletí a získávána je z jezer. Ve středomoří se pěstuje v biotechnologických nádržích [12, 13].



Obrázek 8. *Spirulina platensis*- A: měřítko 40 μm , B: měřítko 20 μm [14]

1.4.2 Mladé obilniny

Obilniny jsou velmi důležitou součástí našeho jídelníčku již od nepaměti. V posledních letech se věnuje velká pozornost jejich mladým výhonkům. Zařazení těchto mladých výhonků do jídelníčku je tradiční především ve východní Asii. Tyto mladé části jsou významné svým vysokým podílem vitamínů, provitaminů, antioxidantů a dalších bioaktivních látek [15].

1.4.2.1 Mladý ječmen a mladá pšenice

Pšenice obecná, *Triticum aestivum* je třetí nejpěstovanější obilnina na světě. Ječmen setý *Hordeum vulgare* se pěstuje již od doby kamenné, což z něj činí jednu z nejstarších domestikovaných rostlin v historii [16].

Zajímavými látkami, které mladé výhonky obsahují, jsou [15, 17, 18, 19, 20]:

- Aminokyseliny – Kyselina gama-aminomáselná (GABA), která je inhibiční neurotransmiter v savčím centrálním nervovém systému
- Enzymy – Superoxid dismutáza (SOD), kataláza a více jak 300 dalších

a jejich obsah sekundárních metabolitů:

- Polyfenolické látky
 - Polyfenolické kyseliny (1,06 % sušiny) – Kyselina gallová, chlorogenová, kávová, vanilová, P-kumarová, ferulová, sinapová
 - Flavonoidy (1,12 % sušiny) – quercetin, O-glykosil isovitexin, saponarin a lutoarin
 - Stilbeny – resveratrol

- Lignany
- β -glukan
- Fytosteroly

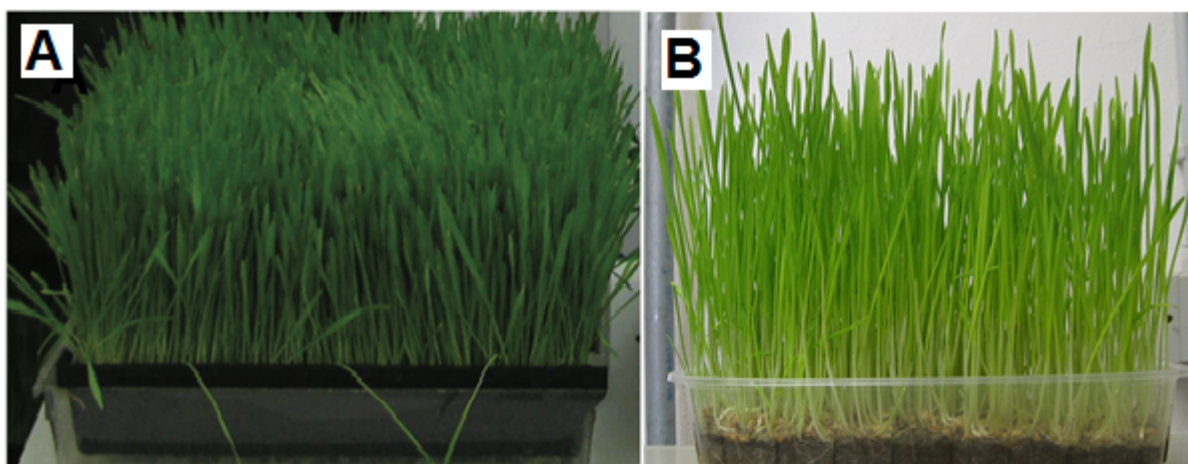
Díky kombinaci těchto látek může užívání Mladého ječmene nebo pšenice pomoci s mnoha zdravotními problémy jako jsou poruchy spánku, diabetes, kožní problémy, kardiovaskulární onemocnění, artritida, anemie. Dále může pomoci se snížením cholesterolu v krvi, s problémy s ledvinami, s játry, s krevním tlakem, nebo jako prevence rakoviny. Celkově působí velmi příznivě na posílení imunity [15, 17, 18].

Pěstování mladých výhonků je u obou obilovin stejné. Semena se dobře pomyjí a nechají se namočená ve vodě po dobu 24- hodin. Poté se zakryjí mokřým plátnem, a v dalších 12-48 hodinách začnou klíčit. Klíčky se následně přesunou na vlhkou půdu, kde s pravidelným přísunem vody mladé výhonky rostou [17].

Množství všech mikroživin je přímo závislé na místě, kde byla rostlina pěstována, na půdě, ve které vyrůstala, na kvalitě vody, na způsobu sklizení a mnoha dalších faktorech. Například obsah sodíku v rostlině pěstované v hornaté oblasti je nízký, ale pěstované v solné alkalické půdě je vysoký. Další, velmi důležitý faktor na množství živin je stáří sklizené mladé obilniny. Ideálně by se mladé části měly sklízet cca 1 až 3 týdny po vyklíčení ve výšce 20-25 cm. Bylo zjištěno, že ty největší koncentrace těchto látek se v rostlině nacházejí jen po dobu několika dní [15, 16, 17, 18].

Rozdíly ve složení mezi Mladým ječmenem a Mladou pšenicí jsou minimální. Při výběru tedy záleží na osobní preferenci. Ječmen obsahuje více vlákniny a některých mikroživin (vápník, draslík), ale může být hůře stravitelný a má více hořkou chuť [16].

Mladý ječmen a Mladá pšenice se jako doplňky stravy konzumují v podobě zeleného nápoje z čerstvě vymačkané šťávy, nebo rozpuštěním usušeného prášku ve vodě či džusu. Prášky se dají sehnat i ve stlačených tobolkách. Další možností je konzumace čerstvých výhonků v podobě salátů [15, 16, 17].



Obrázek 9. Mladé obilniny A: Mladý ječmen [21] B: Mladá pšenice, Zdroj: Wikimedia Commons

1.4.3 Byliny

Byliny, jako cenné léčivé rostliny, jsou pro své účinky na zdraví celosvětově uznávané už od nepaměti. Může se konzumovat každá jejich část – kořeny, listy, semena i květy. Vzhledem k přítomnosti různých živin, včetně vitamínů, minerálních látek a mastných kyselin, může mít jejich konzumace také významný dopad na zdraví. Tato oblast ještě není dostatečně vědecky prozkoumána, několik experimentů ale nedávno ukázalo přímou souvislost mezi chemickým složením a bioaktivitou bylin. Pro potvrzení pozitivního účinku na zdraví ale stále není dostatek studií.

Byliny se mohou užívat v mnoha formách. Čerstvé do salátů, ve formě čajů, džusů, extraktů a v poslední době ve velmi oblíbené podobě lyofilizovaného prášku [22].

1.4.3.1 Kopřiva

Kopřiva představuje jednu z nejrozšířenějších planě rostoucích bylin, kterou lze snadno najít ve všech oblastech mírného podnebí. Na světě existuje mnoho druhů, u nás i celé Evropě je nejčastější Kopřiva Dvoudomá *Urtica Dioica* [23].

Tato bylina je známá především svým pokrytím trichomy, které při kontaktu způsobují podráždění pokožky. Sloučeninami v trichomech odpovědnými za pocit pálení jsou acetylcholin, histamin, serotonin, alkaloidy, enzymy, kyselina mravenčí a vinná [22, 23].

Látky nalezené v kopřivě jsou [23]:

- Alkaloidy
- Polyfenolické látky

- Flavonoidy – kaempferol, isorhamnetin, quercetin, astragalín, rutin, patuletín
- Fenolické kyseliny – Kyselina kávová, chlorogenová, kofeoylmalová,
- Kumariny – skopoletin, esculetín
- Třísloviny
- Chlorofyly a jiné porfyryny
- Karotenoidy
 - Xantofyly – lutoxanthin, violaxanthin
 - Karoteny – β - karoten, lutein

Tato bylina se doporučuje především při léčbě revmatických stavů, infekcí dolních močových cest a v poslední době k léčbě alergií. Je protizánětlivá, antibakteriální, má lokální anestetické účinky a reguluje hladinu krevního cukru [22, 23].

Množství výše uvedených látek se mění v závislosti na stáří rostliny, na místě a na období, ve kterém proběhl sběr. Antioxidační kapacita listů sbíraných na jaře může být až trojnásobně vyšší, než listů sbíraných na podzim [23, 24].

Sbírání kopřivy pro komerční využití by mělo být prováděno pouze ve vybraných oblastech. Pro sběr jsou vhodnější mladé listy. Rostlinný materiál by měl být dodán do zpracovatelského prostoru co nejdříve, protože rostliny po sklizni začnou rychle oxidovat. Takto usušený rostlinný materiál má podobné vlastnosti jako čerstvý, až na značnou část obsahu dráždivých trichomů, která se po vysušení rozptýlí [22, 25].



Obrázek 10. Kopřiva Dvoudomá – *Urtica Dioica*, Zdroj: Wikimedia Commons

1.4.3.2 Pampeliška

Pampeliška lékařská *Taraxacum officinale* je sezónní bylina, vyžívaná pro své vlastnosti už tisíce let. Vyrůstá do výšky 5-40 cm, má krásně žlutý květ, dutý stonek a velké listy se zubovitým okrajem. Původně byla široce rozšířena na severní polokouli, za příznivých klimatických podmínek se rozšířila do všech koutů světa. Pro svoje nutriční vlastnosti se tradičně využívá v Evropě, její terapeutické použití ale zmiňuje i arabská, čínská a ajurvédská medicína [26, 27, 28].

Pampeliška obsahuje širokou škálu fytochemikálií se specifickými biologickými aktivitami [26, 27].

- Izoprenoidy
 - Triterpeny- taraxasterol, taraxerol
 - Fytosteroly
 - Seskviterpenové laktony- eudesmanolid, Kyselina germakranolidová, tetrahydroridentin B
- Glykosidy- taraxakosid
- Polyfenolické látky
 - Fenolové kyseliny- Hydroxyskořicová, Cichorová, Chlorogenová, Kávová
 - Flavonoidy- quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, artemetin, isoetin a genkwanin
 - Třísloviny, Kumariny

Triterpeny a fytosteroly mají schopnosti snižovat cholesterol. Seskviterpenové laktony jsou sekundární metabolity seskviterpenů s protizánětlivými a antimikrobiálními vlastnostmi. Seskviterpenové laktony stimulují játra k vylučování žluči, což usnadňuje její tok do dvanácterníku. Spolu s hořčinami (laktopicrin, taraxacin, taraxasterin) způsobují hořkost pampelišek, která je pro rostlinu jedinečná. Předpokládá se, že tak posiluje imunitní systém těla a zároveň čistí játra.

Pampeliška má schopnost vyrůstat skoro ve všech typech půd. Je velmi důležité, kde se pampeliška pro své nutriční vlastnosti sbírá. Výzkumy potvrzují, že pampeliška sbíraná v okolí velkých měst měla v důsledku znečištění ovzduší a půdy o poznání více některých těžkých kovů. Pampelišky se pro medicínské využití musí sbírat na specializovaných místech k tomu určených [29].



Obrázek 11. Pampeliška lékařská – *Taraxacum officinale*, Zdroj: Wikimedia Commons

1.4.4 Listy stromu

Stejně jako byliny, i listy různých stromů mohou náš jídelníček obohatit o velmi prospěšné látky. V našem podnebném pásmu se pro své nutriční využití využívají například výluhy a extrakty z listů jinanu, lípy, buku, nebo břízy. Jejich nutriční využití pro účinky na zdraví není z vědeckého hlediska prozkoumané a chybí dostatek studií, které by je potvrdzovaly. Velká pozornost se naopak věnuje listům ze stromů pocházejících z tropických oblastí.

1.4.4.1 Moringa

Moringa oleifera je velmi odolný, 5-10 metrů vysoký „zázračný“ strom původem ze sub-Himalájské oblasti Indie. V dnešní době se rozšířil v tropickém a subtropickém pásmu, a to převážně v Africe, kde mu vyhovuje teplé a vlhké prostředí. Dobře snáší sucho, špatnou půdu, široké spektrum pH i vysoký obsah srážek. Má celou řadu využití a považuje se za jeden z nejužitečnějších stromů, protože každá jeho část (kůra, lusky, listy, ořechy, semena, hlízy, kořeny a květiny) lze využít pro výživné, nebo léčebné účely. K výrobě sušeného prášku jsou vhodné mladé i staré listy. Listy jsou 20-70 cm dlouhé řapíky s 8–10 páry boltců, z nichž každý nese dva páry protilehlých, 1–2 cm dlouhých, lístků a jeden na vrcholu [30, 31, 32].

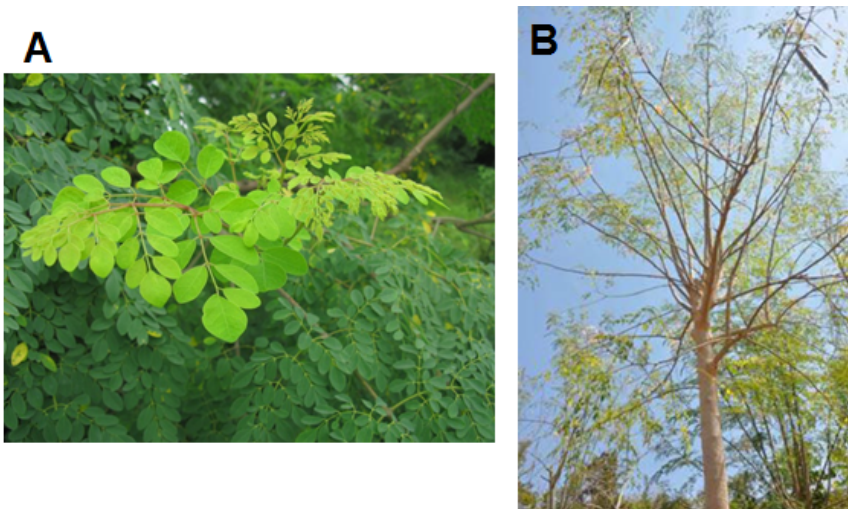
Prášek z listů Moringy je zdroj velmi dobře stravitelných bílkovin obsahující všechny esenciální aminokyseliny a jídelníček může obohatit o sekundární metabolity a antioxidanty jako [30, 31]:

- Alkaloidy, fytosteroly, terpeny
- Sírné glykosidy – glukosinoláty (glukomoringin), isothiokyanáty
- Polyfenolické látky
 - Fenolické kyseliny – Kyselina galová, kávová, P-kumarová, ferulová
 - Flavonoidy – quercetin, apigenin, kaempferol, isorhamnetin
 - Trísloviny, Saponiny
- Karotenoidy
 - Karoteny – β -karoten

Alkaloidy v Morinze mohou snižovat krevní tlak. Saponiny jsou známé pro své antihypertenzní vlastnosti, kterých se využívá při léčbě a rekonvalescenci po mrtvici, nebo jiných srdečních onemocnění. Studie prokázaly, že užívání prášku z listů Moringy zvyšuje aktivitu enzymů superoxiddismutáza, kataláza a glutathion S-transferáza [32, 34].

Konzumace Moringy se doporučuje při problémech se zvýšenou koncentrací lipidů v krvi. Také napomáhá s regulací krevního cukru, s astmatem, s alergiemi a napomáhá hojení ran a vředů.

Moringa je „přirozená výživa pro tropy“. Studie se převážně věnují tomu, jak pomocí Moringy zpestřit jídelníček lidem v Africe, kteří mohou mít nedostatek vitamínů. Listy lze jíst čerstvé, vařené nebo skladované jako sušený prášek. V této formě se ke komerčnímu využití distribuuje po celém světě [34, 35].



Obrázek 12. A: Listy stromu *Moringa Oleifera* [34] B: Strom *Moringa Oleifera* [33]

1.4.5 Zelený čaj

Čaj neboli výluh ze sušených listů čajovníku čínského *Camellia sinensis* je nejvíce konzumovaný nápoj na světě. Již od pradávna spojuje s účiny na zdraví, jako jsou snížení hladiny glukózy v krvi a hladiny cholesterolu, snížení rizika srdečních onemocnění a snížení stresu [36, 37].

1.4.5.1 Matcha

Zelený čaj Matcha je původem z Japonska a od ostatních zelených čajů (sypaných a v sáčkích) se odlišuje svou přípravou a konzumací. Nekonzumuje se jako výluh, ale usušený čaj se rozemele na jemný prach a konzumuje se celý. Prášek se vyrábí z mladých výhonků čajových keřů, které se několik týdnů před sklizní zastíní před sluncem. Absence slunečního záření rostlina kompenzuje nadprodukcí [38]:

- Chlorofylů
- Kofeinu 14.4–44.4 mg/g
- Volných aminokyselin – Theanin, Glu, GABA, Thr, Me

To mu dodává jedinečné vlastnosti, chuť podobnou umami a jeho typickou výrazně zelenou barvu. Neesenciální aminokyselina L-Theanin zklidňuje organismus a navozuje stav relaxace, bez nežádoucích pocitů únavy. Jeho účinky společně s kofeinem rovněž souvisí se udržováním pozornosti a paměti.

Čaj Matcha díky svému jedinečnému složení bioaktivních sloučenin nabízí širokou škálu benefitů potenciálně přínosných pro zdraví. Stejně jako ostatní zelené čaje obsahuje polyfenolické látky, které tvoří až 30% suché biomasy [38]. Řadíme mezi ně:

- Flavonoidy – rutin, quercetin, katechiny (epigalokatechin EGC, epigalokatechin galát EGCG, epikatechin, epikatechin gallát EKG)
- Fenolové kyseliny – Kyselina gallová, P-hydroxybenzoová, chlorogenová, kávová, ferulová a ellagová

Tyto látky zvyšují antioxidační vlastnosti tohoto čaje. Matcha čaj je charakteristický právě vysokou antioxidační aktivitou, nejvyšší ze všech zelených čajů. Primární zdravotní benefity tedy přináší při prevenci před nemocemi způsobené volnými radikály. Katechiny k tomu zvyšují detoxikační aktivity enzymů, a to se může projevit v prevenci proti ateroskleróze. Rutin je navíc kardioprotektivní, pomáhá s žilními problémy a má protizánětlivé vlastnosti [37].

Množství všech těchto látek je v čaji Matcha poznatelně více než v ostatních zelených čajích. Proto je Matcha považován za nejaromatičtější zelený čaj a produkt nejvyšší kvality.

Antioxidační vlastnosti a celková kvalita čaje jsou velmi závislé na místě a době, ve které byl rostlinný materiál sklizen. Velmi důležitá je i teplota vody použitá k přípravě nápoje, která by neměla být více než 70 °C [38].



Obrázek 13. Listy čajovníku čínského – *Camellia sinensis*, Zdroj: Wikimedia Commons

1.4.6 Porovnání látek ve vybraných doplňcích stravy

Z hlediska výživy se prášky skládají z makro-živin (sacharidy, tuky, bílkoviny, vláknina) včetně esenciálních mastných kyselin, volných aminokyselin (Tabulka 1. Porovnání procent proteinu, tuku a vlákniny v sušině vybraných rostlin). Dále jsou zdrojem enzymů, minerálních látek Tabulka 2. Porovnání obsahu minerálních látek v mg/100g sušiny a vitamínů (B, C, A, E, K), (Tabulka 3. Porovnání obsahu vitamínu C, E a pigmentů v mg/100 g). Doplněním stravy těmito rostlinami zvyšujeme příjem těchto vitamínů a minerálních látek, který je důležitých pro správné fungování organismu.

Tabulka 4. Porovnání procent proteinu, tuku a vlákniny v sušině vybraných rostlin [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]

	Protein	Tuk	Vláknina
Chlorella [9]	42~60 %	5~10 %	9~18 %
Spirulina [12]	55~70 %	5 %	7 %
Mladá pšenice [19]	11~26 %	3~6 %	27~30 %
Mladý ječmen [18]	30 %	5 %	30 %
Kopřiva [24]	28 %	3~8 %	23~27 %
Pampeliška [28, 35]	7~20 %	10 %	34 ~48 %
Moringa [30, 34]	7~30 %	0.5~7 %	11 ~19 %
Matcha [22]	20~35 %	4~ 8 %	31~43 %

Tabulka 5. Porovnání obsahu minerálních látek v mg/100g sušiny [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]

	Ca	P	Mg	K	Na	Zn	Mn	Fe
Chlorella [9]	160 ~ 270	960 ~ 1760	340 ~ 440	500 ~ 2150	1350	550	400	200 ~ 680
Spirulina [12]	333	1100	500	2000	1000	3	13	217
Mladá pšenice [20]	19 ~ 300	261~ 624	71~ 165	310 ~ 957	66 ~ 115	4.2 ~ 88.00	2.3 ~ 9.7	11~ 157
Mladý ječmen [18]	330 ~ 819	283 ~ 430	110 ~ 247	2400 ~ 4300	50 ~ 833	1.8 ~ 5.7	2.3 ~ 5.4	10 ~ 41
Kopřiva [22]	853 ~ 1050	50 ~ 265	175	532 ~ 613	16 ~ 58	3.8	2.7	2 ~ 200
Pampeliška [27, 28]	138 ~ 216	58	50	397	56	1.1	0.2	6.2
Moringa [30, 35]	153 ~ 3650	158 ~ 300	255 ~ 500	150 ~ 170	0.04 ~ 0.16	1.3 ~ 3.3	8.6 ~ 36.5	49 ~ 126.2
Matcha [36]	165 ~ 265	374 ~ 418	176 ~ 420	275 ~ 473	12.5~ 16.1	2.2 ~ 7.3	1.7 ~ 6.8	3.9 ~ 15

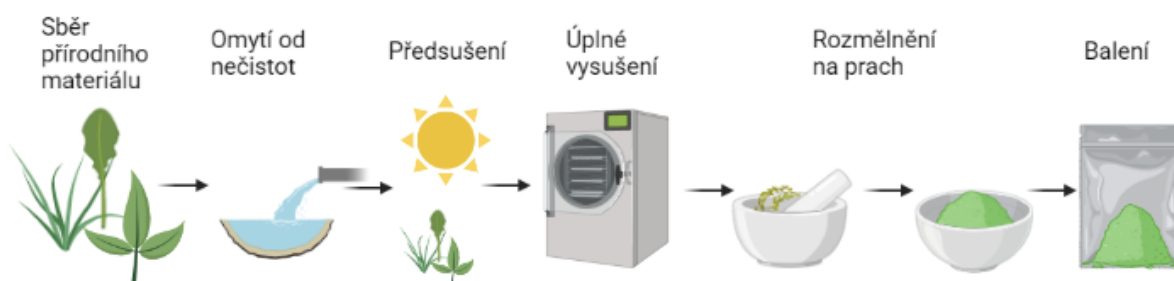
Tabulka 6. Porovnání obsahu vitamínu C, E a pigmentů v mg/100 g [zdroje jsou uvedeny u jednotlivých rostlin]

	Vitamin C	Vitamin E	Chlorofyl	β-Karoten
Chlorella [9, 10]	10.4	1.5	1000 ~ 4000	30.77
Spirulina [9, 13]	10.1	5.0	1000 ~ 3000	0.34
Mladá pšenice [19]	46 ~ 79	2.1 ~ 9.1	300 ~ 600	3.3
Mladý ječmen [18]	194 ~ 548	6.1 ~ 46.1	438 ~ 662	20.5
Kopřiva [22]	20 ~ 60	1	600 ~ 1000	2.5 ~ 20.2
Pampeliška [27]	35 ~ 47	3.4	218 ~ 286	7.35
Moringa [30, 31, 35]	17.8 ~ 19.3	77	170 ~ 210	18.5 ~ 19.9
Matcha [36, 37]	163 ~ 398	50 ~ 70	110 ~ 565	13 ~ 29

1.5 Zpracování vybraných přírodních doplňků stravy

Všechny vybrané rostlinné doplňky stravy nabízejí jako jednu z možností konzumaci formou extraktů a dají se koupit jako sušený prášek. Proto je jejich zpracování a skladování důležitý faktor, který je potřeba brát v úvahu při udržování kvality.

Jak je znázorněno v Obrázku 14, sklizený rostlinný materiál se musí přebrat od poškozeného či jinak napadeného, je potřeba ho omýt od prachu, nečistot a povrch nechat předsušit, například na slunci. Následuje úplné usušení, rozmělnění – drcení, mletí, prosévání a uskladnění. Všechny tyto procesy se přímo podílí na množství všech mikro i makro živin ve výsledném produktu. Vhodný výběr metod je tedy zcela zásadní.



Obrázek 14. Proces zpracování vybraných přírodních doplňků stravy

1.5.1 Sušení

Sušení je jeden z nejstarších konzervačních procesů, který je levný a jednoduchý. Potraviny se suší převážně za účelem zvýšení trvanlivosti produktů, a to zpomalením nebo zastavením růstu mikroorganismů. To zabraňuje biochemickým reakcím, které by mohly změnit organoleptické vlastnosti [39].

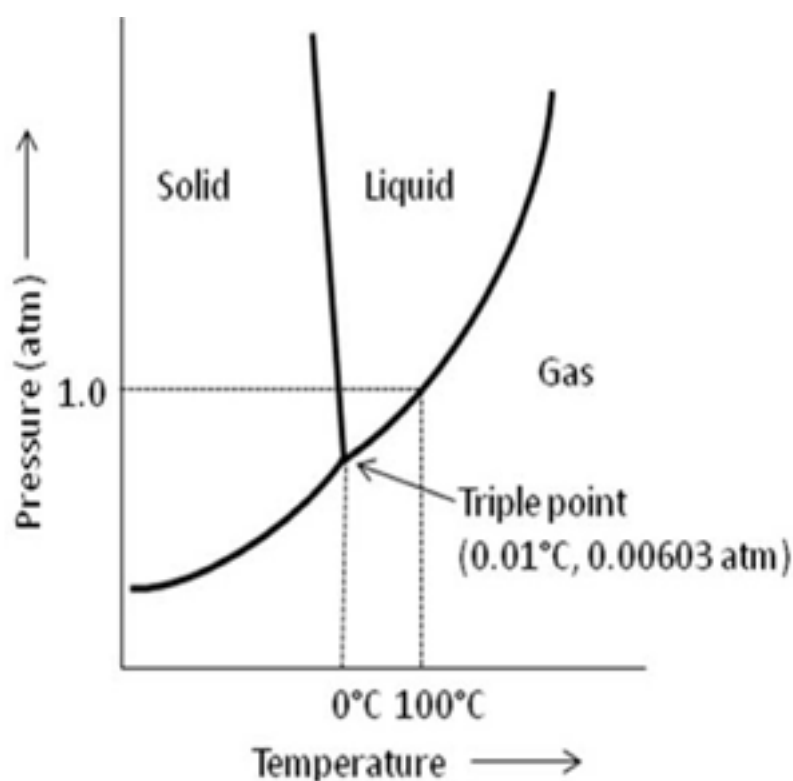
S přihlédnutím ke skutečnosti, že většina vybraných doplňků stravy se dováží z dalekých krajín a v případě bylin se jedná o sezónní rostliny, je sušení nepostradatelným procesem.

Nejběžnější metoda sušení je na vzduchu, například dobře větrané sušení ve stínu, nebo sušení na slunci. Je to sice nejlevnější proces sušení, ale je ho možné využít pouze v místech s vhodnými klimatickými podmínkami, je velmi pomalý a může vést k velké ztrátě na kvalitě (plísně, hmyz), k barevným změnám a ke ztrátě živin. Dalším problémem je docílení konzistentní hmotnosti a kvality. To řeší sušení v sušárně obvykle při teplotě 45–140 °C, anebo

mikrovlonné sušení, které ale způsobuje rychlejší degradaci barvy a ztrátu primárních metabolitů. Příliš vysoké teploty mohou vést až k rozpadu přítomných proteinů [25, 33, 39].

1.5.1.1 Lyofylizace

Lyofylizace neboli sušení mrazem je další, nejpokročilejší metodou sušení. Funguje na principu, kdy se voda v potravíně zmrazí při velmi nízkých teplotách a ve vakuu, což umožňuje přeměnu vody z pevné fáze do plynné – sublimaci. Další nutná podmínka pro tento proces je, aby tlak, ve kterém se proces uskutečňuje, byl ve fázovém diagramu pod tzv. trojným bodem. Trojný bod, jak je vyobrazeno na Obrázku 15, udává teplotu a tlak systému, ve kterém jsou všechny fáze (kapalná, pevná a plynná) v rovnováze [40].



Obrázek 15. Fázový diagram vody, Solid=pevné, liquid=kapalné, Gas=plynné, Triple point= trojný bod [40]

Díky tomu, že voda není odpařována, ale sublimována, dochází k velmi málo chemickým změnám. Takto sušené produkty mají porézní strukturu se zanedbatelným smrštěním, lépe zachovávají chuť a aroma. Tato metoda ale může být velmi finančně náročná [25, 39, 40]

1.5.1.2 Výběr vhodné metody sušení

Jak je zmíněno výše, zvolená metoda sušení může mít zásadní dopad na degradaci živin. Výsledky výzkumů měření množství vitamínů a chlorofylu v listech v závislosti na způsobu sušení prokázaly, že zvolená metoda sušení má značný vliv na jejich množství. Vitamíny i

chlorofyl jsou velmi citlivé na teplotu, světlo a vzdušný kyslík. Velmi záleží na množství a délce, ve které jsou nimi v kontaktu. Například u vitamínu A se odhaduje, že při sušení na přímém slunečním světle se ho v rostlině udrží pouze 20–40 %, zatímco při sušení ve stínu bude zadrženo 50–70 %. Nejméně se těchto látek zachová při sušení při vysokých teplotách, např. v troubě, nejvíce při sušení mrazem [33, 39].

U celkové antioxidační aktivity výzkum ukázal přesný opak. Sušením při nízkých teplotách byly ztráty mnohem vyšší, než při sušení ve vyšších teplotách a delších časech [25, 39].

Nedá se říct, která metoda sušení je nejvhodnější. Záleží na tom, co od produktu požadujeme a také finanční stránka.

1.5.2 Mletí a skladování

Způsobů, jak usušené rostliny rozmělnit, je mnoho a různí výrobci používají různé metody. V malém měřítku lze usušené rostliny velmi jemně rozmělnit v hmoždíři. Pro velkovýrobu se používají různé drtiče a mlýny (nožové, kulové). K oddělování jemně mletého prášku se běžně používají síta.

Vysušené prášky z rostlin okamžitě absorbují vlhkost, a to i v procesu rozmělnění. Z tohoto důvodu se po rozmělnění prášek musí znovu vysušit, aby se snížil obsah vlhkosti.

Pokud je skladovaný prášek vystaven teplu nebo světlu, degraduje a sníží se obsah živin. Při dodržení následujících podmínek se prášky dají skladovat až několik měsíců. Čistý, sušený prášek musí být [24, 33]:

- Skladovaný ve vzduchotěsných obalech.
- Chráněn před světlem a vlhkostí.
- Uchováván při teplotě do 24 ° C.

1.6 Voda a sorpční vlastnosti

Voda je nejvíce zastoupenou složkou rostlin. Přispívá ke struktuře a vzhledu rostlin a má klíčovou roli při jejich zpracování a skladování. V Potravinách hraje zásadní roli v biochemických reakcích a v mikrobiálním růstu. Tyto dva faktory jsou nejčastějším omezením trvanlivosti potravin. Jak již bylo popsáno výše, jedna z možností, jak prodloužit trvanlivost jednotlivých potravin je sušení. Snížením obsahu vody v potravinách, ale nedochází k usmrcení mikroorganismů, pouze se přestanou rozmnožovat. Celkové množství vody tedy

není faktor, díky kterému u potravin zjistíme, jestli jsou odolné vůči mikroorganismům, chemickým, nebo biochemickým změnám. Faktor, díky kterému se určuje trvanlivost potravin, se nazývá aktivita vody [41, 42, 43].

1.6.1 Aktivita vody

Aktivita vody nám určuje dostupnost vody v potravinách. Souvisí s interakcemi vody s různými složkami v potravine, a se silami na ni působícími. Voda v potravinách různě interaguje jak s nízkomolekulárními látkami (cukry, soli, organické kyseliny), tak s vysokomolekulárními látkami (sacharidy, nerozpustné látky, bílkoviny). Všechny tyto složky v různé míře interagují s vodou a mají schopnost snižovat její tlak par. U malých molekul je to hlavně polární vazbou a u velkých biopolymerů povrchovými interakcemi a kapilárními efekty. Aktivita vody pojednává o vodě, která není vázaná v molekulách a je využitelná pro mikroorganismy [43].

Aktivita vody je definovaná, jako poměr parciálního tlaku vodní páry nad potravinou (p) k parciálnímu tlaku vodní páry čisté vody za určité teploty (p_0). Potraviny se následně dělí podle aktivity vody na potraviny s vysokou vlhkostí, se střední vlhkostí a s nízkou vlhkostí, jejichž hodnoty aktivit vody jsou vyobrazeny v Tabulce 4. Určování aktivity vody je většinou snadnější, než měření celkové vlhkosti potraviny a nedochází k destrukci potraviny. Tudíž je v potravinářském průmyslu velmi často využíváno [41].

$$a_w = \frac{p}{p_0}$$

a_w ... aktivita vody (water activity)

p ... parciální tlak vodní páry nad potravinou

p_0 ...parciální tlak vodní páry čisté vody

Tabulka 7. Rozdělení vlhkosti potravin podle aktivity vody [41]

a_w	Vlhkost
0.95–1.0	Vysoká
0.85–0.95	Střední
0.65–0.85	Nízká

Konzervační procesy potravin jsou zaměřovány na dosažení stability potravin udržováním obsahu vlhkosti pod úrovní potřebnou pro mikrobiální vývoj a biochemické reakce. Většina mikroorganismů se přestává rozmnožovat při a_w 0,6. Tato stabilita závisí na vztahu mezi

obsahem vlhkosti a její korespondující vodní aktivitou při konstantní teplotě. Grafickému znázornění tohoto vztahu se věnuje sorpční izoterme [43, 44].

1.6.2 Sorpční izotermy

Sorpční Izoterma vlhkosti je cenným nástrojem používaným vědci v potravinářství k předpovědi možných změn stability potravin při skladování. To je velmi důležité pro návrh a optimalizaci sušení potravin, balení, předpovídání změn vlhkosti, ke kterým dochází během ohřevu a jejich stabilita při skladování.

Matematicky řečeno, izotermy sorpce vlhkosti jsou rovnice, které popisují vztah mezi aktivitou vody a obsahem vlhkosti v konkrétní rostlině nebo potravině. Jinými slovy popisuje, jak aktivně se voda váže na pevnou látku.

Tyto rovnice se vyobrazují v grafu v podobě:

- adsorpce
- desorpce

Při desorpci ztrácejí pevné látky svůj obsah vody, jako je tomu v případě sušení, zatímco při adsorpci je poměr vlhkosti zvýšen. Z toho vyplývá, že k získání desorpční izotermy je nutné vzorky zvlhčit na vysokou aktivitu vody a poté vysušit, zatímco pro adsorpční izotermy je třeba vzorky předsušit a poté zvyšovat vlhkost [44, 45, 46, 47].

1.6.2.1 Vzhled sorpčních izoterm

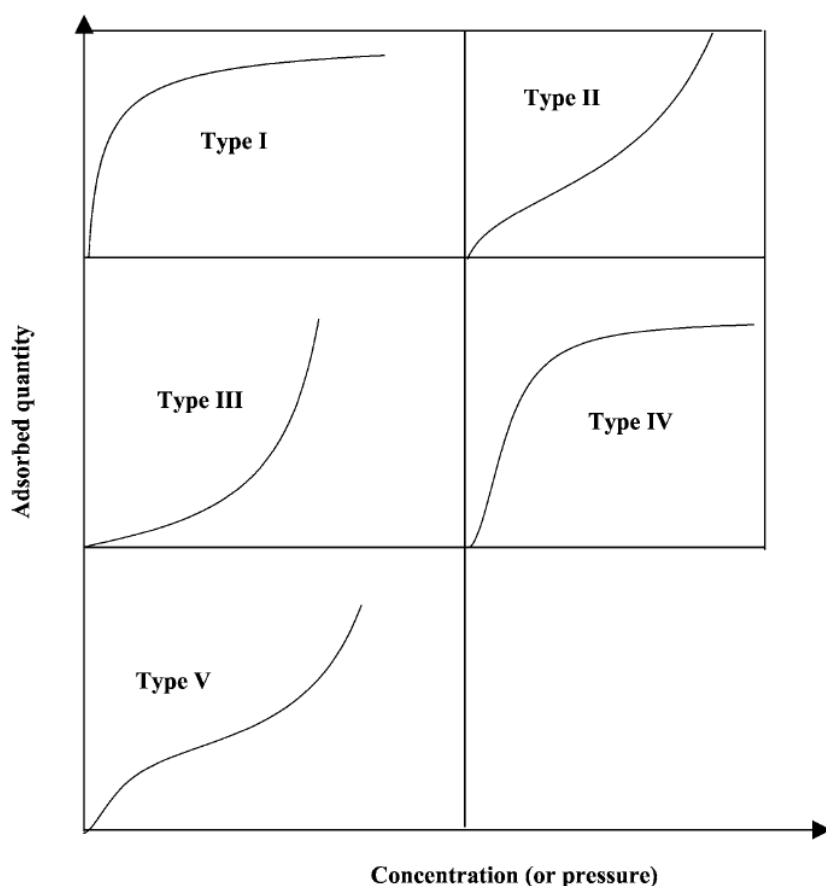
Sorpční izotermy se obvykle klasifikují podle jejich tvaru na pět typů: I, II, III, IV a V, které jsou vyobrazeny na Obrázku 16.

- Křivky typu I mají konkávní průběh při nízké aktivitě vody. Se zvyšující se aktivitou vody vykazují poměrně rychlý nárůst adsorbovaného množství až do nasycení. V limitních hodnotách jsou křivky typu I charakterizovány plošinou, která je téměř vodorovná. Tento typ křivek je charakteristický pro mikroporézní materiály.
- Křivky typu II jsou při nižší aktivitě vody konkávní, následně lineární a ve vyšší aktivitě vody konvexní. Tento tvar se podle písmene S nazývá sigmoidální. Tento typ je charakteristický pro neporézní nebo makroporézní adsorbenty.

- Křivky typu III jsou konvexní v celém svém průběhu. Takové křivky vykazují hydrofobní materiály. Při vyšších vlhkostech se tvoří navrstvené ostrůvky vody, aniž by se vytvořila souvislá první molekulová vrstva.
- Křivky typu IV a V vycházejí z typů II a III.

Zcela výjimečně se objevují i křivky typu VI, které jsou stupňovité. V literatuře byly navrženy různé matematické modely k popisu sorpčních izoterm. Některé byly vyvinuty s teoretickým základem k popisu adsorpčních mechanismů, zatímco jiné jsou pouze empirické nebo zjednodušení propracovanějších modelů.

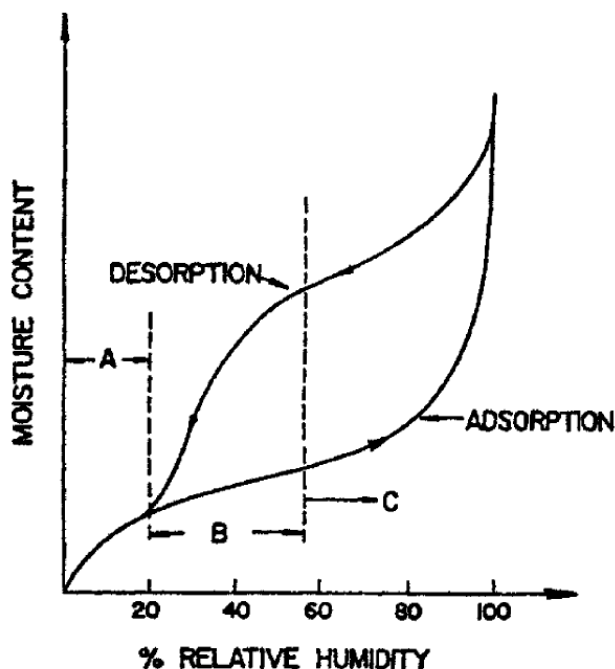
Sušené potravinářské výrobky obvykle vykazují převážně izotermu typu II. Bylo však zjištěno, že potraviny bohaté na rozpustné složky, jako jsou cukry, vykazují chování typu III, což je způsobeno rozpustností cukrů ve vodě [41, 44, 45, 47].



Obrázek 16. Typy adsorpčních izoterm, osa x: aktivita vody, osa y: vlhkost [47]

Pro účely interpretace lze zobecněnou izotermu sorpce vlhkosti pro hypotetický potravinový systém rozdělit do tří hlavních oblastí, jak je podrobně uvedeno na Obrázku 17. Oblast A představuje silně vázanou vodu. Typickým případem je sorpce vody na vysoce hydrofilní

biopolymery, jako jsou proteiny a polysacharidy. Obsah vlhkosti teoreticky představuje adsorpci první vrstvy molekul vody. Molekuly vody v této oblasti jsou obvykle nemrznoucí a nejsou k dispozici pro chemické reakce. Oblast B představuje vodní molekuly, které jsou méně vázané, zpočátku jako vícevrstvé nad jednovrstvou. V této oblasti je voda zadržována v pevné matici kapilární kondenzací. Tato voda je k dispozici jako rozpouštědlo pro rozpuštěné látky s nízkou molekulovou hmotností a pro některé biochemické reakce. V oblasti C nebo vyšší je přebytečná voda přítomna v makrokapilárách nebo jako součást kapalné fáze v materiálech s vysokou vlhkostí. To vykazuje téměř všechny vlastnosti objemové vody, a je tedy schopné působit jako rozpouštědlo. Mikrobiální růst se v této oblasti stává významnou zhoršující se reakcí [47].



Obrázek 17. Zobecněné sorpční izotermy pro potraviny [47].

1.6.3 Sorpční hystereze

Další zkoumaný jev v souvislosti se sorpčními izotermami se nazývá sorpční hystereze. Hystereze je sorpční jev, který do značné míry zůstal nevysvětlený. Jde o jev, který lze vidět na Obrázku 17, při kterém v dané úrovni aktivity vody a teploty hmota během adsorpčního procesu zadržuje menší množství vlhkosti než během následného desorpčního procesu. Jinak řečeno, průběh adsorpčních a desorpčních izoterm není ve stejné energetické hladině a vzniká tak hysterezní smyčka. Desorpční izoterma hysterezní smyčky je potom vždy na vyšší energetické úrovni než adsorpční izoterma. Je známo, že sorpční hystereze je ovlivňována teplotou, vlastnostmi komponent, metodami ekvibrace a historií materiálů.

Většina existujících hypotéz vysvětluje jev fyzickými změnami v adsorpční matici. Důvodem, proč by mělo být desorpční rameno hysterezní smyčky na vyšší energetické úrovni, než adsorpční rameno smyčky je, že progresivní adsorpce molekul adsorbátu při zvyšujícím se tlaku může způsobit bobtnání některých adsorbentů. To způsobí uvolnění jak napětí, tak kohezních sil uvnitř adsorpční matrice, což vede k tvorbě mikrotrhlin a prasklin. Díky nim je možno adsorbát při desorpci vystavit vyšší energetické úrovni, která dříve nebyla molekulám adsorbátu k dispozici.

Rozsah hystereze souvisí s povahou a stavem složek v potravine, což odráží jejich potenciál pro strukturální a konformační přesmyky. Bylo potvrzeno, že hysterezi lze použít jako index kvality potravin. V tomto indexu kvality zvýšená hystereza spojená se zvýšeným obsahem vlhkosti svědčí o snížené kvalitě, zatímco snížená hystereze a snížený obsah vlhkosti svědčí o zlepšených nemikrobiologických atributech kvality potravin [44, 45, 46, 47].

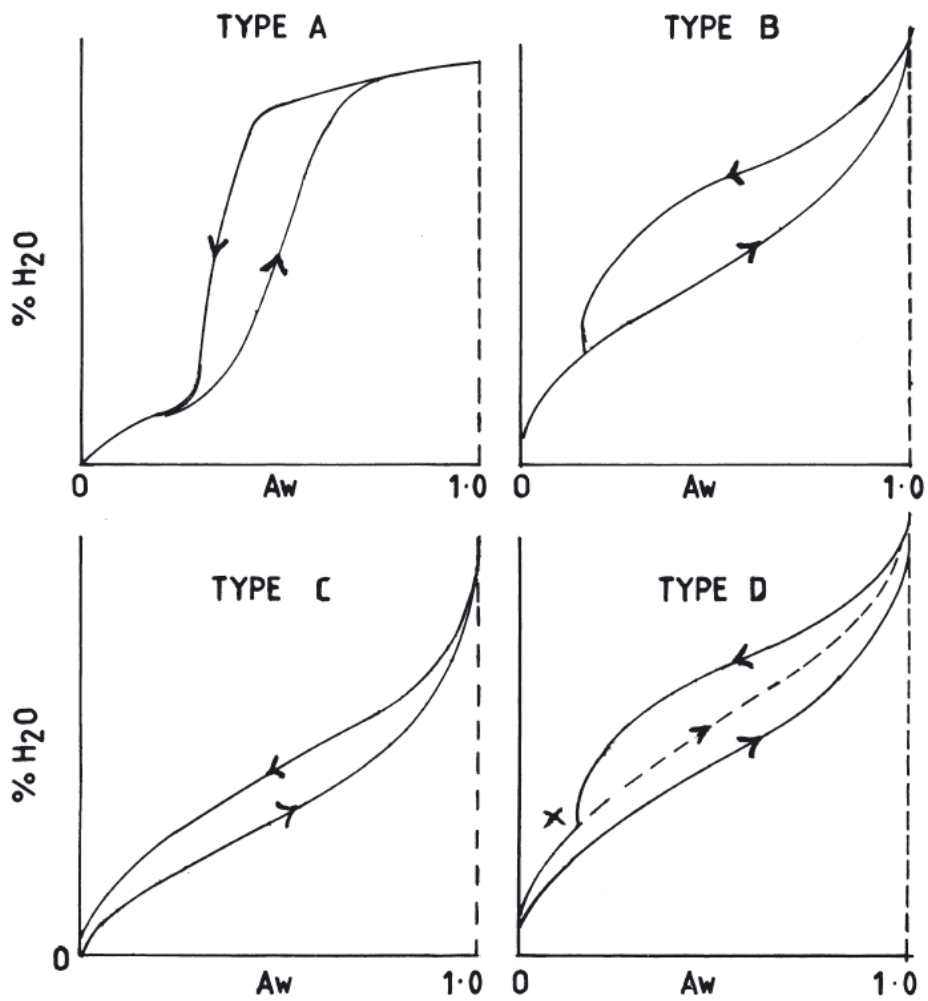
1.6.3.1 Vzhled hysterezních smyček

Možností charakteristiky hysterezních smyček je hned několik. První varianta dělí hysterezní smyčky podle oblasti vlhkosti, ve které se nacházejí [47].

- Potraviny s vysokým obsahem cukru a s vysokým obsahem pektinu mají výraznou hysterezi v oblasti s nižším obsahem vlhkosti.
- Potraviny s vysokým obsahem bílkovin mají hysterezi začínající při vysoké aktivitě vody v oblasti kapilární kondenzace.
- U škrobových potravin se uvádí velká smyčka, přičemž maximální odchylka mezi křivkami se vyskytuje kolem a_w 0,7 nebo v oblasti kapilární kondenzace.

Druhá možnost je znázorněna na Obrázku 18, kde se hysterezní křivky dělí na čtyři typy.

- Typ A je charakterizován velice strmými schody, které jsou v adsorpční i v desorpční křivce rovnoběžné. Tato hystereze je typická pro válcovité póry.
- Typ B mají materiály s komplexní porézní strukturou tvořenou převážně z propojených porézních sítí s póry různých šířek a tvarů.
- Typ C nemá žádný limit při nízké aktivitě vody a je obvykle dán agregáty částic s velkou plochou nebo adsorbentů obsahujících škvírové póry.
- Typ D je spojením typu B a C, a lze jej pozorovat u úzkých škvírových porů [46, 47].



Obrázek 18. Typy hysterezních smyček [46]

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část práce se soustředí na hodnocení antioxidační aktivity a sorpčních vlastností vybraných osmi doplňků stravy ve formě prášku pocházejících ze zelených částí rostlin. V první části je hodnocena antioxidační aktivita přírodních doplňků stravy pomocí dvou metod. První použitá je metoda fyzikálně – chemická, hodnotící celkový náboj elektro-aktivních látek v C. Druhá metoda je chemická a spektrofotometricky hodnotí barevnou změnu radikálu DPPH. V druhé části jsou pomocí přístroje DVS Intrinsic Plus změřeny sorpční vlastnosti a vyobrazeny absorpční a desorpční izotermy jednotlivých prášků při 25° Celsia a jejich rozdílné hystereze.

2.1 Pomůcky a použité chemikálie

Pro všechny experimentální části byly použity:

Chemikálie

- Metanol $\geq 99,9$ % (Chromasolv[®], Sigma- Aldrich[®] pro HPLC)
- Kyselina mravenčí $\geq 99,9$ % (Sigma- Aldrich[®] pro HPLC)
- Kyselina chlorovodíková 0,1M (Sigma- Aldrich[®])
- Acetonitril $\geq 99,9$ % (Sigma- Aldrich[®] pro HPLC)
- Dihydrogenfosforečnan draselný $\geq 99,9$ % (Penta Chemical Unlimited)
- Roztok DPPH (Sigma- Aldrich[®])

Pomůcky

- Centrifugační zkumavky 2ml (Eppendorf[™])
- Stříkačky 2ml (BD Discardit[™] II)
- Stříkačkové filtry 0,22 μ m (Chromservis[®])
- Vialky 2 ml tmavé, šroubovací (Chromservis[®])

Zařízení

- Analytické váhy (Fisher Scientific, KERN AEJ _N/AES _N)
- Automatické pipety (Fisher Scientific, Fisherbrand[®] Elite)
- Ultrazvuková lázeň (Fisher Scientific, Sonorex[™])
- Odstředivka (Fisher Scientific, Eppendorf[™] MiniSpin[™])
- CoulArray[®] (ESA Inc., Chelmsford, MA, USA)

- HPLC Autosampler (ESA Inc. - model 542)
- Spektrofotometr (Genesis 50 UV-VIS, Thermo Scientific)
- DVS Intrinsic Plus (Surface Measurement Systems, Ltd. Velká Británie)

Software

- Biorender.com (pro všechny ilustrace, schémata a postupy použité v této práci)
- Reaxys.com (pro všechny chemické vzorce a struktury vyobrazené v této práci)
- CoulArray® 3.1 (pro automatickou integraci píků v měření FIA/ECD)
- Microsoft Excel (pro vyhodnocování grafů)
- Visionlite 5.4 (Spektrofotometr)
- DVS Control Software 1.3 (pro vyobrazení izoterm a hysterezí)
- DVS Standard Analysis Suite Version 7.4 (pro práci v Microsoft Excel)

2.2 Extrakce vzorků

Pro hodnocení antioxidační aktivity jednotlivých prášků byla provedena extrakce do metanolu. Jak lze vidět na Obrázku 19 všech 8 komerčně prodávaných doplňků stravy v podobě zelených prášků pro analýzu FIA/ECD bylo:

- Naváženo (cca 5mg) prášků do centrifugálních zkumavek o objemu 2ml
- Přidáno 1 ml metanolu s 0.1 % kyselinou mravenčí
- Přidáno 30 μ l 0.1M HCl
- Vloženo na 30 minut do ultrazvukové lázně
- Odstředěno (5 000 rpm, 15 min)
- Zředěno mobilní fází 1000x
- Filtrováno přes 0,22 μ m stříkačkový filtr
- Vloženo do 2ml vialek

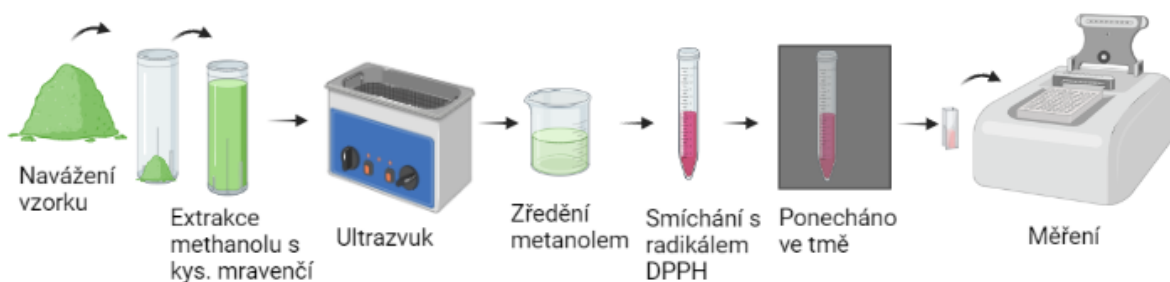


Obrázek 19. Postup přípravy vzorku pro FIA/ECD analýzu antioxidačních aktivit

V přípravě vzorků pro měření FIA/ECD byly zapotřebí malé objemy, na rozdíl od přípravy vzorků pro spektrofotometrickou radikálovou analýzu, jak značí Obrázek 20, kde bylo:

- Naváženo (cca 100mg) prášků do skleněných o objemu 10ml
- Extrahováno do 20 ml metanolu s 0.1 % kyselinou mravenčí
- Vloženo na 30 minut do ultrazvukové lázně
- Zředěno metanolem 10x

Rozdíl v přípravě vzorků je nejen v použitých poměrech, ale bylo vynecháno i přidání HCl, odstředění a filtrování. Kyselina chlorovodíková má simulovat kyselé prostředí v organismu, na analýzu nemá vliv. Při použitých větších objemech pevné částice prášku sedimentovaly, tudíž nebylo potřeba odstředění. Filtrace je velmi důležitá k zajištění maximální čistoty pro HPLC, ale u spektrofotometrické metody nebyla nutná.



Obrázek 20. Postup přípravy vzorku pro spektrofotometrickou analýzu antioxidačních aktivit

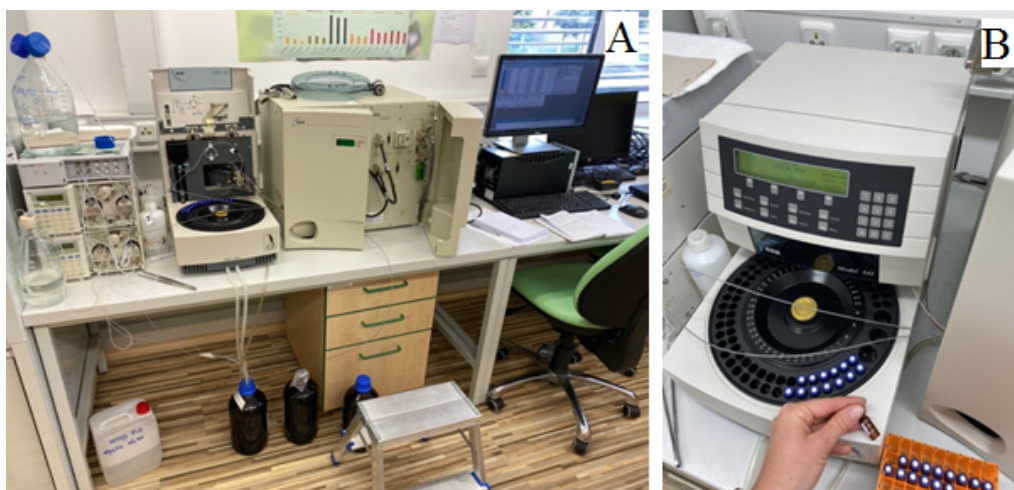
V obou metodách byl každý vzorek zpracován 2x k zajištění požadované přesnosti. Pro měření sorpčních aktivit prášků nebyla potřeba žádná extrakce či příprava.

2.3 Postup měření antioxidační aktivity metodou FIA-ECD

Jako první bylo provedeno měření antioxidační aktivity elektro – aktivních látek ve vybraných doplňcích stravy pomocí FIA průtokové injekční analýzy ve spojení s elektro – chemickým detektorem ECD. Tuto metodu používají v Ústavu Nutrice a Diagnostiky s.r.o Pardubice, kde bylo prováděno i toto měření.

Metoda FIA je založená na nástřiku vzorku do nosného proudu mobilní fáze a ve spojení s multikanálovým elektrochemickým detektorem CoulArray je měřena změna elektrického proudu v čase. Celá aparatura je vyobrazena na Obrázku 21 A. Součástí CoulArray detektoru mohou být až 4 sériově zapojené elektrochemické cely. Díky poréznímu grafitu o velikosti pórů 220 nm v pracovních elektrodách dochází ke coulometrické účinnosti měření přeneseného náboje, což je jištěno systémem dvou referentních a dvou pomocných elektrod.

Připravené 2 ml vialky byly vkládány do autosampleru vyobrazeném na Obrázku 21 B. Obsah každé vialky byl analyzován celkem třikrát. Byla použita mobilní fáze fosfátového pufru o koncentraci 0,05 M s přidavkem 10 % ACN o celkovém pH 4,8. Průtok mobilní fáze v průběhu měření byl nastaven na 1 ml/min, nástřik byl 10 μ l. Protože stanovení bylo provedeno metodou FIA, nebyla použita žádná chromatografická kolona a do systému byla pouze zařazena série filtrů, aby zabránily případným nečistotám dostat se do elektrochemické cely. Potenciály na pracovních elektrodách aplikované proti suché referentní hydrogen-palladiové elektrodě byly 200, 400, 600 a 800 mV. Celková antioxidační aktivita byla zaznamenána jako průměrný celkový náboj v μ C a byla vypočtena pomocí integrace plochy výsledných píků. Při vyhodnocení se nejprve vypočetl celkový náboj, jako součet náboje na jednotlivých celách po odečtení naměřeného slepého náboje a pro každý vzorek se vypočetl průměrný celkový náboj. Celkový čas stanovení celkové antioxidační aktivity jednoho vzorku byl 1,1 min. Pro kontrolu správnosti měření a funkčnosti senzoru před měřením byla provedena kalibrace pomocí roztoků kyseliny dihydroxybenzoové (DHBA) o koncentracích 1–5 μ g/ml.



Obrázek 21. A: Celá aparatura CoulArray B: Vkládání připravených vialek do autosampleru [zdroj vlastní]

2.4 Postup měření antioxidační aktivity spektrofotometrickou metodou

Jako druhá metoda použitá k určení antioxidační kapacity vybraných vzorků byla radikálová metoda DPPH. V této metodě byla sledována reakce testovaného extraktu se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem – DPPH (12,5 mg v 500 ml metanolu). Po smíchání 500 μ l extrahovaných vzorků s 5ml připraveného roztoku DPPH byly vzorky ponechány 20 minut ve tmě. Ve tmě dochází k redukci a odbarvení radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazinu). Díky intenzivnímu fialovému zbarvení tohoto radikálu byla daná reakce sledována spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm, která odpovídá maximu absorpance daného radikálu. Směs 5 ml roztoku DPPH s 500 μ l čistého metanolu byla použita jako slepý vzorek. Výsledky jsou uváděny v procentech inhibice absorpance DPPH vztažené k absorpanci slepého vzorku, vypočítané podle vzorce:

$$\frac{\text{Absorbance slepého vzorku} - \text{Absorbance sledovaného vzorku}}{\text{Absorbance slepého vzorku}} * 100$$

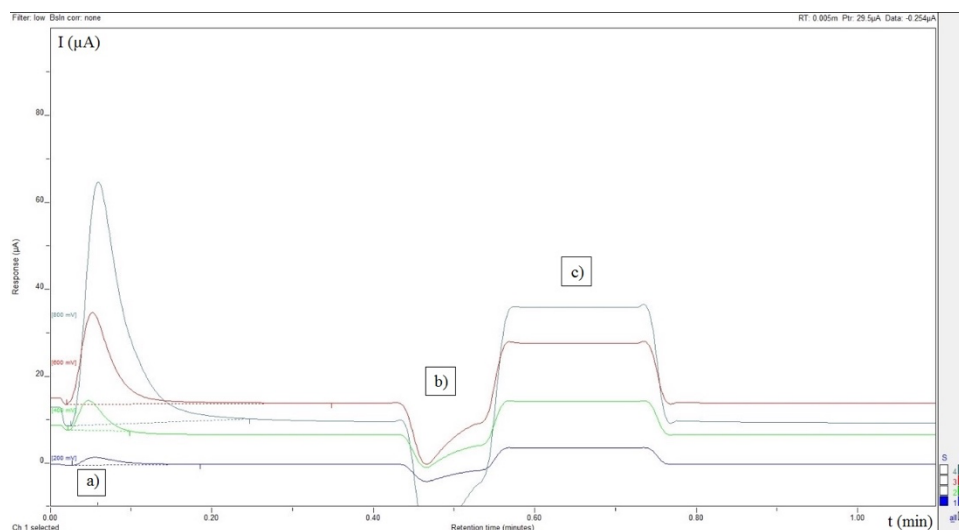
2.5 Stanovení sorpčních izoterem a hystereze

Ke stanovení sorpčních vlastností jednotlivých prášků byl použit přístroj DVS Intrinsic Plus. Z každého prášku bylo postupně na hliníkovou mističku odebráno okolo 10mg a mistička byla zavěšena do přístroje. Před analýzou byl každý vzorek vysušen na 0% vlhkosti a ponechán tak 3 h. Nastavení rychlosti vzduchu bylo 200ccm. Následně začalo zvyšování vlhkosti po 10% až do 80% a poté na 85%. Každá úroveň relativní vlhkosti byla udržována až do splnění zadané podmínky, kdy změna hmotnosti v čase musí být menší než 0,002 % po dobu 20 minut. Desorpční izoterma byla stanovena za stejných podmínek při poklesu relativní vzdušné vlhkosti z 85 % na 0 %. Celkový čas pro jednu analýzu byl 48 hodin.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Antioxidační aktivita stanovená metodou FIA-ECD

Na Obrázku 22 je znázorněn FIA/ECD záznam analýzy při vložených pracovních potenciálech 200, 400, 600, 800 mV s automatickou integrací píků.



Obrázek 22. Záznam analýzy FIA/ECD

V časovém úseku a) jsou vidět odezvy na pracovních elektrodách. Plocha pod křivkou odezvy odpovídá velikosti přeneseného náboje mezi elektro – aktivním analytem a pracovní porézni grafitovou elektrodou. Čas jednotlivých sekvencí je uveden v Tabulce 5.

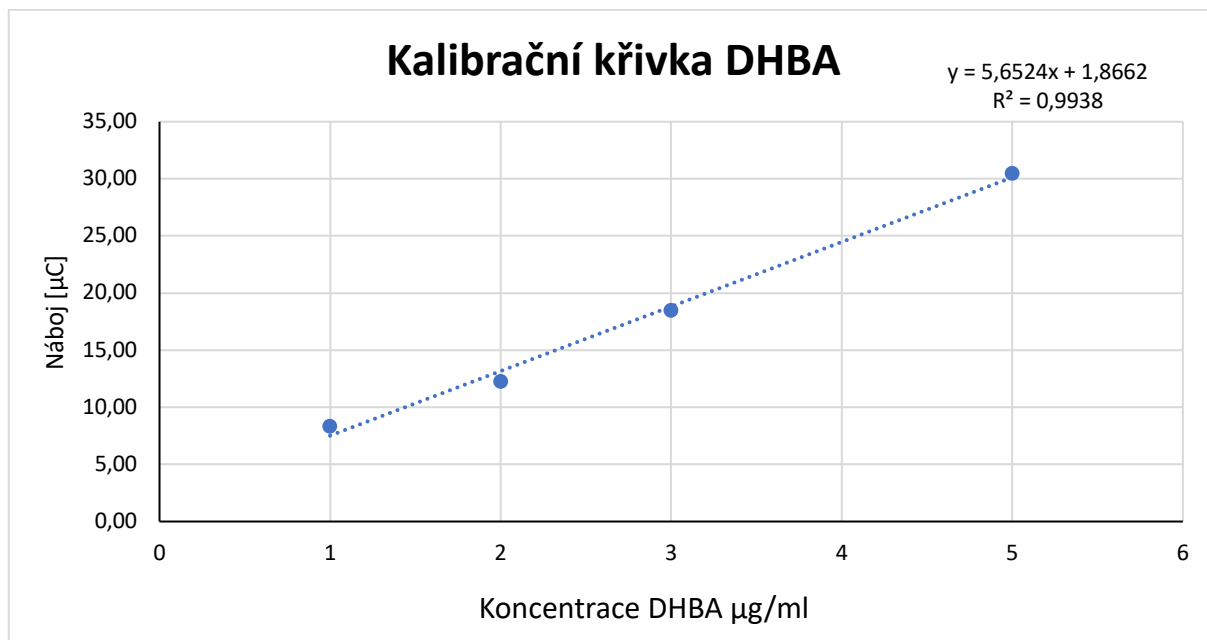
V časovém úseku b) probíhá elektrochemické čištění pracovní elektrody vložením na pracovní elektrodu nejprve záporného potenciálu (-800 mV) a poté kladného potenciálu (+1000 mV).

V časovém úseku c) dochází k nastavení výstupního signálu na nulovou základní linii (autozero).

Tabulka 8. Časové rozložení jednotlivých sekvencí analýzy metodou FIA/ECD.

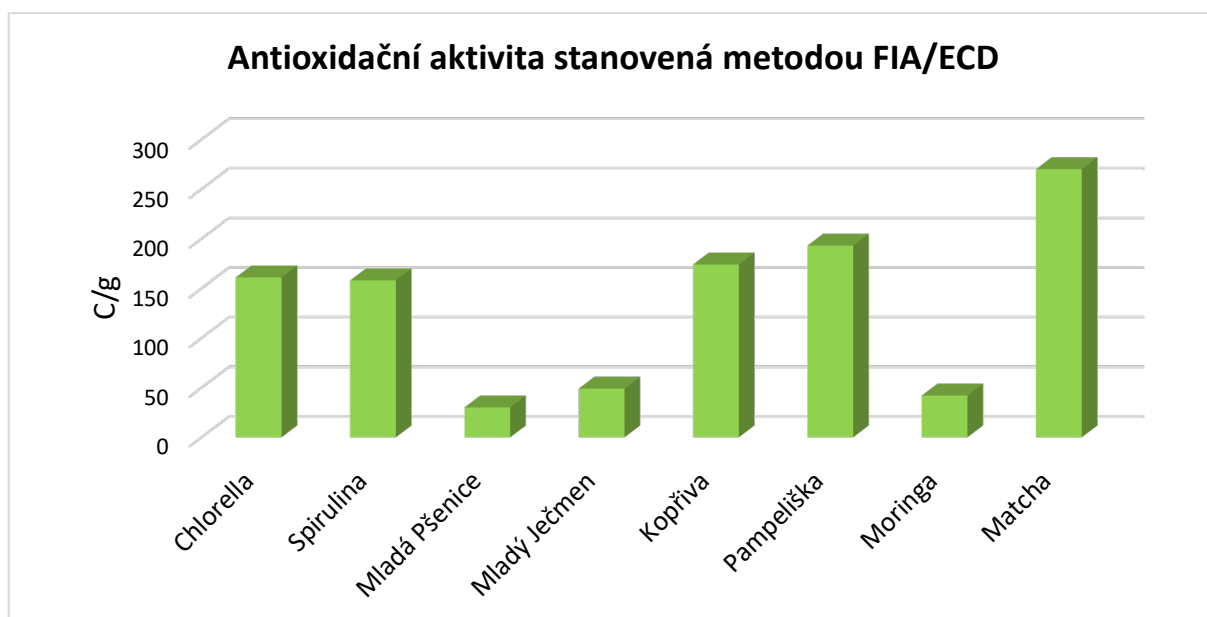
Čas (min)	Sekvence
0,00 – 0,3	Nástřik, akvizice
0,45 – 0,55	Čištění cel
0,57	Nulování základní linie
1,10	Stop

Pro zjištění linearity odezvy byla vynesena kalibrační křivka znázorněná na Obrázku 23, jako závislost naměřeného náboje v μC na koncentraci standardu kyseliny dihydroxybenzoové. Koncentrace standardů byly 1, 2, 3 a 5 $\mu\text{g/ml}$.



Obrázek 23. Kalibrační křivka DHBA z FIA/ECD

Na Obrázku 24 je výsledný graf antioxidačních aktivit jednotlivých doplňků stravy. Výsledky jsou vyjádřené v C na 1 g prášku. S nejnižší antioxidační aktivitou se ukázaly být Mladý ječmen s 49 C/g, listy ze stromu Moringa s 42 C/g a Mladá pšenice s 30 C/g. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u zeleného čaje Matcha, jehož hodnota 270 C/g je skoro 9x vyšší než Mladá pšenice. Ukázalo se, že vzorky ze stejné kategorie, jako jsou mikrořasy, byliny a mladé obilniny, mají i podobně velké antioxidační aktivity.

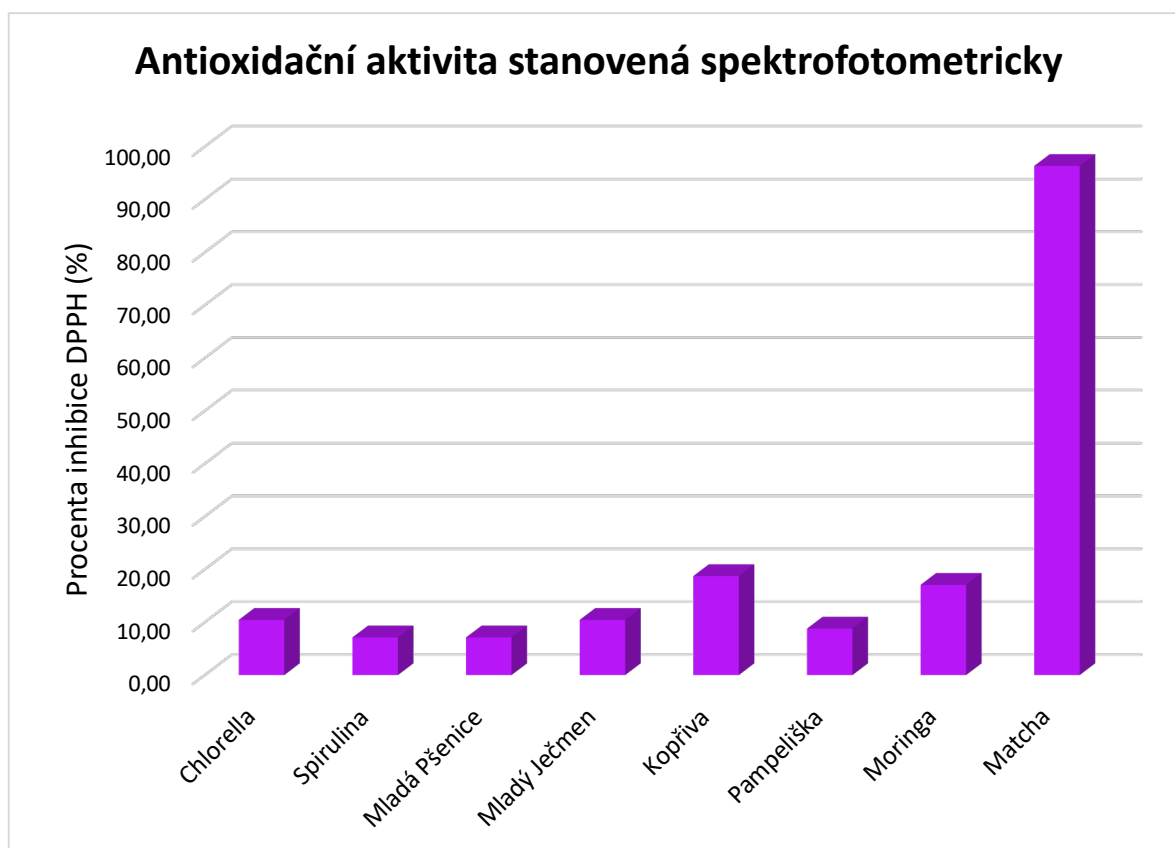


Obrázek 24. Grafické znázornění výsledků analýzy měření antioxidační aktivity FIA/ECD v C na g prášků

3.2 Antioxidační aktivita stanovená spektrofotometricky

Jak je znázorněno na Obrázku 25, všechny doplňky stravy, až na zelený čaj Matcha, snižovaly absorbanci pouze v rozmezí o 7–19 %. Naopak prášek ze zeleného čaje Matcha absorbanci snižoval o 96 %, což potvrzuje výsledek z prvního měření metodou FIA/ECD. Naměřené absorbance a vypočítané procenta inhibice absorbance DPPH, jsou vyobrazeny v Tabulce 6.

I přesto, že výsledky mohou být zkresleny výrazným zeleným zbarvením jednotlivých prášků, antioxidační aktivita čaje Matcha je oproti ostatním vybraným přírodním doplňkům stravy jednoznačně mnohonásobně vyšší. Jak bylo popsáno v teoretické části práce, čaj Matcha obsahuje ve svém složení opravdu hodně bioaktivních látek s antioxidační aktivitou. Polyfenolické látky v čaji Matcha mohou tvořit až 30% suché biomasy [38], což je pravděpodobně nejvíce ze všech vybraných doplňků stravy. Takové množství polyfenolů s poměrně vysokým obsahem kofeinu může být odůvodněním, proč má čaj Matcha o tolik vyšší antioxidační aktivitu v porovnání s ostatními doplňky stravy.



Obrázek 25. Grafické znázornění výsledků spektrofotometrické analýzy měření antioxidační aktivity metodou DPPH

Tabulka 9. Naměřené hodnoty absorbance a procenta inhibice DPPH u vzorků prášků

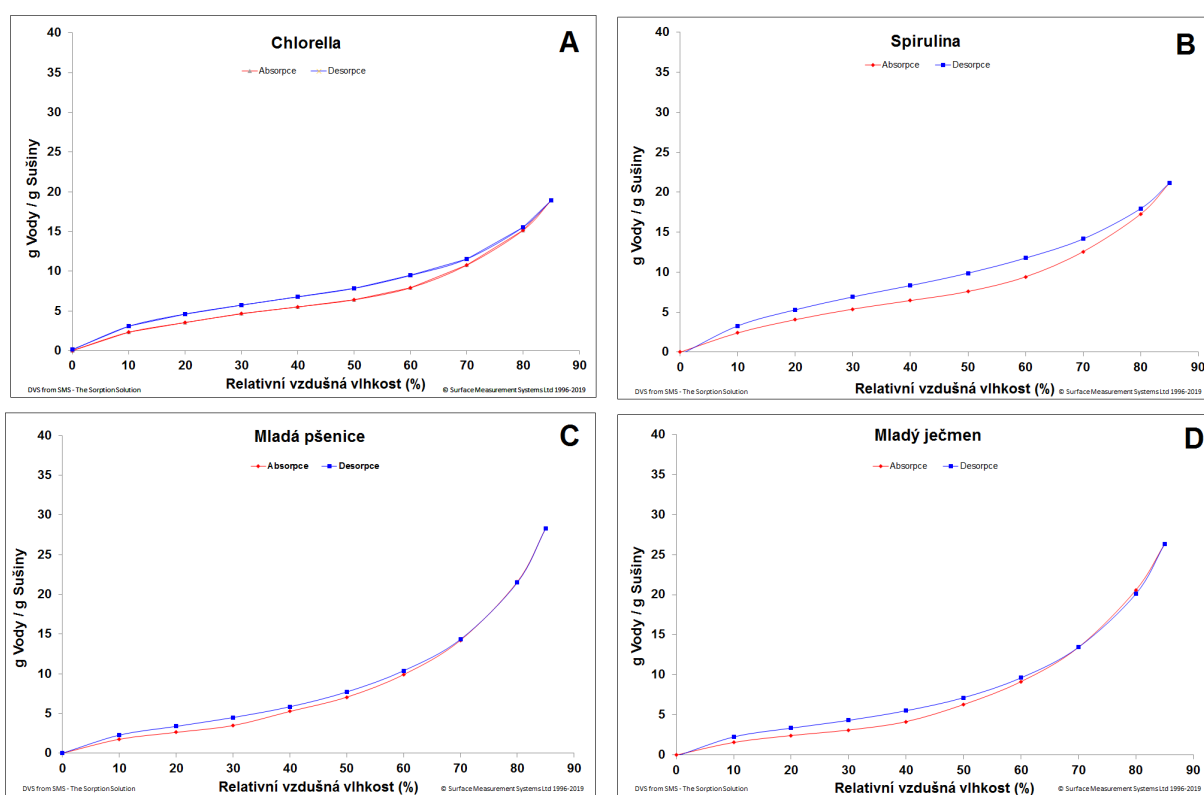
	Změřená absorbance (A)	Procenta inhibice (%)
Slepý vzorek	0,603	
Chlorella	0,54	10,45
Spirulina	0,56	7,13
Mladá Pšenice	0,56	7,13
Mladý Ječmen	0,54	10,45
Kopřiva	0,49	18,74
Pampeliška	0,55	8,79
Moringa	0,5	17,08
Matcha	0,022	96,35

3.3 Sorpční izotermy a hystereze

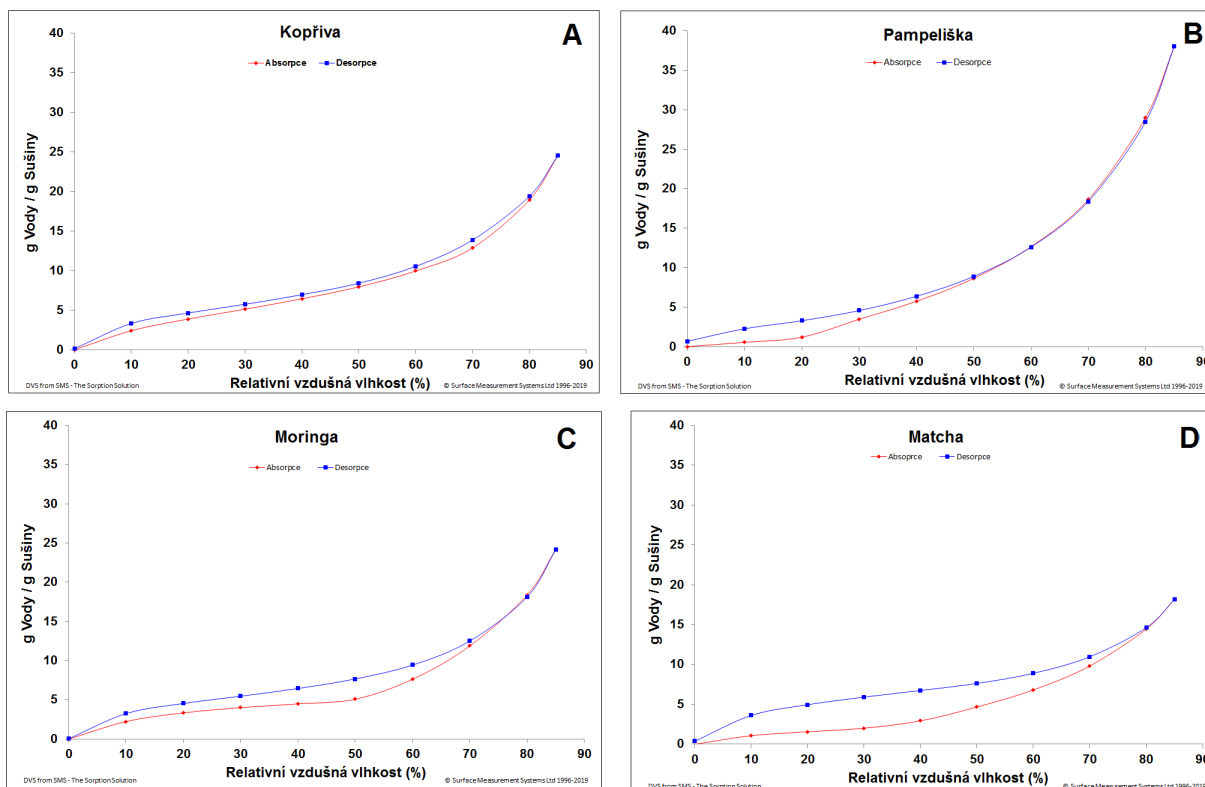
Vzhled křivek jednotlivých vzorků, přímo souvisí s mnoha faktory. Hlavním faktorem je základní složení jednotlivých prášků. Jinak se budou chovat vzorky, které mají ve složení převážně bílkoviny a jinak ty, které se skládají převážně ze sacharidů. Další kritérium, které křivky ovlivňuje, je velikost jednotlivých zrněk v prášku. Aby se daly výsledné sorpční izotermy přesně porovnat, musely by sušené rostliny být rozmělněné na stejnou velikost, což je u komerčně prodávaných prášků nemožné. Výsledky experimentu tedy mohou být mírně

ovlivněny různou velikostí jednotlivých zrněk v prášcích. Další faktor, který ovlivňuje vzhled jednotlivých izoterm, je vybraný způsob sušení. Jinak se budou chovat prášky vysušené teplem a jinak lyofylizované. Informace o tom, jakým způsobem byly komerčně prodávané prášky sušené, bohužel není dohledatelná.

Na Obrázcích 26 a 27 jsou graficky znázorněny sorpční izoterm vybraných vzorků. Všechny izoterm se jeví jako typ II. Rozdílem vyobrazených sorpčních izoterm vybraných prášků je jejich maximální absorbovaná vlhkost, která se pohybuje mezi 15 % a 40 %. Liší se i velikostí hystereze, tedy rozdílem mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci, a na procentu relativní vzdušné vlhkosti, ve které se hysterezní smyčky vyskytují.



Obrázek 26. Grafické znázornění sorpčních vlastností vybraných doplňků stravy z mikrořas (A- Chlorella, B- Spirulina) a obilnin (C – Mladá pšenice, D – Mladý ječmen)



Obrázek 27. Grafické znázornění sorpčních vlastností vybraných doplňků stravy z bylin (A – Kopřiva, B – Pampeliška) a z listů stromu a keře (C – Moringa, D – Matcha)

Všechny sorpční izotermy jsou porovávány v souvislosti se základním složením jednotlivých vzorků prášků. Informace o složení jsou získány z dat poskytnutých výrobcem a k nalezení jsou v příloze A.

Na Obrázku 26 lze vidět korelace mezi vzorky ze stejné kategorie. Mikrořasy Chlorella (graf A) i Spirulina (graf B) mají ve svém složení převážně bílkoviny (60 %) a jejich sorpční izotermy jsou téměř identické. Stejně tak tomu mají i vzorky mladých obilnin, Mladé pšenice (graf C) i Mladého ječmene (graf D), které jsou složeny převážně z vlákniny (30-40 %) a bílkovin (20 %). Zásadním rozdílem mezi těmito dvěma kategoriemi je obsah vlhkosti prášků při maximální relativní vlhkosti vzduchu (tj. 85 %). U mladých obilnin se vlhkost prášků blíží ke 30 % (Mladá pšenice 28.31 %, Mladý ječmen 26.32 %), zatímco mikrořasy mají obsah vlhkosti prášků nižší (Chlorella 18.93 %, Spirulina 21.14 %).

Hysterezní smyčky u mikrořas se vytvořily v celém rozsahu osy X a odpovídají typu hysterezních smyček C. Největší rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci je v oblasti 60 % relativní vzdušné vlhkosti, a to u Chlorelly 1.56 % a u Spiruliny 2.34 %.

Hysterezní smyčky u mladých obilnin se pohybují mezi 10 a 60 % relativní vzdušné vlhkosti a odpovídají hysterezním smyčkám typu A. Hysterezní smyčky Mladé pšenice mají největší rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci 1.01 % v oblasti 30 % relativní vzdušné vlhkosti. Mladý ječmen ve 40 % relativní vzdušné vlhkosti s rozdílem mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci 1.37 %.

Na Obrázku 27 jsou vyznačeny sorpční izotermy bylin a listů. Kopřiva (graf A) má ve svém složení 26 % sacharidů a 31 % bílkovin, pampeliška (graf B) má ve svém složení 40 % sacharidů a 19 % bílkovin. Obsah vlhkosti prášků při maximální relativní vlhkosti vzduchu (tj. 85 %) je u kopřivy 24.52 % a u pampelišky 38.02 %.

Hysterezní smyčka kopřivy je viditelná v celém rozsahu osy X, s většími rozdíly při 10 % relativní vzdušné vlhkosti, kdy rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci je 0.92 % a ke konci měření při 70 % relativní vzdušné vlhkosti, kdy největší rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci je 1.01 %. Pampeliška má jednu větší smyčku v nízkých hodnotách osy X, s největším rozdílem mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci 2.08 % při 20 % relativní vzdušné vlhkosti. Hysterezní smyčky kopřivy i pampelišky odpovídají typu C.

Listy stromu Moringa (graf C) mají ve svém složení nejmenší procento bílkovin (7.8 %) ze všech vzorků, skládá se tak převážně jen ze sacharidů. Ve složení prášku Matcha z listů keře čajovníku (graf D) také převládají sacharidy, i tak obsahuje 19 % bílkovin. Obsah vlhkosti v prášku Moringy při 85 % relativní vzdušné vlhkosti je 24.15 % a prášku Matcha 20 %.

Hysterezní smyčka Moringy se vyobrazila v rozmezí 0 až 75 % relativní vzdušné vlhkosti s největším rozdílem mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci 2.29 % při 50 % relativní vzdušné vlhkosti. Hysterezní smyčka vzorku čaje Matcha má největší rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci mezi 20–30 % relativní vzdušné vlhkosti a to 3.9 %. Rozdíl 3.9 % čaje Matcha je největší ve srovnání s ostatními vzorky. Hysterezní smyčky prášků Moringa i Matcha odpovídají typu C.

4 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo hodnocení antioxidační aktivity a sorpčních vlastností přírodních doplňků stravy z mikrořas *Chlorella* a *Spirulina*, z mladých obilnin Mladá pšenice a Mladý ječmen, z bylin kopřiva a pampeliška a z listů stromu *Moringa* a keře čajovníku *Matcha*. V experimentální části práce byla hodnocena antioxidační aktivita všech osmi vybraných doplňků stravy v podobě vysušených zelených prášků, za použití dvou zcela odlišných metod. První, fyzikálně – chemickou metodou byl měřen celkový náboj elektro-aktivních látek ve vzorcích pomocí FIA/ECD. Druhou, radikálovou metodou byla spektrofotometricky měřena barevná změna syntetického radikálu DPPH. Výsledky měření oběma metodami se shodují ve velmi vysoké antioxidační aktivitě čaje *Matcha*. Ta v první metodě FIA/ECD byla například až 9x vyšší než u Mladé pšenice. U spektrofotometrické metody byl prášek *Matcha* jediný, který syntetický radikál DPPH úplně (z 96,35 %) odbarvil, což potvrzuje jeho mnohem vyšší antioxidační aktivitu než ostatních vzorků. Ostatní vzorky radikál odbarvily naprosto minimálně, a to v rozmezí od 7,13 % (*Spirulina* a Mladá pšenice) do 18,74 % (kopřiva).

V další experimentální části byly hodnoceny sorpční vlastnosti vybraných doplňků stravy. Všechny prášky vykazovaly typ sorpčních izoterm II. Rozdílem byly různé maximální absorbované vlhkosti prášků, které se pohybovaly mezi 18 % u *Spiruliny* a 28 % u pampelišky. Hysterezní smyčky u mladých obilnin se jeví jako typ A, všechny ostatní vzorky vykazovaly typ C. Lišily se ale velikostí rozdílu mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci, a na procentu relativní vzdušné vlhkosti, ve které se hysterezní smyčky vyskytovaly. Největší rozdíl mezi obsahem vlhkosti při adsorpci a desorpci vykazoval prášek *Matcha*, který ve svém složení obsahuje i nejvíce polyfenolických látek. Z výsledků můžeme říci, že vzorky s podobným složením základních živin (bílkoviny, sacharidy) vykazovaly i podobné sorpční vlastnosti.

5 POUŽITÁ LITERATURA

1. **Pavel Stratil, Vlastimil Kubáň.** *Reaktivní kyslíkové radikály, přírodní antioxidanty a jejich zdravotní účinky.* Český Těšín: 2THETA, 2018.
2. **İlhami Gulcin.** *Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview.* Archives of Toxicology. 2020; 94, stránky 651–715. DOI: 10.1007/s00204-020-02689-3
3. **Deepshikha Gupta.** *Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A Review.* Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2015; 6 (2), stránky 546-66. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6 (2).546-66
4. **Michael Antolovich, Paul D. Prenzler, Emiliós Patsalides, Suzanne McDonald, Kevin Robards.** *Methods for testing antioxidant activity.* Analyst, 2002; 127. stránky 183–198. DOI: 10.1039/b009171p.
5. **Abhishek Thakur, Rakesh Sharma.** *Health Promoting Phytochemicals in Vegetables: A Mini Review.* International Journal of Food and Fermentation Technology. 2018; 8 (2) stránky 107-117. DOI: 10.30954/2277-9396.02.2018.1.
6. **Goran Petrovic.** *Chemometric analysis of chlorophyll a, b and carotenoid content in green leafy vegetables.* Biologica Nyssana, 2013; 4 (1-2), stránky 49-55.
7. **Komal Rani, Dr. Nidhi Sandal, PK Sahoo.** *A comprehensive review on chlorella- its composition, health benefits, market and regulatory scenario.* The Pharma Innovation Journal, 2018, 7 (7), stránky 584-589.
8. **Lidiane Maria de Andrade.** *Chlorella and Spirulina Microalgae as Sources of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements; an Overview.* MOJ Food Processing & Technology. 2018; 6 (2). DOI:10.15406/mojfpt.2018.06.00144.
9. **Carl Safi.** *Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review.* Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014; 35, stránky 265–278.
10. **Carl Safi.** *Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of Chlorella vulgaris proteins and pigments in the aqueous phase.* Algal Research, 2015; 8, stránky 61–68. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.002.

11. **Beata Brzychczyk, Beata Brzychczyk a Jan Gielżecki.** *Evaluation of usefulness of the designed laboratory photobioreactor for microalgae cultivation in controlled condition.* Agricultural Engineering, 2016; 20 (1), stránka 16. DOI: 10.1515/agriceng-2016-0002.
12. **Bob Capelli a Gerald R. Cysewski.** *Potential health benefits of spirulina microalgae.* Naturafoods, 2010; 9 (2), stránky 19-26. DOI: 10.1007/BF03223332.
13. **G. Usharani, P. Saranraj a D. Kanchana.** *Spirulina Cultivation: A Review.* International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 2012; 3 (6), stránky 1327-1341.
14. **Giuseppe Torzillo a Avigad Vonshak.** *Arthrospira (Spirulina).* Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time, 2012; stránka 683. DOI: 10.1007/978-94-007-3855-3_25.
15. **Ivana Paulíčková, Jaroslava Ehrenbergerová a Vlasta Fiedlerová.** *Evaluation of Barley Grass as a Potential Source of Some Nutritional Substances.* Czech Journal of Food Sciences. 2007; 25 (2), stránky 65–72.
16. **Aiza Qamar.** *Exploring the phytochemical profile of green grasses with special reference to antioxidant properties.* International Journal of Food Properties, 2018; 21 (1), stránky 2566–2577. DOI: 10.1080/10942912.2018.1540990.
17. **Agata Blicharz-Kania, Dariusz Andrejko a Franciszek Kluza.** *Assessment of the Potential Use of Young Barley Shoots and Leaves for the Production of Green Juices.* Sustainability, 2019; 11. DOI:10.3390/su11143960.
18. **Yawen Zeng, Xiaoying Pu a Jiazhen Yang.** *Preventive and Therapeutic Role of Functional Ingredients of Barley Grass for Chronic Diseases in Human Beings.* Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018; DOI: 10.1155/2018/3232080.
19. **Atinder Ghuman, Narpinder Singh a Amritpal Kaur.** *Chemical, nutritional and phenolic composition of wheatgrass and pulse shoots.* International Journal of Food Science and Technology, 2017; 52, stránky 2191–2200. DOI:10.1111/ijfs.13498.
20. **Nancydeep Kaura, Balwinder Singh a Amritpal Kaur.** *Effect of growing conditions on proximate, mineral, amino acid, phenolic composition and antioxidant properties of*

wheatgrass from different wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. Food Chemistry, 2021; 341, DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128201.

21. **Ghazi N. Al-Karakil a M.Al-Hashimi** *Green Fodder Production and Water Use Efficiency of Some Forage Crops under Hydroponic Conditions*. International Scholarly Research Network, 2012; DOI: 10.5402/2012/924672.

22. **Roy Upton**. *Stinging nettles leaf (Urtica dioica L.): Extraordinary vegetable medicine*. Journal of Herbal Medicine, 2013; 3, stránky 9-39. DOI: 10.1016/j.hermed.2012.11.001.

23. **Laura Grauso, Bruna de Falco a Virginia Lanzotti**. *Stinging nettle, Urtica dioica L.: botanical, phytochemical and pharmacological overview*. Phytochemistry Reviews, 2020; DOI: 10.1007/s11101-020-09680-x

24. **Kornélia Kőszegi a Erika Békássy-Molnár**. *Changes in Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Stinging Nettle (Urtica dioica L.) from Spring to Autumn*. Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 2020; 64 (4), stránky 548–554. DOI: 10.3311/PPch.14338.

25. **Tigist T. Shonte, K.G. Duodu a Henriette L. de Kock**. *Effect of drying methods on chemical composition and antioxidant activity of underutilized stinging nettle leaves*. Heliyon 2020; 6. DOI: 10.1016/j.heliyon. 2020.e03938.

26. **Amina Sa'id Muhammad**. *Asian Journal of Biological Sciences Research Article Nutritional and Pharmacological Potential of Ethanol Leaves Extract of Taraxacum officinale*. Asian Journal of Biological Sciences, 2019; 12 (1), stránky 1-8. DOI: 10.3923/ajbs.2019.1.8.

27. **Bernadetta Lis a Beata Olas**. *Pro-health activity of dandelion (Taraxacum officinale L.) and its food products – history and present*. Journal of Functional Foods, 2019; 59, stránky 40-48. DOI: 10.1016/j.jff.2019.05.012.

28. **Chun Hu**. *Taraxacum : Phytochemistry and health benefits*. Chinese Herbal Medicines 2018; 10, stránky 353–361. DOI: 10.1016/j.chmed.2018.08.003.

29. **Klaudia Borowiak**. *How polluted are cities in central Europe? - Heavy metal contamination in Taraxacum officinale and soils collected from different land use areas of three representative cities*. Chemosphere, 2021; 266.

30. **Busani Moyo, Patrick J. Masika a Arnold Hugo.** *Nutritional characterization of Moringa (Moringa oleifera Lam.) leaves.* African Journal of Biotechnology, 2011; 10 (60), stránky 12925-12933. DOI: 10.5897/AJB10.1599.
31. **Abdallah A. Shaltout a Fahmy A. S. Hassan.** *Seasonal Variability of Elemental Composition and Phytochemical Analysis of Moringa oleifera Leaves Using Energy-Dispersive X-ray Fluorescence and Other Related Methods.* Biological Trace Element Research, 2020; DOI: 10.1007/s12011-020-02523-y.
32. **Ivana Matic, Arianna Guidi a Maurice Kenzo.** *Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: A review on Moringa oleifera.* Journal of Public Health in Africa, 2018; 9 (841).
33. **Pankaj Singh a Sanjay Singh.** *Processing of Moringa oleifera Leaves for Human Consumption.* Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2012; 2 (1), stránky 28–31.
34. **Priyanshu Jain, Nancy Jain a Umesh K. Patil.** *Phytochemical and Pharmacological profile of Moringa Oleifera Lam.* International Journal of Pharmaceutical Sciences and research. 2020; 11 (12), stránky 5968-5973. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.11(12).5968-73.
35. **Mensah J.K a Beckley Ikhajiagbe.** *Phytochemical, nutritional and antibacterial properties of dried leaf powder of Moringa oleifera (Lam) from Edo North Province, Nigeria.* Scholars Research Library, Journal of Natural Product and Plant Resources, 2012; 2 (1), stránky 107-112.
36. **Tereza Kolářková, Daniela Sumczynski a Ludmila Zálešáková.** *Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (Camellia sinensis L.): A nutritional evaluation.* Journal of Food Composition and Analysis, 2020; 92. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103581
37. **Tereza Kolářková, Kateřina Kolofíková a Irena Sytařová.** *Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity.* Plant Foods for Human Nutrition, 2020; 75, stránky 48–53. DOI: 10.1007/s11130-019-00777-z.
38. **Karolina Jakubczyk, Joanna Kochman a Aleksandra Kwiatkowska.** *Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea.* Foods, 2020; 9 (483) DOI:10.3390/foods9040483.

39. **Sahar Roshanak, Mehdi Rahimmalek a Sayed Amir Hossein Goli.** *Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (Camellia sinensis or C. assamica) leaves.* 2016; International Journal of Food Science and Technology, 53 (1), stránky 721–729. DOI: 10.1007/s13197-015-2030-x.
40. **GR.Nireesha, L.Divya a C.Sowmya.** *Lyophilization/Freeze Drying - An Review.* International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences, 2013; 3 (4), stránky 97-98.
41. **Mohamed Mathlouthi.** *Water content, water activity , water structure and the stability of foodstuffs.* Food Control, 2001; 12, stránky 409-417.
42. **A. H. Al-Muhtaseb, W. A. M. McMinn, T. R. A. Magee.** *Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review.* Transactions of the Institution of Chemical Engineers, 2002; 80, stránky 118-128.
43. **E. Maltinia.** *Water activity and the preservation of plant foods.* Food Chemistry, 2003;82, stránky 79–86. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00581-2.
44. **Lahcen Hssainia, Rachida Ouaabouc a Rachida Ouaabouc.** *Hygroscopic proprieties of fig (Ficus carica L.): Mathematical modelling of moisture sorption isotherms and isosteric heat kinetics.* South African Journal of Botany, 2020; stránky 1-10. DOI: 10.1016/j.sajb.2020.11.026.
45. **Zhengyong Yan, Maria J. Sousa-Gallagher a Fernanda A.R. Oliveira.** *Sorption isotherms and moisture sorption hysteresis of intermediate moisture content banana.* Journal of Food Engineering, 2008; 86, stránky 342–348. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.10.009.
46. **Mathew Caurie.** *Hysteresis phenomenon in foods.* International Journal of Food Science and Technology, 2007; 42, stránky 45-49. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.01203.x
47. **M. Khalfaoui, S. Knani.** *New theoretical expressions for the five adsorption type isotherms classified by BET based on statistical physics treatment.* Journal of Colloid and Interface Science, 2003; 263, stránky 350–356. DOI: 10.1016/S0021-9797(03)00139-5

PŘÍLOHY

Nutriční hodnoty zakoupených doplňků stravy (100g)

Chlorella Natu BIO prášek		Spirulina Natu BIO prášek	
Energetická hodnota	1455 kJ/344 kcal	Energetická hodnota	1607 kJ/ 381 kcal
Tuky	1.8 g	Tuky	8.5 g
z toho nasycené mastné kyseliny	0.5 g	z toho nasycené mastné kyseliny	1.3 g
Sacharidy	10.7 g	Sacharidy	12 g
z toho cukry	0.7 g	z toho cukry	3 g
Vláknina	13.7 g	Vláknina	6 g
Bílkoviny	64.5 g	Bílkoviny	62 g
Sůl	0.2 g	Sůl	0.6 g

Mladá pšenice BIO Les Fruits du Paradis		Mladý ječmen BIO Les Fruits du Paradis	
Energetická hodnota	1113 kJ/ 266 kcal	Energetická hodnota	1473 kJ/ 352 kcal
Tuky	1.3 g	Tuky	2.26 g
z toho nasycené mastné kyseliny	0.2 g	z toho nasycené mastné kyseliny	0.42 g
Sacharidy	30 g	Sacharidy	64.71 g
z toho cukry	1.3 g	z toho cukry	11.88 g
Vláknina	33.3 g	Vláknina	36.42 g
Bílkoviny	19.56 g	Bílkoviny	18.25 g
Sůl	0.08 g	Sůl	0.01 g

Kopřiva Natu BIO prášek		Pampeliška Natu BIO prášek	
Energetická hodnota	1295 kJ/ 309 kcal	Energetická hodnota	1397 kJ/ 333 kcal
Tuky	3.9 g	Tuky	4.9 g
z toho nasycené mastné kyseliny	0.8 g	z toho nasycené mastné kyseliny	1.2 g
Sacharidy	26 g	Sacharidy	40.5 g

z toho cukry	19 g	z toho cukry	5 g
Vláknina	24 g	Vláknina	25 g
Bílkoviny	31 g	Bílkoviny	19 g
Sůl	0.95 g	Sůl	1.35 g

Moringa prášek BIO Les Fruits du Paradis		Matcha Bio tea chef	
Energetická hodnota	1339 kJ/ 320 kcal	Energetická hodnota	1545 kJ/ 369 kcal
Tuky	2.3 g	Tuky	1 g
z toho nasycené mastné kyseliny	0.6 g	z toho nasycené mastné kyseliny	0.8 g
Sacharidy	38.2 g	Sacharidy	63 g
z toho cukry	14.7 g	z toho cukry	1 g
Vláknina	27.1 g	Vláknina	40.2 g
Bílkoviny	7.8 g	Bílkoviny	19.4 g
Sůl	0.3 g	Sůl	0 g