

Degradace inulinu během skladování ovocných kojeneckých výživ

Bc. Nina Úlehlová

Diplomová práce
2013

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Nina Úlehlová**
Osobní číslo: **T11140**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Degradace inulinu během skladování ovocných
kojeneckých výživ**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popište zdravotní účinky vlákniny.
2. Charakterizujte vlastnosti inulinu.
3. Metody stanovení inulinu.
4. Technologie výroby ovocných kojeneckých výživ.

II. Praktická část

1. Stanovení inulinu v ovocných kojeneckých výživách.
2. Stanovení časové závislosti degradace inulinu během skladování kojeneckých výživ.
3. Vliv jablečné odrůdy na degradaci inulinu.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] KADLEC, P., K. MELZUCH a M. VOLDŘICH. Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin. Ostrava: Key Publishing, 2010. 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.

[2] DRDÁK, Milan. Technológia rastlinných neúdržných potravín. Bratislava: Alfa, 1989. 301 s. ISBN 8005001215.

[3] WANG, Yanbo. Prebiotics: Present and future in food science and technology. Food Research International. 2009, 42(1), 8-12.

[4] KORAKLI, M., C. HINRICHS, M. A. EHRMANN a R. F. VOGEL. Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food. Eur Food Res Technol. 2003, 217, 530-534.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



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

Příjmení a jméno: ÚLEHLOVÁ JIJA

Obor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 21.4.2013.

Milena Minc

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

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

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak

určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

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

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

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce charakterizuje vlákninu a inulin jako zdroj rozpustné vlákniny. Pozornost je věnována především jejich zdravotnímu účinku. V práci jsou dále popsány metody stanovení inulinu a charakterizována výroba ovocných kojeneckých výživ. Praktická část je zaměřena na stanovení inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přidávkem inulinu. Byla sledována časová závislost degradace inulinu ve skladovaných výrobcích a vliv jablečné odrůdy a dalších faktorů na degradaci inulinu při výrobě ovocných kojeneckých výživ.

Klíčová slova: vláknina, inulin, stanovení inulinu, ovocná kojenecká výživa, skladování

ABSTRACT

The theoretical part of the diploma thesis characterizes dietary fiber and inulin as a source of soluble fiber. Particular attention is paid to their health effects. This thesis also describes methods for the determination of inulin and characterizes the production of fruit baby food. The practical part is focused on the determination of inulin in samples of fruit baby food with added inulin. It was monitored time dependence on the degradation of inulin in stored products and the influence of apple varieties and other factors on the degradation of inulin during the production of fruit baby food.

Keywords: dietary fiber, inulin, determination of inulin, fruit baby food, storage

Tímto bych velmi ráda poděkovala vedoucí diplomové práce, Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, připomínky a pomoc při zpracování práce. Dále bych chtěla poděkovat řediteli závodu Fruta Podivín, a. s., Ing. Liboru Bůškovi, a manažerce jakosti, Ing. Dagmar Donéové, za poskytnuté materiály a interní informace, které byly využity při tvorbě diplomové práce, a za poskytnutí analyzovaných vzorků.

Velké poděkování patří rovněž mé rodině a příteli za podporu a pomoc v průběhu studia.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 VLÁKNINA	13
1.1 SACHARIDY	13
1.2 DEFINICE VLÁKNINY	14
1.3 DĚLENÍ VLÁKNINY	15
1.4 ZDROJE VLÁKNINY A DOPORUČENÝ PŘÍJEM.....	15
1.5 ZDRAVOTNÍ ÚČINKY VLÁKNINY	16
2 INULIN	17
2.1 FRUKTANY.....	17
2.2 CHEMICKÁ STRUKTURA INULINU.....	17
2.3 VÝSKYT INULINU	18
2.4 VÝROBA INULINU	20
2.5 VYUŽITÍ INULINU V POTRAVINÁŘSTVÍ.....	21
2.6 VLASTNOSTI INULINU	21
2.6.1 Energetická hodnota inulinu	22
2.6.2 Inulin jako vláknina	22
2.6.3 Inulin jako prebiotikum	22
2.6.4 Účinek inulinu na děti.....	23
2.6.5 Negativní účinek inulinu.....	24
3 METODY STANOVENÍ INULINU	25
3.1 AOAC METODA 997.08	26
3.2 AOAC METODA 999.03	26
3.2.1 Megazyme K-FRUC	27
3.2.2 Megazyme HK-FRUC.....	28
4 TECHNOLOGIE VÝROBY OVOCNÉ KOJENECKÉ VÝŽIVY	29
4.1 OVOCNÁ KOJENECKÁ VÝŽIVA.....	29
4.2 SPOLEČNOST HAMÉ:.....	31
4.2.1 BabySmoothies s prebiotiky	32
4.3 VÝROBA OVOCNÉ KOJENECKÉ VÝŽIVY:.....	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
5 CÍL PRÁCE	36
6 METODIKA PRÁCE	37
6.1 POUŽITÝ MATERIÁL, CHEMIKÁLIE, POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	37
6.1.1 Použitý materiál	37

6.1.2	Použité chemikálie	39
6.1.3	Použité pomůcky a přístroje	40
6.2	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	40
6.2.1	Degradace inulinu během skladování ovocných kojeneckých výživ	40
6.2.2	Vliv jablečné odrůdy na degradaci inulinu.....	41
6.3	STANOVENÍ PH.....	41
6.4	STANOVENÍ SUŠINY	42
6.5	STANOVENÍ REFRAKTOMETRICKÉ SUŠINY.....	43
6.6	STANOVENÍ POPELA.....	43
6.7	STANOVENÍ INULINU	44
6.8	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ.....	45
6.9	LINEÁRNÍ REGRESE.....	46
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	47
7.1	SKLADOVACÍ POKUS PRO OVOCNÉ KOJENECKÉ VÝŽIVY S PŘÍDAVKEM INULINU	47
7.1.1	Základní chemické analýzy ovocných výživ	47
7.1.2	Časová závislost degradace inulinu ve vzorcích výživ	48
7.1.3	Zhodnocení degradace inulinu metodou lineární regrese	52
7.1.3.1	První fáze degradace inulinu.....	52
7.1.3.2	Druhá fáze degradace inulinu	53
7.1.3.3	Třetí fáze degradace inulinu	54
7.1.4	Vliv lyofilizace na obsah inulinu ve vzorcích výživ.....	55
7.2	VLIV JABLEČNÉ ODRŮDY NA OBSAH INULINU	57
7.2.1	Základní chemické analýzy jablečných dření	57
7.2.2	Vliv různých faktorů na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných dření.....	58
7.2.2.1	Vliv přídatku sacharózy.....	60
7.2.2.2	Vliv tepelného záhřevu.....	61
7.2.2.3	Vliv přídatku sacharózy a tepelného záhřevu	63
	ZÁVĚR	65
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	67
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	77
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	79
	SEZNAM TABULEK	80
	SEZNAM PŘÍLOH	81

ÚVOD

V minulosti byly potraviny chápány především jako zdroj energie a základních živin, současným trendem je obohacování potravin látkami, které mají příznivý účinek na zdraví konzumenta. Jedná se o tzv. funkční potraviny.

Funkční potraviny působí přímo nebo preventivně proti civilizačním chorobám a dalším zdravotním omezením, jako je kardiovaskulární onemocnění, obezita, diabetes, osteoporóza, rakovina aj. Jsou to například potraviny obohacené o vlákninu, probiotické kultury, prebiotické sacharidy, vitaminy nebo minerální látky, ale také potraviny, ze kterých byly odstraněny nebo chemicky modifikovány složky s nepříznivým vlivem na zdraví.

Inulin je nestravitelným sacharidem, který je řazen mezi rozpustnou vlákninu, a má prebiotický účinek. Jedná se o látku, která se vyskytuje v běžně konzumovaných potravinách (zelenina, ovoce, obiloviny). Nejvýznamnějším zdrojem inulinu je čekanka obecná a slunečnice topinambur.

Inulin je přínosný pro lidské zdraví zejména tím, že udržuje příznivou rovnováhu bakterií v tlustém střevě, preventivně působí proti infekcím gastrointestinálního traktu, zvyšuje vstřebávání některých minerálních látek, snižuje cholesterol a posiluje imunitu. Inulin také přispívá ke snížení hmotnosti vzhledem ke své nízké nutriční hodnotě a tím, že nahrazuje tuky a cukry v potravinách.

V potravinářském průmyslu se inulin přidává především do masných výrobků, mléčných výrobků, mražených dezertů, pomazánek a dresinků, pečiva a ovocných výrobků. Inulinem jsou také obohaceny výrobky určené pro kojence a malé děti.

Kojenci zpočátku konzumují výhradně mléčnou stravu, která po několika měsících od narození volně přechází do období smíšené stravy. Ta je typická zaváděním zeleninových, ovocných a jiných příkrmů, které mohou být připravovány v domácnosti nebo zakoupeny v obchodní síti. Průmyslově vyráběné kojenecké výživy jsou oblíbeným sortimentem na potravinářském trhu především kvůli jednoduché přípravě, standardnímu obsahu živin a zajištění zdravotní nezávadnosti. Během výroby se důkladně kontroluje vstupní surovina, proces výroby a samotný hotový výrobek, který se hodnotí sensoricky a provádí se mikrobiologické a chemické testy.

Diplomová práce se zaměřuje na problematiku zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké výživy přidavkem prebiotické vlákniny – inulinu. V teoretické části diplomové práce je charakterizována vláknina a její zdravotní účinek na lidský organizmus, dále pak inulin, především jeho chemická struktura, výskyt, význam v potravinářství, výroba, zdravotní účinky a metody stanovení. Na závěr je věnována pozornost výrobě ovocné kojenecké výživy. V praktické části diplomové práce jsou popsány metody použitých chemických analýz (stanovení hodnoty pH, obsahu sušiny, refraktometrické sušiny, popela a inulinu) a zhodnoceny výsledky jednotlivých stanovení. Hlavním cílem praktické části bylo zkoumání stability inulinu v ovocných kojeneckých výživách během skladování.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VLÁKNINA

1.1 Sacharidy

Souhrnným názvem sacharidy se označují polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony, které obsahují nejméně tři alifaticky vázané uhlíkové atomy, a látky, které se z nich tvoří vzájemnou kondenzací za vzniku glykozidických vazeb. K sacharidům jsou dále řazeny i deriváty sacharidů vznikající jejich oxidačními, redukčními, substitučními a jinými reakcemi. [1, 2]

Jsou známy tři hlavní skupiny sacharidů s přihlédnutím k jejich relativní molekulové hmotnosti: monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Monosacharidy jsou nejjednodušší skupinou sacharidů a kyselou hydrolyzou se neštěpí na nižší jednotky sacharidové povahy. Oligosacharidy jsou složeny ze dvou až deseti monosacharidů, které jsou vzájemně spojeny glykozidickými vazbami. Polysacharidy pak obsahují více jak deset monosacharidových jednotek. [1, 3]

Sacharidy jsou pro organismus nejvýznamnějším zdrojem energie, jelikož běžná strava dodává okolo 55 % energie právě ve formě sacharidů. Sacharidy se v potravě vyskytují jako monosacharidy, disacharidy i polysacharidy. Podle odolnosti vůči trávicím schopnostem gastrointestinálního traktu člověka lze sacharidy rozčlenit na stravitelné a nestravitelné (Tabulka 1). [2, 4]

Tabulka 1: Výčet nejčastěji zastoupených sacharidů v potravě

Stravitelné sacharidy			Nestravitelné sacharidy (vláknina)	
monosacharidy	oligosacharidy	polysacharidy	bobtnající	nerozpustné
glukóza	sacharóza	škrob	pektiny	celulóza
fruktóza	laktóza	dextriny	inulin	hemicelulózy
galaktóza	maltóza	glykogen	hemicelulózy	
			rostlinné gummy	

1.2 Definice vlákniny

Vláknina je definována ve vyhlášce č. 330/2009 Sb., kterou se mění vyhláška č. 450/2004 Sb., o označování výživové hodnoty potravin. Vlákninou se rozumí polysacharidy s třemi nebo více monomerními jednotkami, které nejsou tráveny ani vstřebávány v tenkém střevě člověka, náležející do skupin:

- jedlé polysacharidy přirozeně se vyskytující v přijímané potravě,
- jedlé polysacharidy, které byly získány z potravních surovin fyzikálními, enzymatickými nebo chemickými prostředky a které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky, nebo
- jedlé polysacharidy, které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky. [5]

Označení vláknina poprvé použil v roce 1953 Hipsley, jednalo se o zkrácený termín pro nestravitelné složky, které tvoří buněčnou stěnu rostlin. Definice vlákniny prošla v průběhu následujících let značnými změnami a tato problematika je neustále diskutována. [6]

Za poměrně výstižnou definici vlákniny lze například považovat tu, jež publikovala Nizozemská zdravotní rada: „Vlákninu potravy tvoří látky, které nejsou stráveny, či vstřebány v tenkém střevě člověka, s chemickou strukturou sacharidů či látek obdobných ligninu a příbuzných látek.“

Existuje několik klasifikačních systémů pro třídění složek vlákniny. Z chemického hlediska lze složky vlákniny rozdělit do následujících skupin:

- polysacharidy: celulóza, hemicelulózy, pektiny, β -glukany, rostlinné gumy a slizy,
- nestravitelné oligosacharidy, např. fruktany,
- složky příbuzné sacharidům: zejména rezistentní škroby a modifikované celulózy,
- lignin a doprovodné látky: kutin, třísloviny aj. [6, 7]

1.3 Dělení vlákniny

Podle rozpustnosti ve vodě se vláknina rozděluje na dvě skupiny: [8]

- Rozpustná vláknina
- Nerozpustná vláknina

K rozpustné vláknině se řadí určitý podíl hemicelulóz, dále pektiny, rostlinné slizy, polysacharidy mořských řas, modifikované škroby a modifikované celulózy. Hlavní složkou nerozpustné vlákniny je celulóza, určitý podíl hemicelulóz a lignin. [8]

Ke společným znakům vlákniny patří odolnost k hydrolyze trávicími enzymy, schopnost postoupit do tlustého střeva v nezměněné formě a schopnost ovlivňovat některé gastrointestinální funkce. Nerozpustná vláknina je spolu s rozpustnou vlákninou více nebo méně metabolizována mikroorganismy tlustého a slepého střeva. Ty asimilují v průměru 70 % polysacharidů vlákniny. Konečnými produkty jsou plyny (oxid uhličitý, vodík, metan) a využitelné nižší mastné kyseliny (octová, propionová, máselná). [8]

1.4 Zdroje vlákniny a doporučený příjem

Doporučený denní příjem všech látek komplexně nazývaných jako vláknina byl stanoven na 30 g, ovšem její průměrný příjem u české populace tvoří pouze třetinu, tedy asi 10 g. Pro děti jsou doporučovány hodnoty nižší – např. dítěti ve věku 4 let je doporučeno konzumovat 9 g vlákniny denně. Poměr nerozpustné a rozpustné vlákniny v potravě by měl být 3 : 1. Ve vyhlášce č. 330/2009 Sb. se upravuje převodní faktor pro výpočet energetické hodnoty a je stanoven na 8 kJ (2 kcal) na g přijaté vlákniny. [5, 7 – 9]

Vláknina se přirozeně vyskytuje v naprosté většině surovin a potravin rostlinného původu. Nejvýznamnějším zdrojem nerozpustné vlákniny jsou obiloviny, celozrnné výrobky (hlavně pšeničné otruby), luštěniny, zelenina (květák, celer), slupky ovoce a ořechy. Rozpustná vláknina je obsažena především v ovoci (jablka, banány) a zelenině (brokolice, mrkev), dále pak v luštěninách a obilovinách. [6]

1.5 Zdravotní účinky vlákniny

Vláknina vykazuje řadu příznivých účinků:

- **Prevence obstipace, hemeroidů a kýl:** mechanismus spočívá ve zvětšení objemu a utváření měkké stolice, příznivého ovlivnění střevní mikroflóry a urychlení pasáže potravy ve střevě.
- **Prevence aterosklerózy a ischemické choroby srdeční:** vazbou cholesterolu a žlučových kyselin v trávicím traktu na vlákninu se zabraňuje jejich enterohepatálnímu oběhu, je stimulována degradace endogenního cholesterolu v játrech a snižuje se jeho hladina v krvi (klesá LDL a stoupá HDL-cholesterol).
- **Prevence rakoviny tlustého střeva:** hlavním mechanismem je zkrácení doby kontaktu potencionálních karcinogenů se sliznicí střeva (urychlení pasáže) a jejich vazba na vlákninu.
- **Prevence a terapie diabetu:** vláknina zpomaluje vstřebávání glukózy ve střevě a snižuje nároky na sekreci inzulínu.
- **Snížení tělesné hmotnosti:** navození pocitu sytosti, zpomalené vstřebávání sacharidů a snížené vstřebávání lipidů.
- **Příznivé ovlivnění mikroflóry tlustého střeva.**
- **Příznivé ovlivnění sliznice tlustého střeva.** [4]

Ner rozpustná vláknina zvětšuje objem potravy, zkracuje dobu jejího průchodu zažívacím traktem a zlepšuje střevní peristaltiku. Tato vláknina má především čistící schopnosti v trávicím ústrojí, čistí střeva nejen mechanicky, ale také chemicky, díky své schopnosti vázat na sebe velké množství vody a v ní rozpuštěných chemických toxických látek. Svým mechanickým působením očišťuje střeva od usazených nečistot. [8 – 10]

Rozpustná vláknina zvyšuje viskozitu obsahu žaludku a střev, zpomaluje promíchávání jejich obsahu, omezuje přístup pankreatických amyláz a lipáz k substrátům a absorpci živin střevní stěnou. Tím se zpomalí průchod střevního obsahu a sníží se difúze živin, váží se minerální látky (zejména ionty vápníku, železa, mědi a zinku) a modifikuje se jejich dostupnost. Část vázaných kationtů se uvolní při fermentaci v tlustém střevě. [8, 10]

2 INULIN

2.1 Fruktany

Inulin je nejvýznamnějším zástupcem skupiny látek nazývajících se fruktany (polyfruktany, polyfruktozidy, fruktozany). Jejich základní stavební jednotkou je molekula D-fruktózy. Jsou známy 2 hlavní skupiny fruktanů:

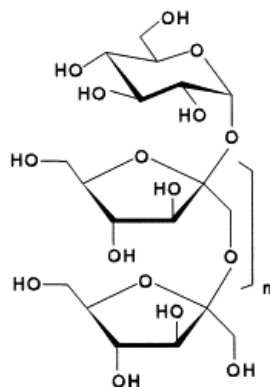
- Fruktany inulinového typu
- Fruktany fleinového typu

Skupina fruktanů inulinového typu se vyznačuje vazbou β -(1 \rightarrow 2) a lineárním řetězcem. Fruktany fleinového typu (nazývané také levany) jsou větvené polymery D-fruktofuranózy a jsou spojeny glykozidickou vazbou β -(2 \rightarrow 6). Levany jsou z technologického hlediska méně důležité a v potravinářském průmyslu se nevyužívají. Nachází se nejčastěji v některých obilovinách (pšenice, žito) a zelenině (např. chřest). [3, 7, 11]

2.2 Chemická struktura inulinu

Termínem inulin se označují polymery a oligomery složené z lineárních řetězců D-fruktofuranóz, které obsahují zpravidla D-glukózu jako koncovou jednotku. Jsou vzájemně vázány glykozidickou vazbou β -(1 \rightarrow 2) v poměrně krátkých řetězcích. Molekula glukózy je spojena vazbou α -(1 \rightarrow 2). Řetězec inulinu je tvořen 2 až 60 molekulami fruktózy (nejvýše až 200), nejčastěji však 28 až 35 molekulami. Stupeň polymerace závisí především na druhu rostliny, době sklizně a také délce skladování. [12 – 14, 15]

Inulin je popsán systematickým názvem α -D-glukopyranozyl-[β -D-fruktofuranozyl]_{n-1}- β -D-fruktofuranozid ($G_{py}F_n$). Pokud neobsahuje koncovou jednotku D-glukózy, pak se jedná o β -D-fruktopyranozyl-[β -D-fruktofuranozyl]_{n-1}- β -D-fruktofuranozid ($F_{py}F_n$), kde n vyjadřuje počet fruktózových jednotek. Sumární vzorec inulinu je $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$. [7, 16]



Obrázek 1: Vzorec inulinu (typ $G_{py}F_n$) [17]

2.3 Výskyt inulinu

V roce 1804 německý vědec Rose izoloval z rostliny oman pravý (*Inula helenium*) látku, kterou Thompson roku 1818 označil termínem inulin. Mezitím byla známá pod názvem alantín, helenin, meniantin, dahlin, sinanterin či sinisterin. [18]

Fruktany jsou hned po škrobu nejrozšířenějšími nestrukturálními polysacharidy, vyskytují se v celé řadě rostlin (až 36 000 druhů) a v některých bakteriích. Inulin patří v rostlinné říši mezi tzv. rezervní polysacharidy s funkcí zásobárny chemické energie. Typické inuliny se vyskytují v kořenech čekanky (*Cichorium intybus*), hlízách topinambur (*Helianthus tuberosus*) a jičinách (rod *Dahlia*). Dále je ho značné množství v cibulovinách (česnek, cibule), obilovinách (pšenice, ječmen), zelenině a ovoci. [7 – 8, 10, 19]



Obrázek 2: Čekanka obecná [20]

Nejvýznamnějším zdrojem inulinu je, vzhledem k jeho vysoké koncentraci, kořen čekanky a hlíza topinamburu. V Tabulce 2 je uvedeno množství inulinu ve vybraných rostlinách.

Tabulka 2: Obsah inulinu v rostlinách [10, 12, 17, 19]

Zdroj	Jedlá část	Obsah inulinu [%]
Čekanka obecná (<i>Cichorium intybus</i>)	kořen	15 – 20
Slunečnice topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i>)	hlíza	14 – 19
Jakon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	hlíza	3 – 19
Česnek kuchyňský (<i>Allium sativum</i>)	cibule	9 – 16
Smetanka lékařská (<i>Taraxacum officinale</i>)	listy	12 – 15
Chřest (<i>Asparagus</i>)	listy	10 – 15
Černý kořen (<i>Scorzonera hispanica</i>)	kořen	4 – 11
Artyčok zeleninový (<i>Cynara scolymus</i>)	listy	3 – 10
Cibule kuchyňská (<i>Allium cepa</i>)	cibule	2 – 7
Pšenice setá (<i>Triticum aestivum</i>)	obilka	1 – 4
Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>)	obilka	0,5 – 1,5
Žito (<i>Secale cereale</i>)	obilka	0,5 – 1
Banánovník (<i>Musa cavendis</i>)	plod	0,3 – 0,7

2.4 Výroba inulinu

Inulin, jako komerčně dostupná přísada na potravinářském trhu, je v dnešní době získáván nejčastěji extrakcí z kořenů čekanky. Výroba inulinu se podobá technologii získávání sacharózy z cukrové řepy. Kořeny čekanky jsou sklizeny, omyty a nařezány na plátky. Surový inulin je z kořenových plátků extrahován použitím teplé vody. Poté následuje čištění surového inulinu a sušení na práškový inulin. Získaný prášek je v závislosti na stupni purifikace bílé až nažedlé barvy. [12 – 13]

Výsledný produkt má průměrný stupeň polymerace (DP) 10 – 12 a tvoří jej řetězce inulinu obsahující 2 – 60 monomerních jednotek. Takto získaný práškový inulin obsahuje 6 – 10 % cukrů (glukóza, fruktóza a sacharóza), které se přirozeně vyskytují v kořenech čekanky. [12]

Běžně na trhu je dostupný také tzv. HP-inulin, který je získán odstraněním molekul fruktooligosacharidů (FOS) s krátkým řetězcem (2 – 10 jednotek). HP-inulin má tedy průměrný stupeň polymerace 25 a obsahuje řetězce o délce 11 – 60 jednotek. [12]



Obrázek 3: Práškový preparát inulinu [21]

2.5 Využití inulinu v potravinářství

Denní příjem inulinu a produktů jeho hydrolyzy na osobu se ve vyspělých zemích odhaduje na 2 – 12 g. Za optimální dávku v lidské výživě se považuje 5 – 10 g denně. [8, 10]

Inulin je přírodní složkou potravin, nejčastěji se vyskytuje v různých podílech v dietních potravinách. Obecně je inulin nabízen jako součást dietních koktejlů a dalších preparátů redukujících příjem energie a snižujících glykemický index. [7, 12]

Inulin je po celém světě používán jako přídavek vlákniny do potravinářských výrobků. Na rozdíl od jiných typů vlákniny, inulin negativně neovlivňuje chuť výrobku a také výrazně nemění viskozitu výrobku. [12]

Inulin je používán v mnoha zemích jako náhrada tuku, nebo cukru a snižuje energetickou hodnotu potravin, jako jsou zmrzliny, mléčné výrobky, sladkosti, pečivo a těstoviny. [12]

Vzhledem k délce řetězce je málo rozpustný a má schopnost při rozpuštění ve vodě vytvářet mikro-krystalky. Tyto krystalky ovšem nejsou v ústech patrné, ale vytváří hladkou krémovitou texturu a poskytují podobný pocit v ústech jako při konzumaci tuku. Proto se inulin velmi často používá k nahrazení tuku ve stolních pomazánkách, pečivu, do náplní, mléčných výrobků (sýr, jogurt), mražených dezertů a dresinků. [12, 22]

2.6 Vlastnosti inulinu

Inulin je bílá krystalická látka, která je rozpustná ve vodě. Rozpustnost se zvyšuje v závislosti na teplotě rozpouštědla a snižuje v závislosti na stupni polymerace inulinu. Proto inulin s vyšším DP je prakticky nerozpustný ve studené vodě. Práškový inulin je bez vůně a nevykazuje žádnou chuť, může být mírně nasládlý nebo nahořklý vzhledem ke stupni polymerace. [7, 11, 13]

Inulin se poměrně snadno kyselinami hydrolyzuje na D-fruktózu a je štěpen enzymem inulinázou. Exo-inulináza (EC 3.2.1.80) katalyzuje hydrolyzu fruktózových zbytků na koncích polymerních řetězců. Endo-inulináza (EC 3.2.1.7) katalyzuje hydrolyzu inulinových polymerů na kratší oligomery. [3, 7, 23]

Z výživového hlediska je inulin charakterizován velmi malou energetickou hodnotou a je významným zdrojem rozpustné vlákniny. Inulin podobně jako vláknina redukuje čas potřebný k průchodu potravy gastrointestinálním traktem, působí proti zácpě, snižuje sérový i jaterní cholesterol a obsah triacylglycerolů, zvyšuje poměr HDL/LDL cholesterolu, upravuje hladinu glukózy v krvi, snižuje glykemický index, zvyšuje absorpci minerálních prvků a podporuje růst bifidobakterií a laktobacilů (např. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*). [10]

2.6.1 Energetická hodnota inulinu

Inulin má nízkou energetickou hodnotu oproti jiným sacharidům právě díky vazbě β -(1 \rightarrow 2), která činí inulin nestavitelným a ten proto vstupuje v nezměněné formě do tlustého střeva, kde je zcela zkvašen přítomnou mikroflórou. Energie získaná z fermentace 1 g inulinu za vzniku mastných kyselin s krátkým řetězcem (kyselina octová, propionová, máselná) a plynů odpovídá množství 6,7 kJ (tj. 1,6 kcal). [7, 12]

2.6.2 Inulin jako vláknina

Vzhledem ke glykozidické vazbě β -(1 \rightarrow 2), která spojuje fruktózové jednotky, jsou inuliny rezistentní k hydrolýze lidskými enzymy v horní části gastrointestinálního traktu. Kromě toho splňuje i další základní znaky vlákniny – inulin je složkou jedlých částí rostlin, po chemické stránce se jedná o sacharid (polymer a oligomer), je odolný proti vstřebávání v tenkém střevě a podléhá hydrolýze a je zcela fermentován bakteriemi tlustého střeva. Inulin je tedy řazen mezi rozpustnou vlákninu. [16]

2.6.3 Inulin jako prebiotikum

V lidském gastrointestinálním traktu se nachází komplexní mikrobiální ekosystém, v němž se může vyskytovat až několik set bakteriálních druhů. Zvláště silně je osídleno tlusté střevo, kde se může vyskytovat více než 10^{11} bakterií v 1 g střevního obsahu. Tyto mikroorganismy a jejich metabolické aktivity mohou ovlivňovat pozitivním i negativním způsobem zdravotní stav člověka a pro udržení jeho dobrého stavu je důležité udržovat optimální rovnováhu mikroflóry trávicího traktu s převahou pozitivně působících bakterií. [24]

Prebiotika jsou nestravitelné látky, jejichž konzumace má příznivý fyziologický účinek na hostitele selektivní stimulací růstu nebo aktivity některých kmenů střevní mikroflóry. [25]

V roce 2007 Roberfroid formuloval tři kritéria pro prebiotické substance:

- Musí to být látka rezistentní vůči žaludečním kyselinám a vůči hydrolytickým enzymům v trávicím traktu.
- Musí být fermentovatelná střevními bakteriemi.
- Musí selektivně stimulovat růst a/nebo aktivitu střevních bakterií, které mají příznivý vliv na zdravotní stav hostitele. [26 – 27]

Prebiotika jsou přirozeně obsažena v některých potravinách (ovoce, zelenina, luštěniny) a některá se vyrábí průmyslově. Nejčastěji používanými prebiotiky v průmyslovém měřítku jsou inulin a fruktooligosacharidy (FOS), glukooligosacharidy (GOS), laktulóza, galaktooligosacharidy a isomaltoligosacharidy. Inulin selektivně stimuluje růst prospěšné mikroflóry, zejména bifidobakterií, v menší míře i laktobacilů a potlačuje patogenní a potenciálně patogenní bakterie. [25, 27 – 28]

K dalším zdravotním účinkům inulinu, které byly experimentálně doloženy, patří zvýšení absorpce minerálních látek (Ca a Mg) a snížení obsahu triacylglycerolů a cholesterolu. Dále byly experimentálně zjištěny účinky inulinu na zlepšení stavu kostí, především zvýšení obsahu minerálních látek, jejich hustoty a celkové struktury, posílení imunitního systému proti běžným infekcím a ochrana tlustého střeva před zánětlivými a nádorovými chorobami. Avšak pro doložení tohoto tvrzení by bylo nutné provést rozsáhlejší studie na lidech. [16]

Dále se předpokládá, že by mohl mít vliv na zvýšení absorpce dalších minerálních látek (Fe, Cu a Zn), zpomalení nádorového bujení a účinky při léčbě rakoviny nebo snížení rizika a zlepšení nekrotizující enterokolitidy u předčasně narozených dětí. [10, 16]

2.6.4 Účinek inulinu na děti

Fruktany inulinového typu jsou používány u kojenců a dětí především z důvodu jejich prebiotického účinku a příznivému ovlivnění přirozené a adaptivní imunity. Inulin má významný vliv na složení střevní mikroflóry, zlepšení konzistence stolice, má mírný projímavý účinek, snižuje výskyt gastrointestinálních infekcí, atopických ekzémů a

horečnatých onemocnění. Materské mléko stimuluje růst bifidobakterií kvůli vysokému obsahu oligosacharidů (10 – 12 g/l). To inspirovalo přidávání nestravitelných oligosacharidů a inulinu do kojenecké stravy za účelem získání srovnatelného bifidogenního účinku. [29]

2.6.5 Negativní účinek inulinu

Na druhé straně je třeba uvést určitá rizika příjmu inulinu, související především s intolerancí fruktózy, která se projevuje plynatostí, křečemi a bolestmi v podbřišku či průjmy, a s výjimečnými případy alergie. Intolerance se vyskytuje u 30 – 40 % obyvatel a projevuje se většinou při příjmu nad 0,5 g inulinu denně. [30]

3 METODY STANOVENÍ INULINU

Inulin je vzhledem ke svým nutričním a funkčním vlastnostem řazen mezi rozpustnou vlákninu. Standardní analytická metoda pro stanovení vlákniny (AOAC Metoda 985.29) přesto není vhodná pro stanovení fruktanů (inulinu), protože jsou tyto látky velmi dobře rozpustné v etanolu. [22, 31]

Zvyšující se využívání fruktanů (inulin a FOS) v potravinářském průmyslu dalo podnět pro vývoj několika specifických metod pro jejich stanovení. Stanovení inulinu lze provést dvěma způsoby – přímým nebo nepřímým postupem. Přímé metody měří jednotlivé délky řetězce fruktanů a nepřímé metody měří celkové množství fruktanů po hydrolyze na glukózu a fruktózu. [32 – 33]

Jako nejúčinnější metoda pro přímé stanovení inulinu byla přijata metoda využívající vysokoúčinnou aniontově-výměnnou chromatografii s pulzně-amperometrickou detekcí (HPAEC-PAD). Nepřímé metody stanovení jsou založeny na enzymatickém ošetření vzorku jedním nebo více enzymy (především hydrolyza inulinu) a následným stanovením uvolněných cukrů různými technikami. Jedná se především o vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), stanovení redukujících cukrů pomocí hydrazidu kyseliny p-hydroxybenzoové (PAHBAH), plynovou chromatografii (GLC) a chromatografii HPAEC-PAD. [14, 22, 32]

Pod pojmem enzymatická analýza se obecně rozumí analýza s využitím enzymů. Hlavní výhoda používaných enzymů spočívá v jejich schopnosti reagovat konkrétně s jednotlivými komponenty a dále ve zkrácení doby potřebné pro stanovení. Pro enzymatickou analýzu je požadováno malé množství substrátu (vzorku) a stanovení probíhá za mírných podmínek (teplota pod 100 °C, atmosférický tlak, neutrální pH). Enzymy často umožní detekci a stanovení nestabilních látek, které mohou být jinými metodami nepřesně stanoveny. [34]

Pro hydrolyzu inulinu se používají inulinázy, což jsou komerčně dostupné enzymatické přípravky obsahující exo- inulinázu a endo-inulinázu získanou převážně z *Aspergillus niger*. [14]

3.1 AOAC Metoda 997.08

Fruktany jsou ze vzorku extrahovány horkou vodou. V této metodě je nejprve stanoveno množství volné fruktózy a sacharózy (krok 1). Po enzymatické hydrolyze škrobu a maltodextrinů je měřeno celkové množství glukózy (krok 2). Posledním krokem je hydrolyza inulinu, fruktooligosacharidů a sacharózy na glukózu a fruktózu a změření jejich množství ve vzorku (krok 3). [35 - 36]

Sacharidy jsou stanoveny chromatografií (HPAEC-PAD) a množství inulinu a FOS je vypočítáno odečtením hodnot naměřených v kroku 1 a 2 (obsah fruktózy, sacharózy a glukózy) od celkového množství glukózy a fruktózy ve fázi 3. [35]

Kromě mezilaboratorně validované AOAC Metody 997.08 je pro stanovení fruktanů používána také AOAC Metoda 999.03. [37]

3.2 AOAC Metoda 999.03

Analytická AOAC Metoda 999.03 je metodou enzymatickou s využitím spektrofotometrického stanovení koncentrace fruktanů. Kit Megazyme K-FRUC (kolorimetrická metoda) využívá princip AOAC Metody 999.03, kit Megazyme HK-FRUC (UV-spektrofotometrická metoda) je založen na modifikované AOAC Metodě 999.03. [37]



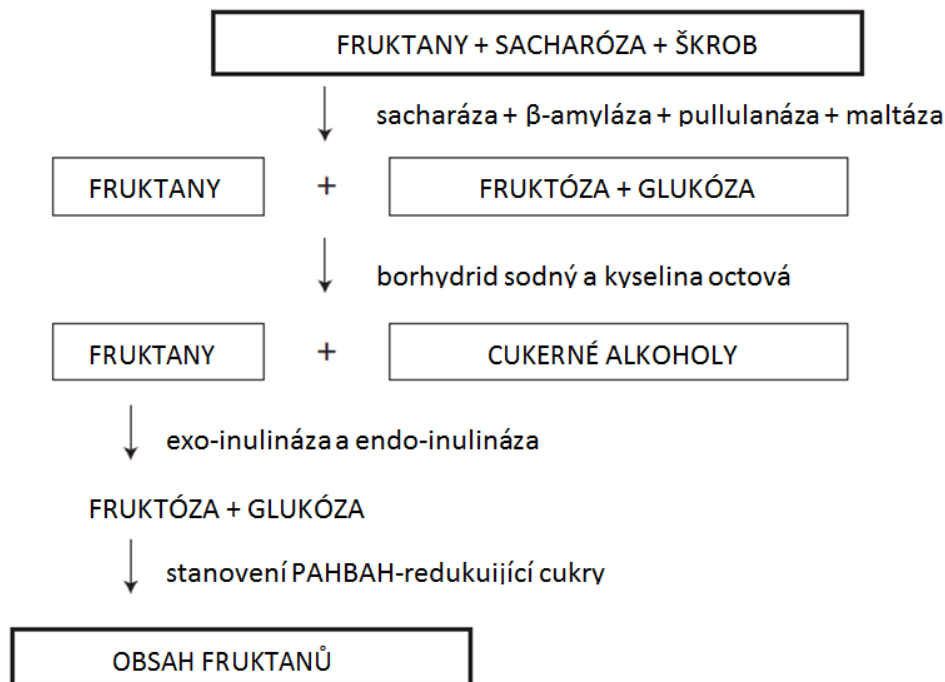
Obrázek 4: Kit Megazyme K-FRUC [38]

3.2.1 Megazyme K-FRUC

Fruktany jsou ze vzorku extrahovány horkou vodou. Při úvodní úpravě vzorku je přítomná sacharóza hydrolyzována na fruktózu a glukózu pomocí sacharázy. Je-li přítomen ve vzorku škrob (maltodextriny), je hydrolyzován na glukózu kombinovaným enzymem obsahujícím β -amylázu, pullulanázu a maltázu. Vzniklé redukující cukry jsou redukovány na cukerné alkoholy přidávkem alkalického borhydridu. Tento roztok je neutralizován a přebytek borhydridu je odstraněn přidávkem zředěné kyseliny octové. [37]

Vlastní fruktany jsou hydrolyzovány na fruktózu a glukózu enzymem fruktanázou (inulinázou). Vzniklé redukující cukry jsou stanoveny spektrofotometricky při vlnové délce 410 nm po barevné reakci s hydrazidem kyseliny p-hydroxybenzoové (PAHBAH), přičemž barevná odpověď fruktózy a glukózy je stejná. [37, 39]

Metoda je vhodná pro měření fruktanů v rostlinných a potravinářských produktech, např. i v kojeneckých výrobcích. Touto metodou je možné stanovit i stopové množství inulinu ve vzorcích. [40]

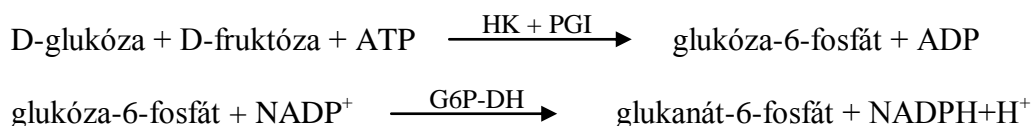


Obrázek 5: Schéma AOAC Metody 999.03 [31]

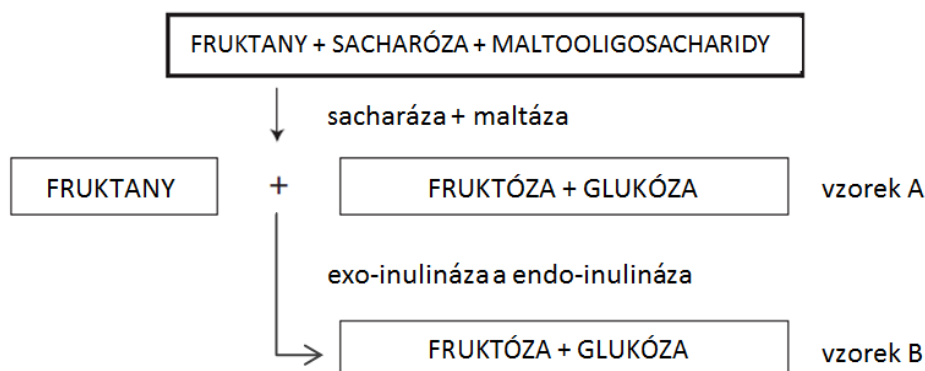
3.2.2 Megazyme HK-FRUC

Fruktany jsou ze vzorku extrahovány horkou vodou. Jsou-li ve vzorku přítomny sacharóza a maltooligosacharidy, jsou při úvodní úpravě napřed hydrolyzovány na fruktózu a glukózu směsným enzymem obsahujícím sacharázu a maltázu. Po úpravě pH je stanoven obsah glukózy a fruktózy ve vzorku bez hydrolyzy fruktanů (vzorek A), a zároveň ve vzorku po hydrolyze fruktanů enzymem fruktanázou (vzorek B). Koncentrace glukózy a fruktózy je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 340 nm po reakci s adenzin trifosfátem (ATP) a nikotinamidadeninukleotidfosfátem (NADP⁺) v přítomnosti enzymů hexokinázy (HK), fosfoglucoizomerázy (PGI) a glukóza-6-fosfodehydrogenázy (G6P-DH). Obsah fruktanů je určen z rozdílů obsahů glukózy a fruktózy ve vzorcích B a A. [37, 41]

Metoda využívá následující reakce: [42]



Tato metoda není vhodná pro vzorky s vysokým obsahem D-glukózy, D-fruktózy, sacharózy nebo maltózy. [40]



Obrázek 6: Schéma modifikované AOAC Metody 999.03

4 TECHNOLOGIE VÝROBY OVOCNÉ KOJENECKÉ VÝŽIVY

Výživu kojence lze rozdělit do tří období, která se postupně prolínají a každé z nich trvá přibližně 4 až 6 měsíců. První období je výhradně mléčné, kdy je dítě plně kojeno, případně živeno mléčnou kojeneckou výživou (tzv. počáteční mléko). Druhé období je označováno za přechodné období a do jídelníčku dítěte se postupně zavádí příkrmy kašovitě konzistence. Ve třetím období, období smíšené stravy, se jídelníček dítěte začíná přibližovat jídelníčku dospělého jedince, zavádí se obiloviny, těstoviny, ovoce, zelenina, atd. [43]

Minimálně první čtyři měsíce života by mělo být dítě živeno výhradně mlékem, a je-li to možné, pak mateřským mlékem. Příkrm se doporučuje zavádět nejdříve na konci 4. měsíce a nejpozději na konci 6. měsíce. Jako první příkrm se doporučuje jednodruhové zeleninové pyré. Poté je vhodné postupně zavádět vícedruhové zeleninové pyré, maso-zeleninové pyré a nakonec pyré ovocné jednodruhové a vícedruhové. [43]

Kojenecká sterilovaná výživa je uzpůsobena požadavkům cílové skupiny a dodává základní živiny v dostatečném množství a optimálním poměru. Při výrobě je kladen důraz na šetrnost technologického procesu a snahou je omezit používání konzervačních prostředků, barviv, aromat a stabilizátorů či pojidel na minimum. [44 – 45]

Dětskou (kojeneckou) výživou se rozumí protlak kašovitě konzistence konzervovaný tepelnou sterilací. Dělí se na tři základní tržní druhy podle převládající suroviny na ovocnou, zeleninovou a maso-zeleninovou výživu (pyré). [46]

4.1 Ovocná kojenecká výživa

Ovocná kojenecká výživa je legislativně řazena mezi potraviny určené pro zvláštní výživu z důvodu specifických nutričních požadavků zdravých kojenců a malých dětí. Podle vyhlášky č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití, výrobek spadá do kategorie – potraviny pro obilnou a ostatní výživu jinou než obilnou (ostatní příkrmy) určenou pro výživu kojenců a malých dětí. Jedná se o příkrmy nemléčného typu na bázi ovoce, zeleniny nebo masa, s možným přídavkem cukru a člení se na:

- ovocné příkrmy (výživa, přesnídávka, pyré, dezert),

- ovocné příkrmy s jogurtem, tvarohem nebo jiným vhodným mléčným zakysaným výrobkem,
- ovocnoobilné příkrmy,
- ovocnozeleninové příkrmy,
- zeleninové příkrmy a polévky,
- masozeleninové příkrmy a polévky,
- masové příkrmy,
- nápoje na ovocném, zeleninovém základě nebo na základě jejich směsi a ovocné nebo zeleninové koncentráty. [47]

Ovocná výživa je pro kojence a batolata nezbytným zdrojem vitamínu C a minerálních látek včetně stopových prvků. Vyrábí se bez přísad, nebo s přísadami a většina výrobků se doporučuje kojencům od ukončeného 4. měsíce. [44]

Ovocná výživa bez přísad je rozmělněnou ovocnou dužninou (pyré), vyhovuje především kojencům, kteří si navykají na hustější stravu, a je lehce stravitelná. Ovocná výživa s přísadou je směs ovocného pyré s další neovocnou poživatinou (jogurt, tvaroh, cukr, aj.), která obohacuje ovocnou složku o další nutričně významné složky jako je mléčná bílkovina, vitaminy, minerální látky, vláknina, atd.). [44]

Ovocná kojenecká výživa je určena převážně pro kojence a děti do tří let věku. Jedná se o citlivou skupinu konzumentů, a proto se na tento druh potravin vztahují přísné specifické požadavky na bezpečnost (mikrobiologická kontaminace, rezidua pesticidů, přidávání aditiv), jakost i označování. [48 – 49]

Hlavní surovinou pro výrobu dětských ovocných výživ jsou v našich podmínkách jablka (jablečné pyré), dále se používají hrušky, meruňky, broskve, jahody, maliny, borůvky, banány apod. Celkový obsah ovoce se nejčastěji pohybuje v rozmezí od 40 do 100 %, v závislosti na receptuře. Na výrobu dětské výživy se zásadně používají suroviny nejvyšší jakosti. Výrobky dále mohou obsahovat přidanou vodu, cukr nebo jiná přírodní sladidla, kyselinu citrónovou, přírodní nebo modifikované škroby a kyselinu askorbovou (vitamin C) jako antioxidant. [45, 48]

Obsah nutričně, sensoricky a technologicky významných látek v dětských výživách závisí především na skutečném obsahu a složení ovocné složky ve výrobku. Velký vliv má také použitá technologie, zejména tepelné namáhání během výroby a podmínky skladování finálního výrobku. [48]

Pro výrobce kojenecké výživy a dozorové orgány státní správy je prioritou bezpečnost výrobku především z hlediska chemického znečištění a mikrobiologické kontaminace, zatímco složení výrobku a jeho nutriční hodnota jsou velmi často podceňovány. Existují studie, které poukazují na velké rozdíly ve složení a kvalitě komerčně dostupných kojeneckých výživ. Přestože existují výrobky, které obsahují pouze ovoce, jiné se vyznačují značným množstvím přidané vody, cukru nebo škrobovou výplní. [49]

4.2 Společnost Hamé:

Společnost HAMÉ, s. r. o. je přední českou potravinářskou firmou, jejíž tradice sahá až k 20. létům 20. století. Hlavním předmětem její činnosti je zpracování ovoce, zeleniny a masa. Na českém trhu nabízí své výrobky pod obchodními značkami Hamé, Otma, Znojmia, Veselá Pastýřka, Hamánek a další. Společnost sídlí v Kunovicích u Uherského Hradiště a v České Republice vlastní 7 výrobních závodů. [50]



Obrázek 7: Logo společnosti a obchodní značky Hamánek [50 – 51]

Společnost Hamé je výrobcem dvou řad kojeneckých výživ – Hamánek a BIO Hamánek. Tyto řady se od sebe liší pouze druhem surovinových vstupů. Pro výrobu výživy BIO Hamánek jsou používány produkty ekologického zemědělství (bio suroviny), kdežto pro Hamánek jsou používány standardně dostupné suroviny. Obchodní značka Hamánek a BIO Hamánek zahrnuje širokou škálu ovocných nápojů a nutričně vyvážených a věku odpovídajících ovocných, zeleninových a masozeleninových příkrmů. [51]

Kromě standardních ovocných příkrmů jednodruhových a příkrmů vícedruhových, společnost zavedla vzhledem k novým výživovým trendům i další řady ovocných kojeneckých výživ, jako je např. výživa s mléčnou složkou (jogurt, tvaroh, smetana), s vlákninou (ovesné vločky), s prebiotiky (inulin) nebo výživu pro diabetiky.

4.2.1 BabySmoothies s prebiotiky

BabySmoothies s prebiotiky je řadou ovocných kojeneckých výživ s přidáním prebioticky aktivní látky, kterou je v tomto případě inulin. Společnost zavedla na trh celkem 4 příchutě této výživy:

- BabySmoothies s jablky a prebiotiky
- BabySmoothies s meruňkami a prebiotiky
- BabySmoothies s jahodami a prebiotiky
- BabySmoothies s broskvemi a prebiotiky [52]



Obrázek 8: Řada ovocných kojeneckých výživ BabySmoothies [53]

4.3 Výroba ovocné kojenecké výživy:

Zpracování ovoce a zeleniny v podnicích konzervářského a mrazírenského průmyslu se oproti jiným odvětvím potravinářského průmyslu vyznačuje sezónností. Proto je zde snaha kampaňovitost výroby omezovat zužováním sortimentu nebo zaváděním výrob z polotovaru. Polotovarem jsou částečně rozpracované výrobky z ovoce, případně zeleniny, které se vyrábí v sezóně a na výrobky se zpracovávají v mimosezónním období. Pro výrobu ovocných kojeneckých výživ se využívá jako polotovar protlak. Ovocným protlakem se rozumí potravina řídké až kašovitě konzistence vyrobená z jedlé části ovoce (bez kůry, slupky, jader, pecek, jádřinců) propasírováním nebo obdobným procesem, s případným přidáním přírodních sladidel, konzervovaná snížením obsahu vody, sterilací nebo přidáním konzervačního prostředku nebo kombinací uvedených způsobů. [24, 54 – 55]

Základní suroviny, které využívá společnost Hamé, s. r. o. pro výrobu kojeneckých výživ lze rozdělit na suroviny tekuté (ovocná dřev, voda, fruktózo-glukózový sirup, smetana, jogurt a tvaroh) a sypké (sacharóza, sušená syrovátka a mléko, inulin).

Technologie výroby kojenecké výživy zahrnuje tyto základní kroky:

- skladování surovin,
- dávkování surovin,
- vaření produktu,
- plnění a příprava sklenic před plněním,
- pasterace a
- balení hotových výrobků [56]

První fází výroby ovocné kojenecké výživy je dávkování jednotlivých surovin podle receptury do nerezových zvonů, ze kterých jsou podtlakem přečerpávány do varného zařízení. Nejprve se ovocná dřev naředí pitnou vodou a tato směs se předeheje na 60 – 70 °C, poté jsou přidávány další komponenty výrobku. Ve varném kotli dochází k homogenizaci složek a následuje vaření, které probíhá za vakua při teplotě 85 °C po dobu 25 minut. [56]



Obrázek 9: Varné zařízení, v popředí dávkovací nerezový zvon [57]

Vyrobená kojenecká výživa je podrobena provozní kontrole, která zahrnuje stanovení sušiny, titrační stanovení kyselosti, zkoušku roztékavosti (viskozita produktu) a sensorické posouzení výrobku. Vyhovující výrobek je následně přečerpán do zásobního kotle před plničkou, kde je udržován při stálé teplotě 85 °C, která je teplotou plnicí. Směs je objemově plněna do promytých a propařených sklenic, které prošly kontrolním zařízením celistvosti a čistoty. [56]

Po naplnění a uzavření sklenic následuje tepelná sterilace v obalu při 89 °C po dobu sterilizační výdrže 25 minut, po které je výrobek postupně ochlazován pod 35 °C. Po sterilaci vstupují hotové výrobky na etiketovací a balicí linku a jsou expedovány do skladu. Vyrobené zboží je uskladněno minimálně po dobu 14 dní (inkubace), během kterých jsou provedeny laboratorní testy zahrnující termostatovou zkoušku, mikrobiologické testy a další fyzikálně-chemické zkoušky. [56]

Na výrobu ovocné kojenecké výživy se používají plně mechanizované linky vyrobené z materiálů, které způsobují minimální ztráty nutričních látek. Zařízení je uspořádáno tak, aby celý proces výroby probíhal s co nejnižším přístupem vzduchu. [58]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem praktické části diplomové práce bylo:

- Stanovit obsah inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu.
- Zhodnotit vliv běžných skladovacích podmínek po dobu jednoho roku na obsah inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu.
- Zjistit vliv jablečné odrůdy na degradaci inulinu a posoudit vhodnost nabízených odrůd pro výrobu ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu.
- Všechny vzorky podrobit základním chemickým analýzám, především zjistit hodnotu pH a stanovit refraktometrickou sušinu.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Použitý materiál, chemikálie, pomůcky a přístroje

6.1.1 Použitý materiál

Pro stanovení inulinu a základních chemických analýz byly použity vzorky ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu (Fruta Podivín, a. s.). Kojenecké výživy poskytnuté společností byly vyrobeny 5. ledna 2012. Pro srovnání hodnot byl analyzován i jeden vzorek ovocné kojenecké výživy vyrobené ze stejné šarže surovin, avšak bez přídavku inulinu (Fruta Podivín, a. s.). Vzorky byly v průběhu ročního experimentu skladovány při doporučených skladovacích podmínkách (uvedeno na obale), tedy v suchu a temnu při teplotě 0 – 30 °C. Charakterizace vzorků je uvedena v Tabulce 3.

Tabulka 3: Charakterizace ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu

Název výrobku	BabySmoothies s jablky a prebiotiky
Výrobce	HAMÉ, s. r. o.
Balení výrobku	Výrobek se plní do skleněných obalů, hmotnost plnění je 250 g.
Skupinový název	Zpracované ovoce. Ovocné protlaky – jednodruhové, slazené, s přídavkem vlákniny. Kojenecká výživa od dokončeného 4. měsíce.
Složení výrobku	Jablečná dřev (60 %), cukr, kukuřičný modifikovaný škrob, prebiotická vláknina, regulátor kyselosti: kyselina citrónová, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C.
Nutriční hodnoty (100 g výrobku)	Energie – 316 kJ, bílkoviny – 0,1 g, tuky – 0,2 g, (z toho nasycené mastné kyseliny 0,0 g), sacharidy – 19,4 g, (z toho cukry – 11,0 g), vláknina – 3,1 g, sodík – 0,0 g, vitamin C – min. 10 mg.

Pro zkoumání vlivu jablečné odrůdy na degradaci inulinu byly ke stanovení inulinu a základních chemických analýz použity čtyři jablečné odrůdy získané od drobných pěstitelů ze Zlínského kraje, komerční preparát inulinu Orafit GR (Azelis Czech Republic, s. r. o.) a sacharóza (Lach-Ner, ČR). Jejich charakteristiky jsou uvedeny v Tabulce 4 a Tabulce 5.

Tabulka 4: Charakterizace komerčního preparátu inulinu

Název preparátu	Orafti GR
Výrobce	Azelis Czech Republic, s. r. o., Praha
Popis	Orafti GR je složkou potravin skládající se převážně z inulinu čekanky. Jedná se o granulovaný prášek.
Složení	inulin (> 90 %), glukóza a fruktóza (≤ 4 %), sacharóza (≤ 8 %)

Tabulka 5: Stručná charakterizace vzorků jablečných odrůd

Vzorek	Odrůda	Popis odrůdy
1	Jadernička moravská	Jadernička moravská je podzimní až zimní odrůda. Plody jsou malé až střední, kuželovité, slupka má žlutou barvu. Mají vyrovnaný poměr kyselin a cukrů. Pro vysokou cukernatost vhodná pro výrobu přesnídávek a pyrů bez přídavku cukru. [59]
2	James Grieve	James Grieve je letní odrůda. Plod je střední až velký, kulovitý, tvarově vyrovnaný. Slupka je žlutá, světle červeně žíhaná s výrazným červeným líčkem. Chuť je mírně nakyslá, aromatická. [60]
3	Rubín	Rubín je zimní odrůda. Plody jsou středně velké až velké, žluté, kryté červeně žíhaným líčkem. Odrůda je charakteristická výbornou sladkou chutí. [61]
4	Ušlechtilé žluté	Ušlechtilé žluté je podzimní odrůda. Její plody jsou střední až velké, kulovité, slupka je lesklá, žlutozelená. Dužnina je nasládle kyselá. [59]

6.1.2 Použité chemikálie

- Kit Megazyme K-FRUC (Noack ČR, Brno)
 - Enzym A – sacharáza (plus β -amyláza, pullulanáza, maltáza)
 - Enzym B – fruktanáza
 - Fruktan kontrolní moučka
 - Sacharóza kontrolní moučka
 - Standardní roztok fruktózy
- Pufr 1 – Pufr sodné soli kyseliny butendiové (100 mM, pH 6,5)
 - Kyselina maleinová (Lachema, Brno)
 - Hydroxid sodný (Lachema, Brno)
- Pufr 2 – Pufr octanu sodného (100 mM, pH 4,5)
 - Kyselina octová ledová (Ing. Petr Lukeš)
 - Hydroxid sodný (Lachema, Brno)
- Činidlo 1 – PAHBAH pracovní činidlo (roztok A : B v poměru 1 : 9)
 - Roztok A
 - Hydrazid kyseliny p-hydroxybenzoové (Sigma-Aldrich)
 - Kyselina chlorovodíková (Ing. Petr Lukeš)
 - Roztok B
 - Citrát trisodný (Lachema, Brno)
 - Chlorid vápenatý dihydrát (Lachema, Brno)
- Činidlo 2 – Hydroxid sodný (50 mM)
- Činidlo 3 – Alkalický boran (10 mg/ml boranu v činidle 2)
 - Borhydrid sodný (Sigma-Aldrich)
- Činidlo 4 – Kyselina octová (200 mM)
 - Kyselina octová ledová (Ing. Petr Lukeš)

6.1.3 Použité pomůcky a přístroje

- Předvážky KB 600-2610 (KERN)
- Analytické váhy Explorer Pro model EP 214 CM (OHAUS)
- Spektrofotometr s kyvetami DR/2500 (ODYSSEA)
- pH metr GRYF 209S (GryfHB)
- Digitální refraktometr HI 96801 (HANNA)
- Sušárna Venticell (BMT Medical Technology)
- Muflová pec 018 LP (Elektrické pece Svoboda)
- Chladnička (GORENJE)
- Hlubokomrazicí box MDF-U3286S (SANYO)
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC (CHRIST)
- Vodní lázeň (MEMMERT)
- Elektrický vařič (ETA)
- Tyčový mixér MR 6560 MCA (BRAUN)
- Porcelánové kelímky, váženky, exsikátor
- Běžné laboratorní pomůcky a sklo

6.2 Příprava vzorků

6.2.1 Degradace inulinu během skladování ovocných kojeneckých výživ

Pro stanovení bylo použito 12 vzorků ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu. Jednou měsíčně (po 30 ± 3 dnech) byl vzorek výživy otevřen a byly provedeny základní chemické analýzy (sušina, refraktometrická sušina, popel, pH) a zjištěn obsah inulinu. Poměrná část každého vzorku ovocné kojenecké výživy byla v průběhu skladovacího pokusu zlyofilizována a i v těchto vzorcích byl stanoven obsah inulinu.

6.2.2 Vliv jablečné odrůdy na degradaci inulinu

Pro zjištění vlivu jablečné odrůdy na degradaci inulinu byly použity 4 jablečné odrůdy. Pro vytvoření reprezentativního množství jablečné dřeň bylo z každé odrůdy použito 5 kg jablek. Z očištěných jablek byla odstraněna slupka a všechny nepoživatelné části a jablka byla rozmixována za vzniku jablečné dřeň. U každé jablečné dřeň byla zjištěna sušina, refraktometrická sušina a hodnota pH.

Z každé odrůdy byly pro další analýzu vytvořeny 4 vzorky, u kterých byl zkoumán vliv přídavku sacharózy a vliv působení záhřevu na obsah inulinu. Charakteristika vzorků je uvedena v Tabulce 6.

Tabulka 6: Úprava vzorků jablečných dření pro stanovení obsahu inulinu

Vzorek č.	Popis vzorku
1	Jablečná dřeň s přídavkem inulinu ^a
2	Jablečná dřeň s přídavkem inulinu ^a a sacharózy ^b
3	Jablečná dřeň s přídavkem inulinu ^a , působení vyšších teplot ^c
4	Jablečná dřeň s přídavkem inulinu ^a a sacharózy ^b , působení vyšších teplot ^c

^a Přídavek komerčního preparátu inulinu ve všech vzorcích činil 5 %.

^b Sacharóza byla k jablečné dřeň přidávána v takovém množství, aby obsah původní refraktometrické sušiny jablečné dřeň byl zvýšen na hodnotu max. 19,9 %, což odpovídá fyzikálně chemickým požadavkům ve výrobní specifikaci (BabySmoothies s jablky a prebiotiky) společnosti Hamé, s. r. o. [62]

^c Záhřev vzorků byl zvolen jako působení teploty 85 °C po dobu 5 minut, následovalo zvýšení teploty na 95 °C a její působení po dobu 5 minut.

6.3 Stanovení pH

Hodnota pH je důležitým údajem pro posouzení údržnosti potravin a také pro sensorické posouzení tzv. aktivní kyselosti. Hodnota pH se určuje kolorimetricky nebo potenciometricky, pH je definováno jako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů. K přesnému stanovení pH slouží potenciometrické stanovení, pro které se jako měrná elektroda používá skleněná a jako referenční kalomelová elektroda. [63 – 65]

Stanovení hodnoty pH výživy a jablečné dřeně bylo provedeno pomocí vpichového pH-metru se skleněnou elektrodou, která byla přímo vložena do analyzovaného zhomogenizovaného vzorku. Každý vzorek byl 3x proměřen.

6.4 Stanovení sušiny

Sušinou se rozumí suma všech organických i anorganických složek obsažených v potravine kromě vody a plynů. Metody stanovení sušiny, resp. vody se rozlišují na přímé a nepřímé. Nejčastěji používanou metodou pro přímé stanovení sušiny je sušení vzorku za stanovených podmínek nebo do konstantního úbytku hmotnosti. Suší se při teplotě 105 °C a atmosférickém tlaku v elektrické sušárně. [46, 63, 66]

Vysoušecí hliníkové misky s víčky, skleněnou tyčinkou a mořským pískem byly předsušeny v sušárně při teplotě 105 °C po dobu 1 hodiny. Misky byly po vychladnutí v exsikátoru zváženy na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Do misek bylo naváženo 5 g vzorku ovocné kojenecké výživy (jablečné dřeně) a vzorek byl s mořským pískem promíchán a vložen do sušárny. Během první půlhodiny sušení byly misky vyndány a obsah důkladně promíchán. Po 2 hodinách sušení při 105 °C byly misky vloženy do exsikátoru a po vychladnutí zváženy. Vzorky byly vloženy zpět do sušárny a tento postup byl po 30 minutách sušení opakován do dosažení konstantní hmotnosti. Obsah sušiny S (% w/w) byl vypočítán podle vztahu (1).

$$S = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \cdot 100 \quad (1)$$

kde m_1 – hmotnost váženky se vzorkem po sušení [g]

m_2 – hmotnost váženky se vzorkem před sušením [g]

m – hmotnost prázdné váženky [g]

Stanovení bylo provedeno 3x pro jeden vzorek ovocné kojenecké výživy/jablečné dřeně.

6.5 Stanovení refraktometrické sušiny

Pojmem refraktometrická sušina se značí sušina rozpustná ve vodě. Refraktometrické stanovení sušiny vychází ze vzájemné souvislosti mezi indexem lomu a koncentrací rozpustných látek ve vzorku. Refraktometrické stanovení sušiny má široké uplatnění v potravinářských oborech, především z důvodu rychlosti a jednoduchosti metody. Pro orientační zjištění refraktometrické sušiny výrobku jsou používány ruční refraktometry. [63, 67]

Stanovení refraktometrické sušiny výživy a jablečné dřeně bylo provedeno pomocí digitálního refraktometru. Každý vzorek byl 3x proměřen. Pro korekci výsledků byla mezi každým stanovením změřena refraktometrická sušina destilované vody.

6.6 Stanovení popela

Pod pojmem minerální látky nebo také popeloviny se rozumí soubor prvků a sloučenin, který zůstává po spálení a vyžhání vzorku potravin. Popel je tedy anorganický zbytek vzniklý spálením organické hmoty. Množství popela v potravinách je stanoveno zvážením minerálního zbytku vzorku, který je žhán v porcelánové misce při teplotě 500 až 550 °C. Jedná se o suchý způsob spalování, který je běžný pro stanovení celkového popela a někdy je využíván před elementární analýzou jednotlivých minerálních látek. [34, 54, 68]

Porcelánové kelímky byly vloženy do muflové pece a žhány po dobu 1 hodiny při 550 °C. Po vychladnutí v exsikátoru byly zváženy na analytických vahách s přesností na 0,0001 g. Do vyžháných kelímků byl navážen 1 g vzorku ovocné kojenecké výživy (jablečné dřeně) a vložen do muflové pece. Po 5 hodinách pálení při teplotě 550 °C byly vzorky vloženy do exsikátoru a po vychladnutí zváženy. Obsah popela P (% w/w) byl vypočten dle vztahu (2).

$$P = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \cdot 100 \quad (2)$$

kde m_1 – hmotnost spalovacího kelímku se vzorkem po spálení [g]

m_2 – hmotnost spalovacího kelímku se vzorkem před spálením [g]

m – hmotnost prázdného vyžháného spalovacího kelímku [g]

Stanovení bylo provedeno 3x pro jeden vzorek ovocné kojenecké výživy/jablečné dřeně.

6.7 Stanovení inulinu

Pro stanovení obsahu inulinu byla použita AOAC Metoda 999.03 (kit Megazyme K-FRUC) pro stanovení fruktooligosacharidů a fruktanových polysacharidů. Použitá metoda se vyznačuje jednoduchostí, používá standardní laboratorní vybavení, je přesná, reprodukovatelná a specifická. Princip metody je založen na hydrolýze sacharózy, případně škrobu za vzniku glukózy a fruktózy vlivem *enzymu A*, což je zředěný roztok sacharázy spolu s β -amylázou, pullulanázou a maltázou, který je součástí kitu. Glukóza a fruktóza jsou redukujícími sacharidy, které se pomocí alkalického boranu redukují na cukerné alkoholy, a přebytek boranu je poté odstraněn a roztok neutralizován pomocí zředěné kyseliny octové. Přítomné fruktany jsou hydrolyzovány na fruktózu a glukózu vlivem *enzymu B*, což je roztok fruktanázy (exo-inulináza a endo-inulináza) dodaný v kitu. Vzniklé redukující cukry jsou měřeny pomocí metody PAHBAH – redukující cukry, kde cukry poskytují barevnou reakci s hydrazidem kyseliny p-hydroxybenzoové. [39]

Před prvním stanovením byla připravena všechna činidla a enzymy podle návodu, který byl součástí kitu Megazyme K-FRUC (Příloha P II). [39]

K 1 g analyzovaného vzorku v kádince bylo přidáno 80 ml horké destilované vody (80 °C) a vše bylo zahříváno při 80 °C po dobu 15 minut pro rozptýlení vzorku. Po vychladnutí na pokojovou teplotu byl vzorek kvantitativně převeden do 100 ml odměrných baněk, doplněn po rysku a zfiltrován. Z filtračního podílu bylo odebráno 0,2 ml vzorku do skleněné zkumavky a k tomu přidáno 0,2 ml *enzymu A*. Zkumavky byly inkubovány 30 minut ve vodní lázni při 40 °C. Po inkubaci bylo do zkumavky přidáno 0,2 ml *činidla 3* (alkalický boran), obsah byl promíchán a zkumavky byly opět inkubovány 30 minut při 40 °C. Následoval přidavek 0,5 ml *činidla 4* (kyselina octová) a intenzivní protřepání vzorku.

Ze zkumavky bylo přeneseno 0,2 ml alikvotního podílu roztoku na dno dalších 3 zkumavek. Do 2 z nich (vzorek) bylo přidáno 0,1 ml *enzymu B* a do 3. zkumavky (slepý vzorek) bylo přidáno 0,2 ml *pufru 2* (pufr octanu sodného). Všechny zkumavky byly inkubovány při 40 °C po dobu 20 minut.

S každou sadou stanovení bylo vytvořeno *slepé činidlo* a *standard fruktózy*. *Slepé činidlo* obsahovalo 0,3 ml *pufru 2*. *Standard fruktózy* byl připraven smícháním 0,2 ml standardního roztoku fruktózy (součást kitu) a 0,9 ml *pufru 2*. Tento roztok byl rozdělen na alikvotní podíly (po 0,2 ml) do tří zkumavek a do každé z nich bylo navíc přidáno 0,1 ml *pufru 2*.

Do všech zkumavek obsahujících vzorky, slepý vzorek, *standard fruktózy* a *slepé činidlo* bylo přidáno 5 ml pracovního *činidla 1* (PAHBAH). Vzorky byly vloženy do vroucí vodní lázně po dobu 6 minut a poté rychle zchlazeny na teplotu 18 – 20 °C. Následně byla změřena absorbance všech roztoků při vlnové délce 410 nm proti *slepému činidlu* a podle vzorce (3) vypočítán obsah fruktanů. [39]

$$FR = \Delta E \cdot F \cdot a \cdot V \cdot b \cdot \frac{100}{W} \cdot \frac{1}{1000} \cdot c \quad (3)$$

kde FR – množství fruktanů [% w/w]

ΔE – rozdíl absorbance vzorku a absorbance slepého vzorku (proti slepému činidlu)

F – faktor pro převedení hodnot absorbance na μg fruktózy

$$F = (54,5 \mu\text{g fruktózy}) / (\text{hodnota absorbance pro } 54,5 \mu\text{g fruktózy})$$

a – přepočítávací faktor z testovaných 0,2 ml na 1 ml ($a = 5$)

V – objem použitého extraktu [ml], ($V = 100$ ml)

b – přepočítávací faktor z testovaných 0,2 ml na 1,1 ml standardu fruktózy ($b = 5,5$)

W – hmotnost extrahovaného vzorku [mg], ($W = 1000$ mg)

$100/W$ – faktor pro vyjádření fruktanů v procentech navážky

$1/1000$ – faktor pro převod μg na mg

c – faktor pro převod volné fruktózy, jak je definovaná, na bezvodou fruktózu a bezvodou glukózu, jak se vyskytuje ve fruktanech ($c = 162/180 = 0,9$)

Stanovení bylo provedeno 3x pro jeden vzorek ovocné kojenecké výživy/jablečné dřeně.

6.8 Statistické vyhodnocení

Naměřené hodnoty obsahu inulinu byly vyhodnoceny analýzou rozptylu ANOVA (testování rozdílů více středních hodnot). Statistická analýza byla provedena za použití statistického softwaru QC.Expert 3.3 a Office Excel®Microsoft. Statistické hodnocení bylo provedeno na hladině významnosti 5 %.

6.9 Lineární regrese

Nejjednodušší formou regrese je lineární regrese, která předpokládá lineární závislost mezi dvěma náhodnými veličinami. Pro popis a hodnocení vztahů mezi těmito veličinami (x , y) se využívá regresní rovnice (4).

$$y = k \cdot x + q \quad (4)$$

Koeficient k dané rovnice představuje sklon regresní přímky. Koeficient q určuje průsečík přímky s osou y . Kladná hodnota koeficientu k představuje *přímou* lineární závislost mezi proměnnými x a y (přímka bude stoupající), záporná hodnota indikuje *nepřímou* lineární závislost (přímka bude klesající). [69]

Metoda lineární regrese byla použita pro vyhodnocení intenzity úbytku inulinu ve vzorcích.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Skladovací pokus pro ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu

7.1.1 Základní chemické analýzy ovocných výživ

V první části experimentu byly u vzorků ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu provedeny základní chemické analýzy – stanovení hodnoty pH, obsahu sušiny, refraktometrické sušiny a popela. V Tabulce 7 jsou uvedeny výsledky těchto stanovení v ovocných kojeneckých výživách s přidavkem inulinu a pro srovnání také ve vzorku ovocné kojenecké výživy bez přidavku inulinu.

Tabulka 7: Obsah sušiny, refraktometrické sušiny, popela a hodnoty pH u vzorků v průběhu ročního skladování

Měsíc	pH	Sušina [%]	Refraktometrická sušina [%]	Popel [%]
<i>Ovocná kojenecká výživa bez přidavku inulinu</i>				
Únor 2012	3,44	18,58 ± 0,10	18,24 ± 0,05	0,10 ± 0,01
<i>Ovocná kojenecká výživa s přidavkem inulinu</i>				
Únor 2012	3,38	19,63 ± 0,03	19,36 ± 0,08	0,12 ± 0,01
Březen 2012	3,37	19,61 ± 0,03	19,34 ± 0,08	0,13 ± 0,03
Duben 2012	3,38	19,59 ± 0,01	19,34 ± 0,05	0,11 ± 0,02
Květen 2012	3,37	19,60 ± 0,03	19,38 ± 0,04	0,12 ± 0,02
Červen 2012	3,37	19,61 ± 0,03	19,32 ± 0,10	0,13 ± 0,01
Červenec 2012	3,37	19,60 ± 0,06	19,34 ± 0,10	0,12 ± 0,01
Srpen 2012	3,38	19,60 ± 0,04	19,36 ± 0,02	0,12 ± 0,03
Září 2012	3,38	19,61 ± 0,01	19,36 ± 0,21	0,12 ± 0,02
Říjen 2012	3,37	19,60 ± 0,08	19,36 ± 0,14	0,11 ± 0,01
Listopad 2012	3,37	19,60 ± 0,01	19,34 ± 0,05	0,12 ± 0,02
Prosinec 2012	3,37	19,60 ± 0,09	19,36 ± 0,08	0,12 ± 0,01
Leden 2013	3,37	19,60 ± 0,18	19,32 ± 0,09	0,12 ± 0,00

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 3).

Hodnota pH, která určuje aktivní kyselost, byla stanovena dle metodiky v kapitole 6.3 a v průběhu ročního skladování výživ se pohybovala v rozmezí od 3,37 do 3,38. Ovocná kojenecká výživa bez přídavku inulinu vykazovala o něco málo vyšší hodnotu pH a to 3,44.

Obsah sušiny byl stanoven podle metodiky uvedené v kapitole 6.4 a její hodnoty v ovocné kojenecké výživě s přídavkem inulinu se v průběhu roku pohybovaly v rozmezí 19,59 – 19,63 %. Pro srovnání byl stanoven obsah sušiny i v ovocné kojenecké výživě bez přídavku inulinu a její hodnota činila 18,58 %.

Stanovení refraktometrické sušiny bylo provedeno dle metodiky v kapitole 6.5 a byly získány hodnoty v rozmezí 19,32 – 19,38 % pro vzorky ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu a 18,24 % pro vzorek bez přídavku inulinu. Ve výrobní specifikaci společnosti Hamé, s.r.o. je uveden požadavek na obsah refraktometrické sušiny v kojenecké výživě max. 19,9 %. Vzhledem ke zjištěným hodnotám analyzované vzorky odpovídají požadavkům na obsah refraktometrické sušiny. [62]

Obsah popela byl stanoven žiháním vzorků podle metodiky v kapitole 6.6. V ovocné kojenecké výživě s přídavkem inulinu byly zjištěny hodnoty popela v rozmezí 0,11 – 0,13 % a ve výživě bez přídavku inulinu 0,10 %.

7.1.2 Časová závislost degradace inulinu ve vzorcích výživ

Hlavním cílem praktické části diplomové práce bylo stanovit obsah inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu, zjistit zda dochází k jeho úbytku v průběhu ročního skladování a v kladném případě stanovit rozsah této degradace. Stanovení množství inulinu ve vzorcích bylo provedeno enzymatickou metodou, jejíž popis je uveden v kapitole 6.7. Naměřené hodnoty obsahu inulinu a statistické vyhodnocení vlivu skladování jsou uvedeny v Tabulce 8.

Tabulka 8: Obsah inulinu ve vzorcích kojenecké výživy v průběhu ročního skladování

Měsíc	Obsah inulinu [%]
<i>Ovocná kojenecká výživa bez přídavku inulinu</i>	
Únor 2012	0,12 ± 0,03
<i>Ovocná kojenecká výživa s přídavkem inulinu</i>	
Únor 2012	1,92 ± 0,02 ^a
Březen 2012	1,76 ± 0,02 ^b
Duben 2012	1,68 ± 0,03 ^c
Květen 2012	1,56 ± 0,03 ^d
Červen 2012	1,16 ± 0,00 ^e
Červenec 2012	0,85 ± 0,01 ^f
Srpen 2012	0,61 ± 0,01 ^g
Září 2012	0,43 ± 0,01 ^h
Říjen 2012	0,36 ± 0,01 ⁱ
Listopad 2012	0,30 ± 0,01 ^j
Prosinec 2012	0,25 ± 0,01 ^k
Leden 2013	0,24 ± 0,00 ^k

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 3). Hodnoty ve stejném sloupci s různým horním indexem vykazují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Obsah inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu v průběhu ročního skladovacího pokusu postupně klesal od 1,92 % až na hodnotu 0,24 %. Při statistickém vyhodnocení vlivu skladování byly zjištěny během celého skladovacího pokusu statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 5 % v obsahu inulinu mezi jednotlivými vzorky s výjimkou rozdílu obsahu inulinu mezi vzorky z předposledního (prosinec 2012) a posledního měsíce skladování (leden 2013), kdy koncentrace inulinu byla již na velmi nízké úrovni.

Z uvedeného vyplývá, že byla prokázána časová závislost úbytku obsahu inulinu v ovocných kojeneckých výživách v průběhu ročního skladovacího pokusu.

Enzymatické metodě pro stanovení obsahu inulinu byl podroben i vzorek ovocné kojenecké výživy vyrobený ze stejné šarže surovin, avšak bez přídavku inulinu. Byla zjištěna hodnota 0,12 % inulinu, která je taktéž uvedena v Tabulce 8. Zjištěný výsledek může být zatížen chybou stanovení použité metody.

Na počátku experimentu (únor 2012) byl zjištěn obsah inulinu 1,92 g a na konci skladování (leden 2013) byl stanoven obsah 0,24 g ve 100 g ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu. Během 12 měsíců kleslo množství inulinu ve vzorcích výživ o 88 %. Autoři Korakli a kol. i Glibowski a kol. [70 – 71] uvádí, že ke značné hydrolyze inulinu v potravinách dochází především vlivem kyselého prostředí a v přítomnosti sacharidů. Vysoké procento úbytku inulinu je zřejmě v souladu s citovaným zdrojem způsobeno přídavkem sacharózy k jablečné surovině a hodnotou pH výrobku.

V materiálech, které byly poskytnuty výrobcem, je uvedeno, že přídavek inulinu do ovocných výživ představuje při míchání surovin 7 %. Ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu byly vyrobeny 5. ledna 2012 a první stanovení obsahu inulinu bylo provedeno až po jednom měsíci od výroby. Na počátku skladovacího pokusu (únor 2012) bylo zjištěno, že výživa obsahuje 1,92 %. Z toho plyne, že samotným procesem výroby dochází k poklesu obsahu inulinu maximálně o 73 %. Tento poznatek je v souladu s interní informací (Hamé, s. r. o), která nebyla dosud publikována, kdy bylo zjištěno, že obsah inulinu ve vzorcích poklesl procesem výroby z původních 7 na 1,7 % (také měřeno měsíc od výroby).

Autoři Glibowski a kol. [71] uvádí, že hydrolyza inulinu je značná v podmínkách dlouhodobého působení vyšších teplot. V souladu s tímto zdrojem lze tvrdit, že značná degradace inulinu během výroby je způsobena především vlivem působení vysokých teplot při vaření polotovarů, plnění směsi do obalů a při sterilačním zákroku. Výrobcem ovocných kojeneckých výživ byly dodány materiály, ve kterých je uvedena celková doba působení vysokých teplot na výrobek v jednotlivých fázích výroby. Konkrétně se jedná o působení teploty 85 °C po dobu 30 – 40 minut při rozváření surovin, teploty 85 °C po dobu 30 – 50 minut působící na suroviny v zásobníku během plnění výrobku do sklenic a na závěr působení sterilační teploty 89 °C po dobu 20 minut (náběh) a 25 minut (výdrž). Tento teplotní režim je jedním z přísných technologických opatření pro zajištění zdravotní nezávadnosti kojenecké výživy. Vzhledem k tomu, že všechny složky použité pro její výrobu musí být tomuto teplotnímu režimu podrobeny, není možné inulin dodávat do výrobku dodatečně, čímž by se ovšem zabránilo jeho vysoké degradaci již v průběhu výroby.

Celkový úbytek inulinu v ovocných kojeneckých výživách s jeho přidavkem je tedy vlivem výroby a současně i vlivem ročního skladování až 97 %.

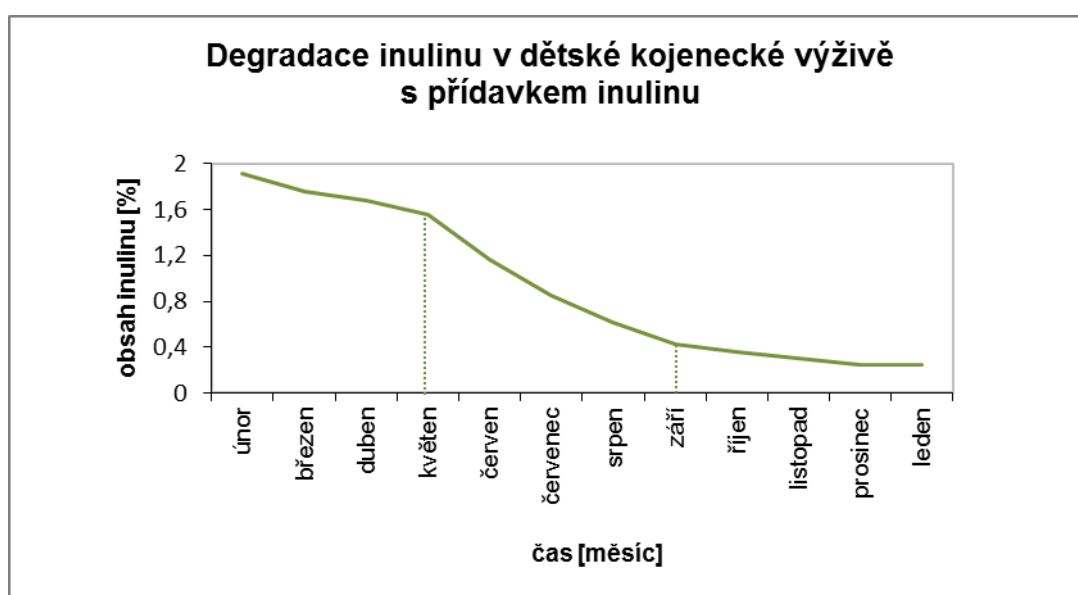
V příloze nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 o údajích týkajících se potravin z hlediska jejich nutriční hodnoty a vlivu na zdraví je uvedeno, že výrobek lze označit výživovým tvrzením – zdroj vlákniny, pokud obsahuje alespoň 3 g vlákniny ve 100 g výrobku. [72] Zjištěný obsah inulinu v ovocných kojeneckých výživách s přidavkem inulinu (BabySmoothies s jablky a prebiotiky) neodpovídá 3 % vlákniny definované ve výše zmíněném nařízení. Inulin ovšem není jediným zdrojem vlákniny v ovocné kojenecké výživě s přidavkem inulinu. Významným zdrojem vlákniny v ovocných výživách je pektin obsažený v jablečné surovině pro výrobu výživ. [73] Zkoumaný výrobek by bylo možné v souladu s nařízením (ES) č. 1924/2006 označit jako zdroj vlákniny, pokud by množství vlákniny (kromě inulinu) představovalo alespoň 3 %.

Vzorek ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu je produktem společnosti Hamé, s. r. o., která jej zařazuje do řady kojeneckých výživ s názvem BabySmoothies s prebiotiky. Od ostatního sortimentu se tato řada odlišuje právě přidavkem inulinu. Vzhledem k tomu, že procesem výroby dochází k úbytku inulinu přibližně o 73 % a vlivem technologie výroby spolu s vlivem ročního skladování výrobku až o 97 %, nemůže být tento výrobek považován za zdroj prebiotik. Možným řešením je navrhnout výrobcí, aby zvýšil množství přidavku inulinu ke směsi polotovarů určených k výrobě ovocné výživy. Ztráty inulinu během výroby a skladování jsou ovšem natolik vysoké, že se řešení jeví jako ekonomicky nevýhodné. Dalším důvodem k nereálnosti tohoto řešení je zohlednění doby trvanlivosti výrobku, která činí 18 měsíců od data výroby, a nemožností zajistit stabilní množství tohoto prebiotika během celé doby trvanlivosti.

Vzhledem k výsledkům uvedeným v této diplomové práci, kde byla prokázána degradace inulinu v ovocných kojeneckých výživách s jeho přidavkem, by měla společnost vyrábějící výživu zvážit, zda je pro ně výroba produktové řady BabySmoothies s prebiotiky nadále výhodná. Kružík [74] ve své studii navrhuje, že namísto stanovení koncentrace inulinu by bylo vhodnější ověřit prebiotickou aktivitu hydrolyzovaného inulinu. Pokud by tedy chtěla společnost zachovat ve svém sortimentu výrobků řadu kojeneckých výživ s přidavkem prebiotik, bylo by vhodné se zaměřit právě na ověření prebiotické aktivity těchto výrobků.

7.1.3 Zhodnocení degradace inulinu metodou lineární regrese

Průběh degradace inulinu ve výživách během skladovacího pokusu je graficky znázorněn na Obrázku 10. Z grafu je zřejmé, že pokles inulinu v průběhu ročního skladování není přímo úměrný době skladování. Dle naměřených hodnot lze časovou závislost úbytku inulinu rozdělit do tří období, které odpovídají vždy 4 měsícům skladování. Každé z těchto období je charakteristické jinou intenzitou úbytku inulinu a pro každé z nich byl sestaven samostatný graf (Obrázek 11, 12 a 13), kde byly výsledné hodnoty proloženy lineární regresní přímkou s uvedením rovnice regrese.

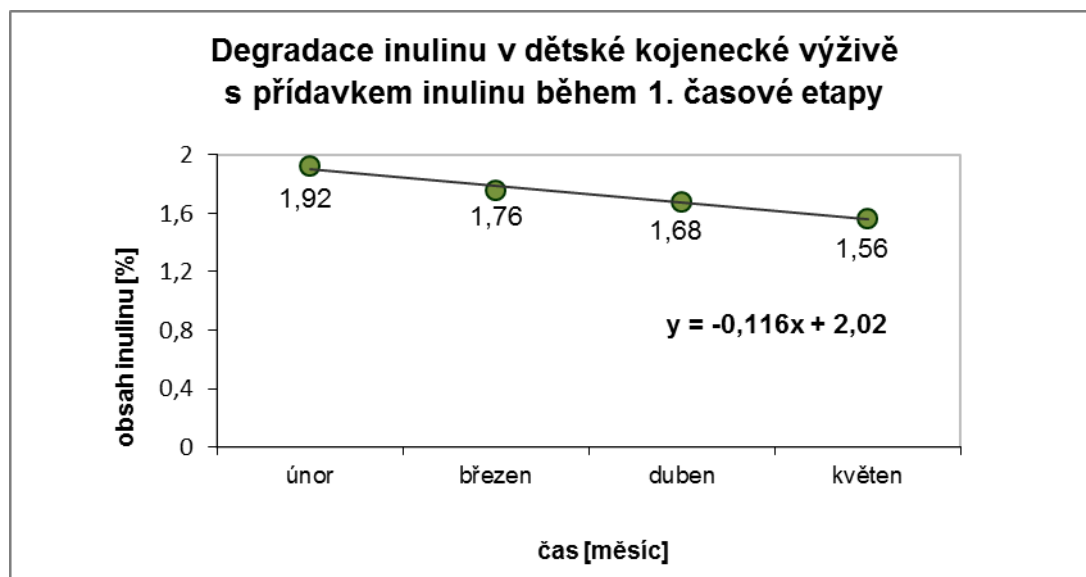


Obrázek 10: Obsah inulinu ve vzorcích v průběhu skladování

7.1.3.1 První fáze degradace inulinu

V první fázi skladovacího experimentu od února do května 2012 (Obrázek 11) byly naměřeny hodnoty obsahu inulinu v rozmezí 1,92 – 1,56 g ve 100 g výrobku. Pokles inulinu v ovocných kojeneckých výživách byl v této první etapě skladování mírný a mezi jednotlivými měsíci se pohyboval od 5 do 8 %. Celkový úbytek inulinu od počátku skladování (únor 2012) byl po 3. měsíci skladování 19 %.

Záporná hodnota koeficientu k z rovnice regrese uvedené na Obrázku 11 demonstruje, že se jedná o úbytek obsahu inulinu ve vzorcích, přičemž číselná hodnota koeficientu k (0,116) vyjadřuje, že úbytek inulinu byl v první etapě skladování mírný v porovnání s dalšími dvěma obdobími.



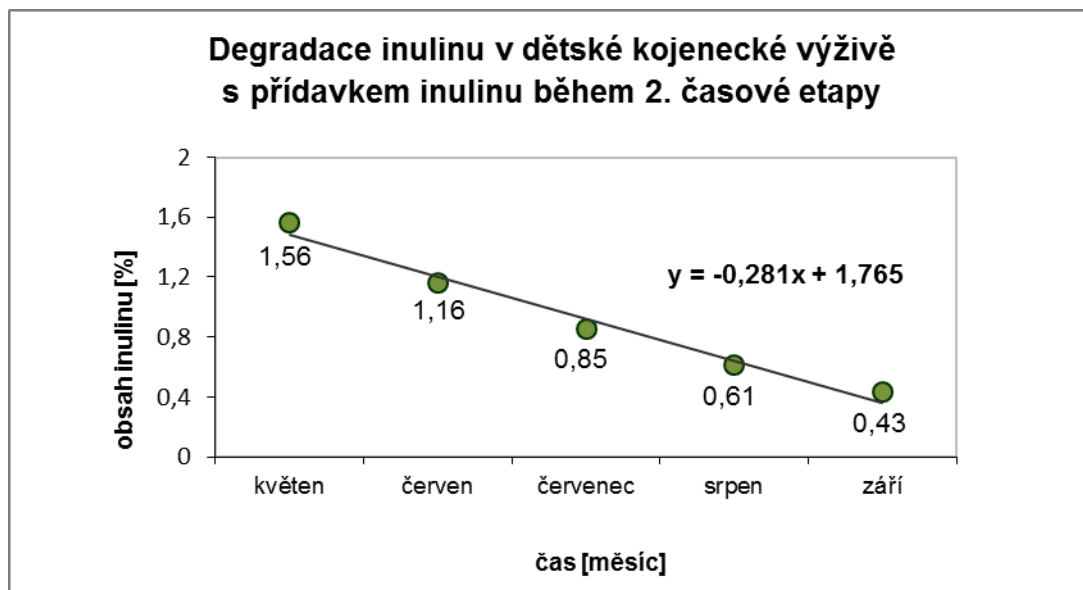
Obrázek 11: Skladovací experiment – únor až květen 2012

7.1.3.2 Druhá fáze degradace inulinu

V období od května do září 2012 (Obrázek 12) byly zjištěny hodnoty 1,56 – 0,43 g odpovídající množství inulinu ve 100 g výrobku ovocné kojenecké výživy s přídavkem inulinu.

Toto období je popsáno regresní rovnicí na Obrázku 12, kde číselná hodnota koeficientu k (0,281) vyjadřuje nejrychlejší úbytek inulinu oproti první, ale i třetí časové etapě.

V druhé fázi skladovacího pokusu byl úbytek inulinu mezi jednotlivými měsíci nejzřetelnější a pohyboval se v rozmezí 26 – 30 %, přičemž celkový pokles inulinu představoval po 7. měsíci skladování již 78 % z původní hodnoty jeho obsahu.

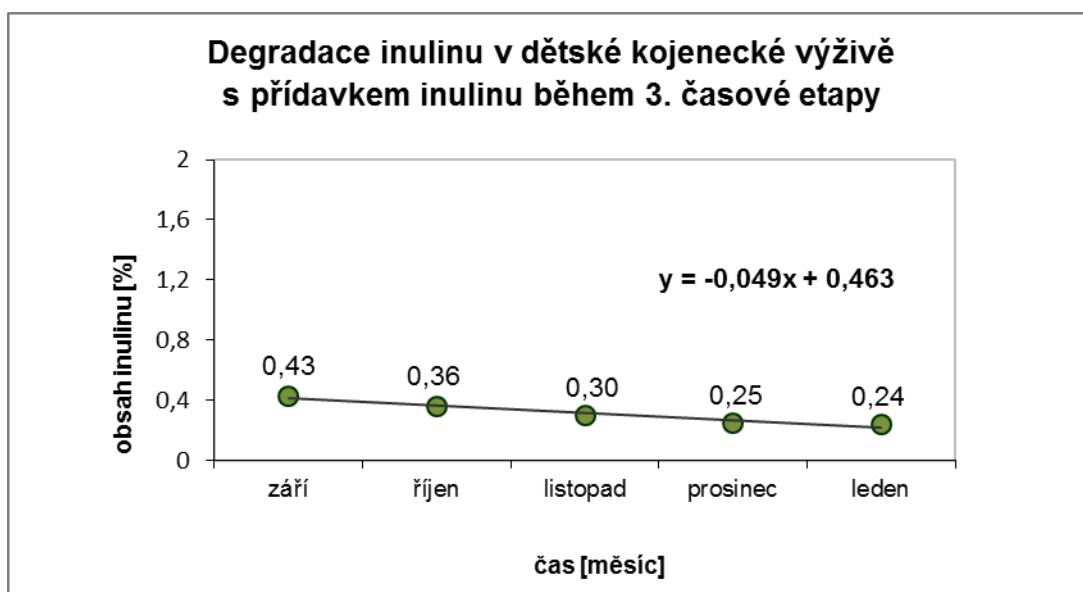


Obrázek 12: Skladovací experiment – květen až září 2012

7.1.3.3 Třetí fáze degradace inulinu

Průběh třetí fáze skladování od září 2012 do ledna následujícího roku je znázorněn na Obrázku 13. Koncentrace inulinu se pohybovala v rozmezí 0,43 – 0,24 g ve 100 g výrobku.

Během třetí časové etapy došlo k pozvolnému úbytku velmi malé koncentrace inulinu, což je vyjádřeno číselnou hodnotou koeficientu k (0,049) z regresní rovnice (Obrázek 13). V poslední fázi ročního skladování se úbytek inulinu pohyboval v rozmezí 4 až 17 % mezi jednotlivými měsíci. Celkový pokles inulinu po roce skladování byl 88 %.



Obrázek 13: Skladovací experiment – září 2012 až leden 2013

7.1.4 Vliv lyofilizace na obsah inulinu ve vzorcích výživ

Vzorky ovocných kojeneckých výživ s přidavkem inulinu byly každý měsíc podrobeny lyofilizaci. Hlavním důvodem bylo zakonzervování analyzovaných vzorků pro případnou možnost opakování analýz. Zlyofilizované vzorky byly dále využity ke stanovení inulinu a byl pozorován vliv lyofilizace na jeho obsah ve vzorcích. Výsledky stanovení jsou uvedeny v Tabulce 9.

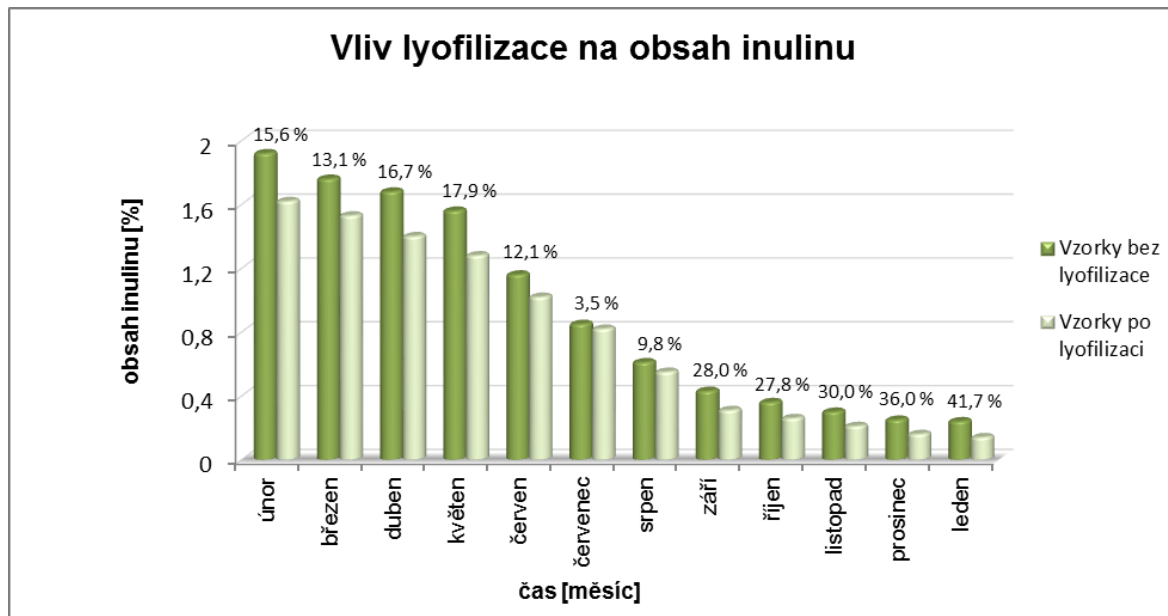
Tabulka 9: Vliv lyofilizace na obsah inulinu

Měsíc	Výživa s přidavkem inulinu	Zlyofilizovaná výživa s přidavkem inulinu
Únor 2012	1,92 ± 0,02 ^a	1,62 ± 0,01 ^b
Březen 2012	1,76 ± 0,02 ^a	1,53 ± 0,02 ^b
Duben 2012	1,68 ± 0,03 ^a	1,40 ± 0,01 ^b
Květen 2012	1,56 ± 0,03 ^a	1,28 ± 0,01 ^b
Červen 2012	1,16 ± 0,00 ^a	1,02 ± 0,01 ^b
Červenec 2012	0,85 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,01 ^a
Srpen 2012	0,61 ± 0,01 ^a	0,55 ± 0,01 ^b
Září 2012	0,43 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,01 ^b
Říjen 2012	0,36 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^b
Listopad 2012	0,30 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,01 ^b
Prosinec 2012	0,25 ± 0,01 ^a	0,16 ± 0,01 ^b
Leden 2013	0,24 ± 0,00 ^a	0,14 ± 0,00 ^b

Pozn.: Výsledky uvedeny jako průměr ± SD (n = 3). Hodnoty ve stejném řádku s různým horním indexem vykazují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Z výsledků uvedených v Tabulce 9 je zřejmý vliv lyofilizace na obsah inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ. Zjištěné rozdíly mezi obsahem inulinu ve vzorcích výživ a zlyofilizovaných výživ byly zhodnoceny jako statisticky významné na hladině významnosti 5 %. Lze konstatovat, že byl prokázán vliv lyofilizace na degradaci inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ s přidavkem inulinu.

Na Obrázku 14 je graficky znázorněn vliv lyofilizace na degradaci inulinu spolu s číselnými hodnotami, které vyjadřují procentuální úbytek obsahu inulinu mezi vzorky výživ a zlyofilizovaných výživ, a které se pohybují od 3,5 do 41,7 %.



Obrázek 14: Pokles inulinu ve vzorcích výživy s jeho přidavkem vlivem lyofilizace

Úbytek inulinu ve vzorcích výživ byl charakterizován různou intenzitou v průběhu celoročního skladování. Z Obrázku 14 je zřejmé, že i zlyofilizované vzorky opisují tuto intenzitu úbytku – na počátku skladování byl pozorován mírný, poté nejzřetelnější a v poslední fázi již nepatrný pokles koncentrace inulinu.

7.2 Vliv jablečné odrůdy na obsah inulinu

Chemické složení jablek kolísá s rozmanitostí odrůd a podle klimatických, půdních a také pěstitelských podmínek. S výjimkou vody (70 – 90 %), jsou hlavní složkou jablek sacharidy, které představují až 90 % sušiny. Zbývající část sušiny je tvořena především organickými kyselinami, z nichž je nejvíce zastoupena kyselina jablečná. [75]

Společnost Hamé, s. r. o. dbá při výrobě ovocných kojeneckých výživ především na kvalitu dodávané suroviny. Odrůda jablečné dřeně tedy není hlavním kritériem při výběru polotovarů. Chemické složení výsledného produktu jablečné dřeně lze totiž během výroby ovocných kojeneckých výživ do jisté míry upravit vhodně zvolenou recepturou.

V následující části diplomové práce byly vybrány 4 jablečné odrůdy, u jejichž dření byl pozorován vliv chemického složení na degradaci inulinu, který byl k jablečné dření přidán v množství 5 %. Dále byl zkoumán a statisticky vyhodnocen vliv zvolených faktorů na degradaci inulinu.

7.2.1 Základní chemické analýzy jablečných dření

V jablečných dřeních jednotlivých odrůd byly provedeny základní chemické analýzy – stanovení hodnoty pH, obsahu sušiny a refraktometrické sušiny. Výsledky stanovení jsou uvedeny v Tabulce 10.

Tabulka 10: Obsahy sušiny, refraktometrické sušiny a hodnoty pH u jednotlivých jablečných odrůd

Odrůda	pH	Sušina [%]	Refraktometrická sušina [%]
Jadernička moravská	3,75	13,69 ± 0,06	13,23 ± 0,05
James Grieve	3,60	14,92 ± 0,12	14,23 ± 0,09
Rubín	4,02	13,71 ± 0,16	13,28 ± 0,04
Ušlechtilé žluté	3,36	13,19 ± 0,10	12,36 ± 0,10

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 3).

Hodnota pH, která vyjadřuje aktivní kyselost, byla stanovena dle metodiky v kapitole 6.3 a pohybovala se v rozmezí od 3,36 do 4,02. Nejvyšší hodnota pH byla naměřena ve dřeni odrůdy Rubín, naopak nejnižší hodnota pH byla zjištěna u dřene z odrůdy Ušlechtilé žluté.

Obsah sušiny v jablečných odrůdách byl stanoven podle metodiky uvedené v kapitole 6.4 a její hodnoty se u analyzovaných vzorků pohybovaly v rozmezí 13,19 – 14,92 %.

Stanovení refraktometrické sušiny bylo provedeno dle metodiky v kapitole 6.5 a byly získány hodnoty v rozmezí 12,36 – 14,23 %.

Nejvyšší hodnoty sušiny i refraktometrické sušiny byly zjištěny u odrůdy James Grieve, zatímco nejnižší hodnoty těchto ukazatelů vykazovala odrůda Ušlechtilé žluté.

7.2.2 Vliv různých faktorů na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných dření

Z každé odrůdy byly vytvořeny 4 různé vzorky, jejichž charakteristiky jsou uvedeny v Tabulce 6 (kapitola 6.2.2), na kterých byl zkoumán vliv působení přídavku sacharózy, záhřevu nebo jejich synergického účinku na obsah inulinu. Stanovení množství inulinu ve vzorcích bylo provedeno enzymatickou metodou, jejíž popis je uveden v kapitole 6.7.

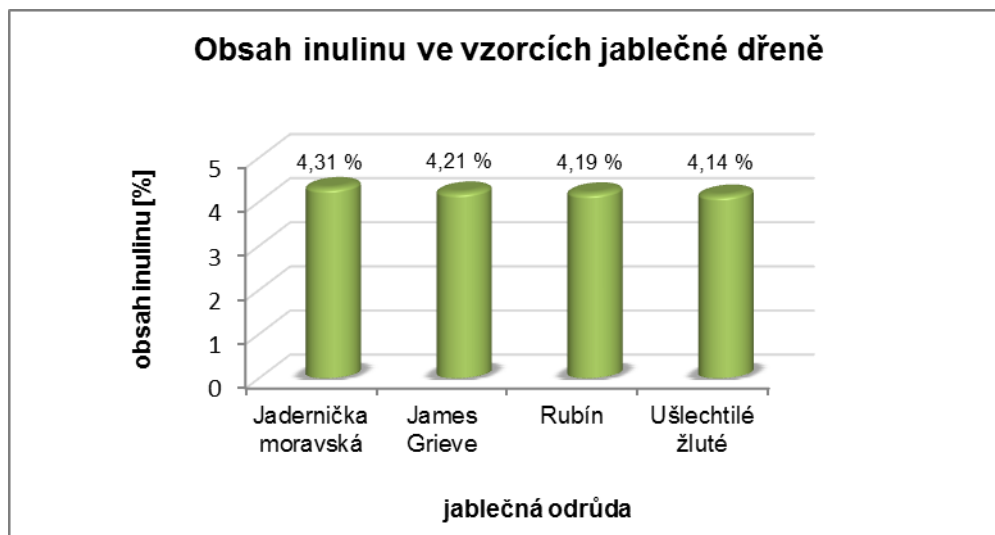
Naměřené hodnoty obsahu inulinu ve vzorcích jablečné dřene s přídavkem inulinu jsou uvedeny v Tabulce 11 a graficky znázorněny na Obrázku 15.

Tabulka 11: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s přídavkem inulinu

Odrůda	Dřeň s přídavkem inulinu
	Obsah inulinu [%]
Jadernička moravská	4,31 ± 0,01
James Grieve	4,21 ± 0,01
Rubín	4,19 ± 0,03
Ušlechtilé žluté	4,14 ± 0,01

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 3).

Obsahy inulinu v jablečných dřeních z různých odrůd se pohybovaly v rozmezí 4,14 – 4,31 %. Nejvyšší obsah inulinu byl stanoven u odrůdy Jadernička moravská a naopak nejnižší obsah u odrůdy Ušlechtilé žluté. (Obrázek 15)



Obrázek 15: Vliv jablečné odrůdy na výsledný obsah inulinu ve vzorcích

Přestože rozdíly v obsahu inulinu mezi jednotlivými odrůdami nejsou vysoké, při statistickém vyhodnocení vlivu jablečné odrůdy byly zjištěny statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 5 % mezi obsahem inulinu ve vzorcích Jadernička moravská a James Grieve, vzorky Jadernička moravská a Rubín, Jadernička moravská a Ušlechtilé žluté a také vzorky James Grieve a Ušlechtilé žluté. Pouze mezi vzorky James Grieve a Rubín a vzorky Rubín a Ušlechtilé žluté nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi obsahem inulinu na hladině významnosti 5 %

Přídavek komerčního preparátu inulinu ke každému vzorku dřeně činil 5 %. Vzhledem ke složení komerčního preparátu Orafiti GR (Tabulka 4 v kapitole 6.1.1), kde je uvedeno, že obsah inulinu je vyšší než 90 %, se skutečný přídavek inulinu ke dřením pohybuje v rozmezí 4,5 až 5 %. Rozdíl mezi touto hodnotou a naměřeným množstvím inulinu mohl být ovlivněn přidavkem horké destilované vody (80 °C) k analyzovanému vzorku a 15-ti minutovým záhřevem vzorku při teplotě 80 °C, který je ovšem součástí metody.

Jak již bylo uvedeno, stabilita inulinu je ovlivněna hodnotou pH prostředí, ve kterém se vyskytuje [71]. V neutrálním a zásaditém prostředí je inulin chemicky stabilní, naopak v kyselém prostředí se stabilita inulinu snižuje. Úbytek inulinu tedy mohl být v souladu

s tímto zdrojem způsoben také nízkým pH jablečné dřeně ($\text{pH} \leq 4$). K největšímu úbytku došlo u odrůdy Ušlechtilé žluté, jejíž hodnota pH je nejnižší z analyzovaných vzorků jablečných dření.

7.2.2.1 Vliv přídavku sacharózy

Pro zkoumání vlivu přídavku sacharózy byly vytvořeny vzorky jablečné dřeně s přídavkem inulinu a sacharózy. Výsledné hodnoty obsahu inulinu v těchto vzorcích jednotlivých odrůd a statistické vyhodnocení vlivu přídavku sacharózy jsou uvedeny v Tabulce 12.

Tabulka 12: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s přídavkem inulinu a sacharózy

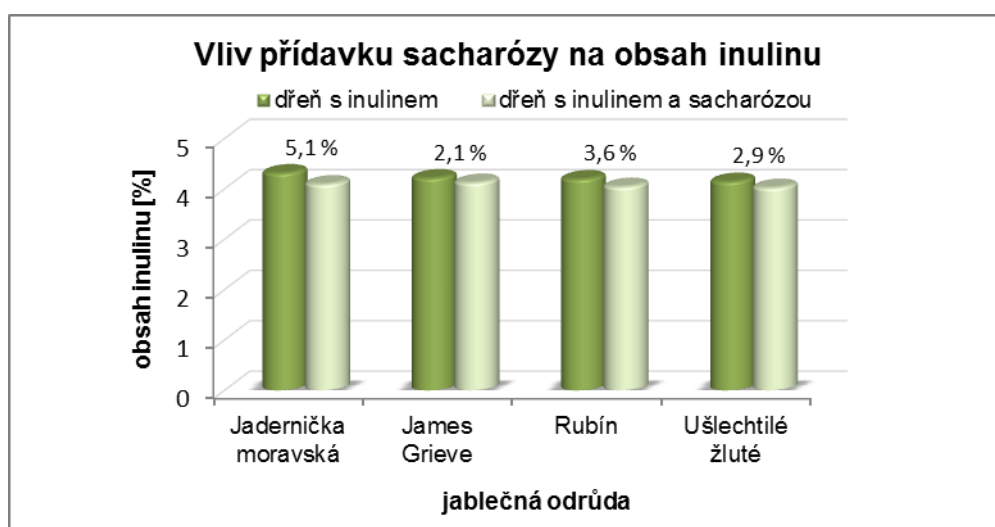
Odrůda	Dřeň s přídavkem inulinu	Dřeň s přídavkem inulinu a sacharózy
Obsah inulinu [%]		
Jadernička moravská	4,31 ± 0,01 ^a	4,09 ± 0,01 ^b
James Grieve	4,21 ± 0,01 ^a	4,12 ± 0,01 ^b
Rubín	4,19 ± 0,03 ^a	4,04 ± 0,00 ^b
Ušlechtilé žluté	4,14 ± 0,01 ^a	4,02 ± 0,02 ^b

Pozn.: Výsledky uvedeny jako průměr ± SD (n = 3). Hodnoty ve stejném řádku s různým horním indexem vykazují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Obsah inulinu v jablečných dřeních s inulinem a sacharózou byl 4,02 až 4,12 %. Ke všem jablečným dřením bylo přidáno takové množství sacharózy, aby konečná hodnota refraktometrické sušiny odpovídala hodnotě max. 19,9 %.

Při statistickém vyhodnocení vlivu přídavku sacharózy byly zjištěny statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 5 % mezi obsahem inulinu ve všech vzorcích jablečných dření s inulinem a vzorcích dření s inulinem a přidanou sacharózou. Byl tedy prokázán vliv přídavku sacharózy na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných dření s inulinem v souladu s výsledky dosaženými při studiu vlivu přídavku sacharidů na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných výživ s inulinem dle Fojtíkové [76].

Na Obrázku 16 je graficky znázorněn vliv přidavku sacharózy k jablečným dřením na výsledný obsah inulinu spolu s procentuálním vyjádřením jeho úbytku. Při stejné refraktometrické sušině vzorků byl nejvyšší úbytek inulinu v hodnotě 5,1 % pozorován u odrůdy Jadernička moravská, dále pak u odrůdy Rubín (3,6 %) a Ušlechtilé žluté (2,9 %). Nejmenší úbytek 2,1 % byl zaznamenán u jablečné odrůdy James Grieve.



Obrázek 16: Vliv přidavku sacharózy k jablečné dřeň s inulinem

7.2.2.2 Vliv tepelného záhřevu

Pro zhodnocení vlivu tepelného záhřevu na obsah inulinu byly vyrobeny vzorky jablečné dřeně s přidavkem inulinu, které byly podrobeny působení teplot 85 a 95 °C. Obsah inulinu v těchto vzorcích a statistické vyhodnocení vlivu záhřevu jsou uvedeny v Tabulce 13.

Tabulka 13: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s inulinem po záhřevu

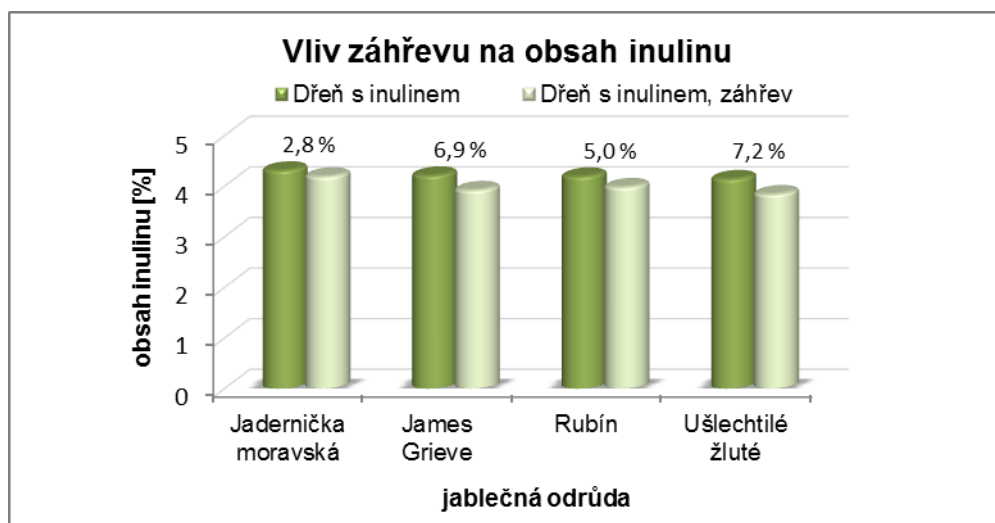
Odrůda	Dřeň s přidavkem inulinu	Dřeň s přidavkem inulinu, záhřev
Obsah inulinu [%]		
Jadernička moravská	4,31 ± 0,01 ^a	4,19 ± 0,01 ^b
James Grieve	4,21 ± 0,01 ^a	3,92 ± 0,02 ^b
Rubín	4,19 ± 0,03 ^a	3,98 ± 0,00 ^b
Ušlechtilé žluté	4,14 ± 0,01 ^a	3,84 ± 0,01 ^b

Pozn.: Výsledky uvedeny jako průměr ± SD (n = 3). Hodnoty ve stejném řádku s různým horním indexem vykazují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Obsah inulinu v jablečné dřeni s inulinem, která byla podrobena záhřevu, se pohyboval v rozmezí 3,84 – 4,19 %. Záhřev představoval účinek teploty 85 °C po dobu 5 minut, následovalo zvýšení teploty na 95 °C a její působení po dobu 5 minut.

Při statistickém vyhodnocení vlivu záhřevu byly zjištěny statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 5 % mezi obsahem inulinu ve vzorcích dřene s inulinem a vzorcích dřene s inulinem po působení záhřevu. Na základě statistické analýzy byl prokázán vliv záhřevu na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných dřene s inulinem v souladu s výsledky, které uvádí ve své práci Fojtíková [76], která zkoumala vliv záhřevu na degradaci inulinu ve vzorcích ovocných kojeneckých výživ, do kterých byl přidán preparát inulinu.

Vliv působení záhřevu na obsah inulinu v jablečné dřeni s inulinem je graficky znázorněn na Obrázku 17 (úbytek inulinu vyjádřen v %). Nejvyšší úbytek inulinu v hodnotě 7,2 % byl stanoven u odrůdy Ušlechtilé žluté, dále James Grieve (6,9 %) a Rubín (5,0 %). Nejmenší ztráta byla pozorována u jablečné odrůdy Jadernička moravská, kde rozdíl v úbytku inulinu vlivem záhřevu činil 2,8 %.



Obrázek 17: Vliv záhřevu jablečné dřene s inulinem

Na degradaci inulinu se mohla současně se záhřevem podílet i hodnota pH, která u odrůd Ušlechtilé žluté a James Grieve byla nejnižší, zatímco odrůdy Jadernička moravská a Rubín měly hodnotu pH vyšší.

7.2.2.3 Vliv přidavku sacharózy a tepelného záhřevu

Pro zkoumání synergického vlivu přidavku sacharózy a tepelného záhřevu byly vyrobeny vzorky jablečné dřevě s přidavkem inulinu a sacharózy, které byly podrobeny působení teplot 85 a 95 °C. Obsah inulinu v těchto vzorcích je uveden v Tabulce 14, která zároveň poskytuje výsledky statistické analýzy.

Tabulka 14: Obsahy inulinu v jablečných dřevích s inulinem a sacharózou po působení záhřevu

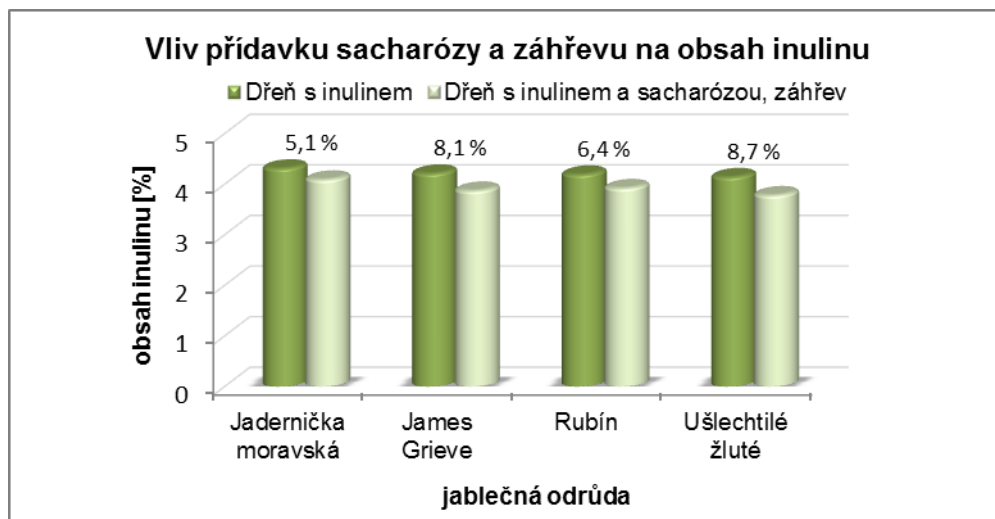
Odrůda	Dřeň s přidavkem inulinu	Dřeň s přidavkem inulinu a sacharózy, záhřev	Obsah inulinu [%]
Jadernička moravská	4,31 ± 0,01 ^a	4,09 ± 0,01 ^b	
James Grieve	4,21 ± 0,01 ^a	3,87 ± 0,01 ^b	
Rubín	4,19 ± 0,03 ^a	3,92 ± 0,01 ^b	
Ušlechtilé žluté	4,14 ± 0,01 ^a	3,78 ± 0,00 ^b	

Pozn.: Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD (n = 3). Hodnoty ve stejném řádku s různým horním indexem vykazují statisticky významné rozdíly (P < 0,05).

Obsah inulinu ve vzorcích jablečných dřeví s přidavkem inulinu a sacharózy, která byla podrobena záhřevu, činil 3,78 – 4,09 %.

Při statistickém vyhodnocení synergického vlivu přidavku sacharózy a teploty byly zjištěny statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 5 % mezi obsahem inulinu ve vzorcích dřevě s inulinem a vzorcích dřevě s inulinem a sacharózou po působení záhřevu. Byl tedy prokázán vliv synergického účinku přidavku sacharózy a záhřevu na degradaci inulinu ve vzorcích jablečných dřeví s inulinem.

Vliv synergického účinku přidavku sacharózy a záhřevu na obsah inulinu v jablečné dřevě s inulinem je graficky znázorněn na Obrázku 18. Nejvyšší úbytek inulinu v hodnotě 8,7 % byl zaznamenán u odrůdy Ušlechtilé žluté, dále James Grieve (8,1 %) a Rubín (6,4 %). Nejmenší pokles v hodnotě 5,1 % byl pozorován u odrůdy Jadernička moravská.



Obrázek 18: Vliv přidavku sacharózy a záhřevu jablečné dřeně s inulinem

Shrnutím výše uvedených výsledků bylo zjištěno, že nejvhodnější z analyzovaných odrůd pro výrobu ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu je Jadernička moravská. U této jablečné odrůdy dochází k nejnižšímu úbytku obsahu inulinu vlivem synergického účinku přidavku sacharózy a záhřevu. Naopak nejméně vhodnou odrůdou je ze stejného hlediska odrůda Ušlechtilé žluté.

V rámci této diplomové práce byly zhodnoceny pouze základní chemické parametry (sušina, refraktometrická sušina, pH). Pro potvrzení, případně vyvrácení vlivu jablečné odrůdy na obsah inulinu navrhuji provést komplexní chemický rozbor jablečné odrůdy, především celkový obsah sacharidů a kyselin a jejich konkrétní zastoupení ve vzorku.

ZÁVĚR

Inulin má řadu příznivých účinků na lidský organizmus. Je řazen mezi rozpustnou vlákninu, má prebiotický účinek, zlepšuje vstřebávání minerálních látek (Ca, Mg) a celkově se podílí na zlepšení imunitního systému. Vzhledem k tomu je v posledních letech obohacována inulinem řada potravinářských výrobků, včetně ovocných kojeneckých výživ.

V předkládané diplomové práci byla zkoumána problematika stability inulinu v ovocných kojeneckých výživách s přidavkem inulinu během ročního skladovacího pokusu. Stanovení koncentrace inulinu bylo provedeno AOAC Metodou 999.03.

Bylo zjištěno, že vlivem skladování ovocných kojeneckých výživ dochází k poklesu obsahu inulinu. Na počátku skladovacího experimentu byl stanoven obsah inulinu 1,92 %, který se v průběhu jednoho roku snížil až na hodnotu 0,24 %. Během 12 měsíců tedy kleslo množství inulinu ve vzorcích výživ o 88 %. Průběh degradace nebyl v rámci celého skladovacího pokusu přímo úměrný době skladování, ale byl charakterizován třemi obdobími s různou intenzitou úbytku. K nejzřetelnější degradaci inulinu došlo v polovině experimentu, přesněji mezi 3. a 7. měsícem skladování.

Taková rozsáhlá degradace inulinu v ovocných kojeneckých výživách je způsobena hlavně chemickým složením výrobku. Ovocné kojenecké výživy obsahují značné množství sacharidů a vzhledem k nízkému pH ($\text{pH} \leq 4$) jsou řazeny mezi kyselé potraviny. Jedná se tedy o prostředí, ve kterém je inulin značně nestabilní.

Hlavní surovinou pro výrobu ovocných kojeneckých výživ je jablečná dřeň. Vzhledem k tomu, že se v závislosti na odrůdě a klimatických vlastnostech jedná o biologický vzorek s proměnlivým chemickým složením (zejména z pohledu obsahu sacharidů a organických kyselin), je tato problematika z technologického hlediska řešena úpravou refraktometrické sušiny přidavkem sacharózy.

V praktické části diplomové práce byly vyrobeny jablečné dřeně z různých odrůd s přidavkem inulinu a byl na nich zkoumán vliv faktorů, kterým je ovocná dřeň vystavena během technologického procesu, na obsah inulinu. Jednalo se o vliv přidavku sacharózy, vliv záhřevu a jejich synergického působení. Bylo potvrzeno, že tyto faktory ovlivňují degradaci inulinu. Přidavkem sacharózy došlo k poklesu inulinu o 2,1 – 5,1 %, záhřevem

vzorků došlo k úbytku o 2,8 – 7,2 %. Vlivem synergického účinku přídavku sacharózy a záhřevu došlo k poklesu inulinu o 5,1 – 8,7 %.

Na základě těchto poznatků bylo hodnoceno, zda je některá z nabízených odrůd vhodnější surovinou pro výrobu ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu. Přestože nejnižší úbytek inulinu byl pozorován u odrůdy Jadernička moravská, není možné v rozsahu této diplomové práce zobecnit požadavky na chemické složení jablečných odrůd, které by byly vhodné pro aplikaci inulinu do ovocných kojeneckých výživ.

V diplomové práci byla prokázána časová závislost úbytku obsahu inulinu v ovocných kojeneckých výživách v průběhu ročního skladovacího pokusu. Také zde byl naznačen vliv přísných technologických opatření během výroby na výsledné množství inulinu ve výrobku a ověřen vliv přídavku sacharózy, záhřevu a vliv jejich synergického působení na degradaci inulinu. Na základě těchto poznatků je možné zhodnotit aplikaci inulinu jako zdroj vlákniny do ovocných kojeneckých výživ za nevhodnou.

Nejvýznamnějším faktorem, který způsobuje výraznou degradaci inulinu, se jeví kyselé prostředí výrobku. Proto na závěr diplomové práce navrhuji opustit od výroby ovocných kojeneckých výživ s přídavkem inulinu. Pokud by společnost chtěla ve svém sortimentu výrobků ponechat produkty s přídavkem prebiotické vlákniny, navrhuji jako možné řešení prozkoumat aplikaci inulinu do zeleninových a maso-zeleninových kojeneckých výživ. Přestože se ke konzervaci těchto výrobků využívají vyšší sterilační teploty, než je tomu u ovocné výživy, existují studie, které uvádí, že inulin je vůči tepelnému záhřevu v neutrálním a zásaditém prostředí stabilní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CAMPBELL-PLATT, Geoffrey. *Food science and technology*. Ames: Wiley-Blackwell, 2009, 508 s. ISBN 978-0-632-06421-2.
- [2] PÁNEK, Jan, Jana DOSTÁLOVÁ a Jan POKORNÝ. *Základy výživy a výživová politika*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002, 219 s. ISBN 80-7080-468-8.
- [3] ČERNÝ, Miloslav, Tomáš TRNKA a Miloš BUDĚŠÍNSKÝ. *Sacharidy*. 1. vyd. Praha: Česká společnost chemická, 2010, 178 s. ISBN 978-80-86238-81-4.
- [4] HOLEČEK, Milan. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Praha: Grada Publishing, a. s. ©2006. ISBN 978-80-247-1562-9. Dostupné také z: <http://books.google.cz/books?id=XUkhYLAC3HwC&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false>.
- [5] ČESKO. Vyhláška č. 330 ze dne 1. října 2009 o označování výživové hodnoty potravin. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2009, částka 150, s. 1998, částka 39. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1005990&nid=11816&chnum=1&hl=330/2009>.
- [6] TUNGLAND, B. C. a D. MEYER. Nondigestible Oligo- and Polysachcarides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2002, roč. 1, č. 3, s. 90 – 109 [cit. 2013-03-22]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x/pdf>.
- [7] NOVÁKOVÁ, Eva. Balastní látky a prebiotika v pekařské výrobě. *Potravinářská revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: AGRAL s. r. o., 2012, roč. 8, č. 2, s. 28 – 30. ISSN 1801-9102.
- [8] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Vyd. 2. uprav. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 8086659003.

- [9] NOVÁKOVÁ, Eva. Chléb a jeho vláknina. *Potravinářská revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: AGRAL s. r. o., 2010, roč. 7, č. 1, s. 30 – 31. ISSN 1801-9102.
- [10] CUSIMAMANI, Eloy Fernández et al. *Netradiční plodiny pro diabetiky*. Praha: Grada Publishing, a. s. ©2010. ISBN 978-80-247-2811-7. Dostupné také z: http://books.google.cz/books?id=MFACDTc4jtMC&pg=PA15&dq=inulin&hl=cs&sa=X&ei=zINEUdGXMYGaO43IgKgP&redir_esc=y#v=onepage&q=inulin&f=false.
- [11] DAVÍDEK, Jiří, Gustav JANÍČEK a Jan POKORNÝ. *Chemie potravin*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1983, 629 s.
- [12] NINESS, Kathy R. Inulin and Oligofructose: What Are They? *The Journal of Nutrition* [online]. 1999, roč. 129, č. 7, s. 1402 – 1406 [cit. 2013-03-22]. ISSN 1541-6100. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/129/7/1402S.full>.
- [13] BEIRÃO-DA-COSTA, Maria Luisa et al. Characterisation of Inulin from Chicory and Salsify Cultivated in Portugal. *Alimentos e Nutrição Araraquara* [online]. 2005, roč. 16, č. 3, s. 221 – 225 [cit. 2013-04-12]. ISSN 0103-4235. Dostupné z: <http://200.145.71.150/seer/index.php/alimentos/article/view/471/438>.
- [14] ŠIMONOVÁ, Ivana et al. HPLC Determination of Inulin in Plant Materials. *Acta Chimica Slovaca* [online]. 2010, roč. 3, č. 2, s. 122 – 129 [cit. 2013-04-02]. ISSN 1337-978X. Dostupné z: http://acs.chtf.stuba.sk/papers/acs_0074.pdf.
- [15] KISS, Hubert a Peter FORGO. Investigations on Inulin-type Oligosaccharides with Regard to HPLC Analysis and Prospective Food Applicability. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly* [online]. 2011, roč. 142, č. 6, s. 547 – 553 [cit. 2013-04-18]. ISSN 1434-4475. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00706-011-0485-7#page-1>.
- [16] ROBERFROID, Marcel B. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition* [online]. 2005, roč. 93, suppl. 1, s. 13 – 25 [cit. 2013-04-01]. ISSN 0007-1145. Dostupné z: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN93_S1%2FS0007114505000759a.pdf&code=d1c0a07cb34ea4c1bcc11dafcdd37ae9.

- [17] VERRAEST, Dorine L. et al. Modification of Inulin with Amidoxime groups and coordination with copper^(II) ions. *Carbohydrate Polymers* [online]. 1998, roč. 37, č. 3, s. 209 – 214 [cit. 2013-03-30]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861798000617>.
- [18] ROBERFROID, Marcel B. Functional foods: Concepts and Application to Inulin and Oligofructose. *British Journal of Nutrition* [online]. 2002, roč. 87, suppl. 2, s. 139 – 143 [cit. 2013-04-19]. ISSN 0007-1145. Dostupné z: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN87_S2%2FS0007114502000879a.pdf&code=8f8cd41b993d93a56798fcc5c0bfb3b2.
- [19] STEINBÜCHEL, Alexander a Martin HOFRICHTER. *Biopolymers*. Weinheim: Wiley-VCH, 2003, 5804 s. ISBN 978-3-527-30290-1. Dostupné také z: http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf_v06/bpol6014_439_448.pdf.
- [20] Chicory root [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: <http://dhconcerts.files.wordpress.com/2010/06/chicory-root.jpg>.
- [21] FOOD & DRINK BUSINESS EUROPE. Beneo Expands its Cooperation with Alsiano. *Fdbusiness.com* [online]. ©2013 [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: http://www.fdbusiness.com/wp-content/uploads/2013/01/zuckerr%C3%BCbe1_medium.jpg.
- [22] ZULETA, Angela a María E. SAMBUCETTI. Inulin Determination for Food Labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2001, roč. 49, č. 10, s. 4570 – 4572 [cit. 2013-03-30]. ISSN 1520-5118. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf010505o>.
- [23] PREEDY, Victor R. *Dietary sugars: chemistry, analysis, function and effects*. Cambridge: RSC Publishing, c2012, xxxii, 904 s. ISBN 978-1-84973-370-0.
- [24] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2010, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.

- [25] BLÁHA, Vladimír a Jakub VÍŠEK. Význam prebiotik v potravě. *Practicus* [online]. 2011, roč. 10, č. 8, s. 25 – 28 [cit. 2013-04-02]. ISSN 1213-8711. Dostupné z: <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2011-08/25-vyznam-prebiotik-v-potrave.pdf>.
- [26] RADA, Vojtěch. Probiotika, prebiotika a synbiotika. *Potravinářská revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: AGRAL s. r. o., 2008, roč. 5, č. 2, s. 15 – 16. ISSN 1801-9102.
- [27] GIBSON, Glenn R. et al. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Updating the Concept of Prebiotics. *Nutrition Research Reviews* [online]. 2004, roč. 17, č. 2, s. 259 – 275 [cit. 2013-04-20]. ISSN 0954-4224. Dostupné z: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FNRR%2FNRR17_02%2FS0954422404000204a.pdf&code=dbbe6b0b1238f5a0b5d589f01343f27c.
- [28] WANG, Yanbo. Prebiotics: Present and Future in Food Science and Technology. *Food Research International* [online]. 2009, roč. 42, č. 1, s. 8 – 12 [cit. 2013-04-02]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: http://ac.els-cdn.com/S0963996908001828/1-s2.0-S0963996908001828-main.pdf?_tid=2ae9b6dc-ae52-11e2-be57-00000aab0f6c&acdnat=1366968050_eff164737ffd373b5e97803f12e3b6a7.
- [29] VEEREMAN-WAUTERS, Gigi. Pediatric Applications of Inulin and Oligofructose. *The Journal of Nutrition* [online]. 2007, roč. 137, č. 11, s. 2585 – 2589 [cit. 2013-04-16]. ISSN 0022-3166. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/137/11/2585S.full.pdf+html>.
- [30] HOŁOWNIA, Piotr et al. The Benefits & Potential Health Hazards Posed by the Prebiotic Inulin. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [online]. 2010, roč. 60, č. 3, s. 201 – 211 [cit. 2013-04-14]. ISSN 1230-0322. Dostupné z: https://www.email.cz/download/i/JUrytJtK_iOgmYE6IJtB2nzb7vZz6O8qJRuUfVZXLtejZxMf1DZBdhFkGy6dcKc6GHwzRoQ/holownia_negativum%20inullinu.pdf.

- [31] McCLEARY, Barry a Ann MURPHY. Measurement of Total Fructan in Foods by Enzymatic/Spectrophotometric Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International* [online]. 2000, roč. 83, č. 2, s. 356 – 364 [cit. 2013-04-10]. ISSN 1060-3271. Dostupné z: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOAC%201999-2003/J.AOAC2000/v83n2%28mar-apr%29/v83n2p356.pdf>.
- [32] SAENGGANUK, Araya et al. A Simplified Spectrophotometric Method for the Determination of Inulin in Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *European Food Research and Technology* [online]. 2011, roč. 233, č. 4, s. 609 – 616 [cit. 2013-04-01]. ISSN 1438-2385. Dostupné z: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00217-011-1552-3>.
- [33] ANDERSEN, Rikke a Annemarie SØRENSEN. An Enzymatic Method for the Determination of Fructans in Foods and Food Products. *European Food Research and Technology* [online]. 1999, roč. 210, č. 2, s. 148 – 152 [cit. 2013-04-08]. ISSN 1438-2385. Dostupné z: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs002170050552>.
- [34] POMERANZ, Y a Clifton E MELOAN. *Food analysis: theory and practice*. 3rd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000, 778 s. ISBN 0-8342-1826-7.
- [35] EUROFINS. Inulin and FOS Analysis: Which Method to Use in Food and Feed Products? *Eurofins.nl* [online]. ©2005-2013 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: http://www.dietaryfibretesting.com/media/4304392/Which_Carbohydrate_Testing_method_to_use.pdf.
- [36] HOEBREGS, Hubert. Fructans in Foods and Food Products, Ion-Exchange Chromatographic Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International* [online]. 1997, roč. 80, č. 5, s. 1029 – 1037 [cit. 2013-04-20]. ISSN 1060-3271. Dostupné z: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=2820427>.
- [37] BOHAČENKO, I. et al. Stanovení inulinu a fruktooligosacharidů v mlékárenských výrobcích s použitím kitů Megazyme K-FRUC a HK-FRUC. *Mlékařské listy* [online]. 2010, č. 123, s. I – IV [cit. 2013-03-22]. ISSN 1212-950X. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2010/123_s_i-iv.pdf.

- [38] MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND. Fructan Assay Kit. *Megazyme.com* [online]. ©2013 [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: <http://www.megazyme.com/http://www.megazyme.com/>.
- [39] MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND. Fructan Assay Procedure for the Measurement of Fructo-oligosaccharides (FOS) and Fructan Polysaccharide. *Megazyme.com* [online]. ©2013 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: http://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-FRUC_1211_DATA.pdf.
- [40] MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND. World Leaders in the Development and Supply of Enzymes and Reagents for Fructan Research and Analysis. *Megazyme.com* [online]. ©2013 [cit. 2013-04-09]. Dostupné z: http://megazyme.com/docs/default-source/artwork/fructan_final.pdf?sfvrsn=2.
- [41] MEGAZYME INTERNATIONAL IRELAND. Fructan HK Assay Procedure for the Measurement of Fructo-oligosaccharides (FOS) and Fructan Polysaccharide. *Megazyme.com* [online]. ©2013 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: http://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-FRUCHK_1211_DATA.pdf.
- [42] HOFER, Klaus a Dieter JENEWEIN. Enzymatic Determination of Inulin in Food and Dietary Supplements. *European Food Research and Technology* [online]. 1999, roč. 209, č. 6, s. 423 – 427 [cit. 2013-03-30]. ISSN 1438-2385. Dostupné z: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs002170050520>.
- [43] NEVORAL, Jiří. Kojenecká výživa. *Potravinářská revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: AGRAL s. r. o., 2010, roč. 7, č. 6, s. 22 – 25. ISSN 1801-9102.
- [44] KAVINA, Josef. *Zbožiznalství potravinářského zboží pro 3. ročník středních odborných učilišť a integrovaných středních škol učebního oboru prodavač - prodavačka, zaměření pro potravinářské zboží a pro smíšené zboží*. 1. vyd. Praha: IQ 147, 1997, 335 s.
- [45] DRDÁK, Milan. *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1989, 301 s. ISBN 8005001215.
- [46] HÁLKOVÁ, Jana, Jana RIEGLOVÁ a Marie RUMÍŠKOVÁ. *Kvantitativní chemická analýza*. 1. vyd. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2000, 56. ISBN 8090277527.

- [47] ČESKO. Vyhláška č. 54 ze dne 13. února 2004 o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 17. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006190&nid=11816&hl=54/2004>.
- [48] ČÍŽKOVÁ, Helena et al. Změny sensorických a nutričních vlastností ovocných dětských výživ, stanovení doby trvanlivosti. *Výživa a potraviny* [online]. 2010, roč. 65, č. 6, s. 159 – 162 [cit. 2013-03-23]. ISSN 1211-846X. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/cinnost/DaKV/03.pdf.
- [49] ČÍŽKOVÁ, Helena et al. Nutritional Quality of Commercial Fruit Baby Food. *Czech Journal of Food Sciences*. [online]. 2009, roč. 27, č. Special Issue, s. 134 – 137 [cit. 2013-03-19]. ISSN 1212-1800. Dostupné z: <http://agriculturejournals.cz/publicFiles/07624.pdf>.
- [50] HAMÉ. O Hamé. *Hame.cz* [online]. ©2013 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.hame.cz/cs/company/detail/id/28/o-hame>.
- [51] HAMÁNEK. O nás. *Hamanek.cz* [online]. ©2013 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.hamanek.cz/o-nas.html>.
- [52] HAMÁNEK . Produkty, Ovocné přesnídávky, Baby Smoothies – s prebiotiky. *Hamanek.cz* [online]. ©2013 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.hamanek.cz/produkty/ovocne-presnidavky/babysmoothies-s-prebiotiky.html>.
- [53] HAMÁNEK . Archiv akcí. *Hamanek.cz* [online]. ©2013 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: http://www.hamanek.cz/aktuality/archiv-akci.html/1_51-slevove-kupony-na-vyrobky-znacky-hamanek.
- [54] HÁLKOVÁ, Jana, Jana RIEGLOVÁ a Marie RUMÍŠKOVÁ. *Analýza potravin: laboratorní cvičení*. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2000, 109 s. ISBN 8090277543.
- [55] ČESKO. Vyhláška č. 157 ze dne 12. května 2003, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2003, 1998, částka 59. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006197&doctype=ART>.

- [56] *Výroba kojenecké výživy* [film]. E-learningová výuka studijního programu Chemie a technologie potravin. Dostupné z: <http://chepo.ft.utb.cz/Module.aspx?id=13>.
- [57] E-LEARNINGOVÁ VÝUKA STUDIJNÍHO PROGRAMU CHEMIE A TECHNOLOGIE POTRAVIN. Ovoce a zelenina – 30 Varna. *Chepo.ft.utb.cz* [online]. [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://chepo.ft.utb.cz/Module.aspx?id=13>.
- [58] DRDÁK, Milan. *Základy potravinářských technologií: spracovanie rastlinných a živočišných surovín. Cereálne a fermentačné technológie. Uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996, 495 s. ISBN 8096706411.
- [59] E-LEARNINGOVÁ VÝUKA STUDIJNÍHO PROGRAMU CHEMIE A TECHNOLOGIE POTRAVIN. Ekologické postupy ve výrobě potravin – 116 Jadernička moravská, 120 Ušlechtilé žluté. *Chepo.ft.utb.cz* [online]. [cit. 2013-04-03]. Dostupné z: <http://chepo.ft.utb.cz/Module.aspx?id=15>.
- [60] KLIMKOVÁ, Eva. *Význam krajových odrůd ovoce*. Zlín, 2009. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Ústav technologie a mikrobiologie potravin. Vedoucí diplomové práce Otakar Rop.
- [61] JABLKA A JAHODY – PĚSTOVÁNÍ A PRODEJ. Popis odrůd jablek. *Jablka-jahody.jex.cz* [online]. [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://jablka-jahody.jex.cz>.
- [62] HAMÉ, s. r. o. *Výrobová specifikace*. Podivín, 2010.
- [63] UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ, VZDĚLÁVACÍ PORTÁL. Analýza potravin přírodní látky. *Utb.cepac.cz* [online]. ©2007 [cit. 2013-03-25]. Dostupné z: http://utb-files.cepac.cz/modules/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distancni_text_II/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distancni_text_ii.pdf.
- [64] HORÁKOVÁ, Marta, Alexander GRÜNWARD a Peter LISCHKE. *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1986, 389 s.
- [65] ČSN ISO 1842. *Ovocné a zeleninové výrobky – Stanovení pH*. Praha: Český normalizační institut, 2000. 8 s. Třídící znak 560440.

- [66] ČSN 56 0246-10. *Metody zkoušení konzervářských polotovarů a výrobků z ovoce a zeleniny. Stanovení sušiny*. Praha: Český normalizační institut, 1982. 12 s. Třídící znak 560246.
- [67] UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ, VZDĚLÁVACÍ PORTÁL. Laboratoř v oboru. *Utb.cepac.cz* [online]. ©2007 [cit. 2013-03-24]. Dostupné z: http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0026_laborator_v_oboru/distancni_text/M0026_laborator_v_oboru_distancni_text.pdf.
- [68] ČSN 56 0246-11. *Metody zkoušení konzervářských polotovarů a výrobků z ovoce a zeleniny. Stanovení popela a jeho zásaditosti*. Praha: Český normalizační institut, 1982. 8 s. Třídící znak 560246.
- [69] STATISTILKA A VÝPOČETNÍ TECHNIKA. Lineární korelační závislost. *Cit.vfu.cz* [online]. [cit. 2013-03-24]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/statpotr/POTR/Teorie/Predn5/linearni.htm>.
- [70] KORAKLI, Maher et al. Enzymatic Determination of Inulin and Fructooligosaccharides in Food. *European Food Research and Technology* [online]. 2003, roč. 217, č. 6, s. 530 – 534 [cit. 2013-03-20]. ISSN 1438-2385. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00217-003-0803-3#page-1>.
- [71] GLIBOWSKI, Paweł a Anna BUKOWSKA. The Effect of pH, Temperature and Heating Time on Inulin Chemical Stability. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* [online]. 2011, roč. 10, č. 2, s. 189 – 196 [cit. 2013-04-20]. ISSN 1889-9594. Dostupné z: http://www.food.actapol.net/pub/5_2_2011.pdf.
- [72] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o údajích týkajících se potravin z hlediska jejich nutriční hodnoty a vlivu na zdraví. In: *Úřední věstník Evropské unie*. L 12, 18.1.2007, s. 3 – 18. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:012:0003:0018:CS:PDF>.

- [73] HAMÁNEK . Produkty, Ovocné přesnídávky, Baby Smoothies s jablky a prebiotiky. *Hamanek.cz* [online]. ©2013 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: http://www.hamanek.cz/produkty/ovocne-presnidavky/babysmoothies-s-prebiotiky/produkt_78.html.
- [74] CZECHFOODCHEM. Sborník souhrnu sdělení z XLII Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin. *Czechfoodchem.cz* [online]. [cit. 2013-03-21]. Dostupné z: <http://www.czechfoodchem.cz/2012/SKD%202012%20Sborn%C3%ADk%20souhrn%C5%AF.pdf>.
- [75] SUNI, Mikael et al. Carbohydrate Composition and Content of Organic Acids in Fresh and Stored Apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2000, roč. 80, č. 10, s. 1538 – 1544 [cit. 2013-03-29]. ISSN 1097-0010. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010%28200008%2980:10%3C1538::AID-JSFA678%3E3.0.CO;2-A/pdf>.
- [76] FOJTÍKOVÁ, Hana. *Aplikace inulinu do dětských ovocných výživ*. Zlín, 2012. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie a mikrobiologie potravin. Vedoucí diplomové práce Ladislava Mišurcová.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ADP	Adenzindifosfát
AOAC	Association of Analytical Communities (Asociace analytických společností)
ATP	Adenzintrifosfát
DP	Degree of Polymerization (stupeň polymerace)
EC	Enzyme Commission Number (klasifikační číslo enzymů)
(ES)	Evropské společenství
F	Fruktan
FOS	Fruktooligosacharidy
G6P-DH	Glukóza-6-fosfodehydrogenáza
GF	Glukofruktan
GLC	Gas Liquid Chromatography (plynová rozdělovací chromatografie)
GOS	Glukooligosacharidy
GR (inulin)	Granulated Inulin (granulovaný inulin)
HK	Hexokináza
HP (inulin)	High performance Inulin (inulin s vyšším DP)
HPAEC	High-Performance Anion Exchange Chromatography (vysokoúčinná aniontově-výměnná chromatografie)
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
NADP⁺	Nikotinamidadeninukleotidfosfát
NADPH+H⁺	Redukovaná forma nikotinamidadeninukleotidfosfátu
P	Hladina významnosti
PAD	Pulsed Amperometric Detection (pulzně-amperometrická detekce)

PAHBAH Hydrazid kyseliny p-hydroxybenzoové

PGI Fosfoglukoizomeráza

Sb. Sbírka

SD Standard Deviation (směrodatná odchylka)

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Vzorec inulinu (typ $G_{py}F_n$) [17]</i>	18
<i>Obrázek 2: Čekanka obecná [20]</i>	18
<i>Obrázek 3: Práškový preparát inulinu [21]</i>	20
<i>Obrázek 4: Kit Megazyme K-FRUC [38]</i>	26
<i>Obrázek 5: Schéma AOAC Metody 999.03 [31]</i>	27
<i>Obrázek 6: Schéma modifikované AOAC Metody 999.03</i>	28
<i>Obrázek 7: Logo společnosti a obchodní značky Hamánek [50 – 51]</i>	31
<i>Obrázek 8: Řada ovocných kojeneckých výživ BabySmoothies [53]</i>	32
<i>Obrázek 9: Varné zařízení, v popředí dávkovací nerezový zvon [57]</i>	34
<i>Obrázek 10: Obsah inulinu ve vzorcích v průběhu skladování</i>	52
<i>Obrázek 11: Skladovací experiment – únor až květen 2012</i>	53
<i>Obrázek 12: Skladovací experiment – květen až září 2012</i>	54
<i>Obrázek 13: Skladovací experiment – září 2012 až leden 2013</i>	54
<i>Obrázek 14: Pokles inulinu ve vzorcích výživy s jeho přídatkem vlivem lyofilizace</i>	56
<i>Obrázek 15: Vliv jablečné odrůdy na výsledný obsah inulinu ve vzorcích</i>	59
<i>Obrázek 16: Vliv přídatku sacharózy k jablečné dřeni s inulinem</i>	61
<i>Obrázek 17: Vliv záhřevu jablečné dřene s inulinem</i>	62
<i>Obrázek 18: Vliv přídatku sacharózy a záhřevu jablečné dřene s inulinem</i>	64

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Výčet nejčastěji zastoupených sacharidů v potravě</i>	13
<i>Tabulka 2: Obsah inulinu v rostlinách [10, 12, 17, 19].....</i>	19
<i>Tabulka 3: Charakterizace ovocné kojenecké výživy s přidavkem inulinu.....</i>	37
<i>Tabulka 4: Charakterizace komerčního preparátu inulinu</i>	38
<i>Tabulka 5: Stručná charakterizace vzorků jablečných odrůd</i>	38
<i>Tabulka 6: Úprava vzorků jablečných dření pro stanovení obsahu inulinu</i>	41
<i>Tabulka 7: Obsah sušiny, refraktometrické sušiny, popela a hodnoty pH u vzorků v průběhu ročního skladování.....</i>	47
<i>Tabulka 8: Obsah inulinu ve vzorcích kojenecké výživy v průběhu ročního skladování</i>	49
<i>Tabulka 9: Vliv lyofilizace na obsah inulinu</i>	55
<i>Tabulka 10: Obsahy sušiny, refraktometrické sušiny a hodnoty pH u jednotlivých jablečných odrůd.....</i>	57
<i>Tabulka 11: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s přidavkem inulinu.....</i>	58
<i>Tabulka 12: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s přidavkem inulinu a sacharózy</i>	60
<i>Tabulka 13: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s inulinem po záhřevu</i>	61
<i>Tabulka 14: Obsahy inulinu v jablečných dřeních s inulinem a sacharózou po působení záhřevu.....</i>	63

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: Výrobní specifikace

PŘÍLOHA P II: AOAC Metoda 999.03, příprava činidel

PŘÍLOHA P I: VÝROBKOVÁ SPECIFIKACE



HAMÉ s.r.o.
FRUTA PODIVÍN,a.s.
Rybáře 156/157
691 45 Podivín

VÝROBKOVÁ SPECIFIKACE

KOJENECKÁ VÝŽIVA JABLEČNÁ S PREBIOTIKY (inulin)

skupinový název	zpracované ovoce, ovocné protlaky-jednodruhové, slazené, s přídavkem vlákniny kojenecká výživa od dokončeného 4. měsíce
konzistence	volná, kašovitá konzistence, hladká, bez cizích příměsí
barva	světlá, dle použité suroviny
chuť / vůně	po použitém druhu ovoce, sladká, harmonicky nakyslá
Použití	výrobek je určen k přímé spotřebě, pro kojence a děti od ukončeného 4.měsíce
Složení	jablečná dřev (60%), cukr, kukuřičný modifikovaný škrob, prebiotická vláknina, regulátor kyselosti: kyselina citrónová, antioxidant: kyselina askorbová, vitamín C Zdroj vlákniny. fyzikálně chemické požadavky refraktometrická sušina max.19,9% kyselost (titrační) 0,25-0,70% obsah ovoce 60g/100g mikrobiologické požadavky CPM 10 ² /g kvasinky,plísně negativní koliformní bakterie negativní
požadavky na jakost	chemické požadavky -výrobek odpovídá platné legislativě rezidua pesticidů - max. 0,01mg/kg patulin - max. 0,01mg/kg aflatoxin B1 - max.0,0001mg/kg Cd - max.0,05mg/kg Pb - max.0,02mg/kg dusičnany - max.200mg/kg
nutriční hodnoty	100g výrobku obsahuje: energie 316 KJ (75 kcal) bílkoviny 0,1g tuky 0,2g z toho nasycené mastné kyseliny 0,0g sacharidy 19,4g z toho cukry 11,0g vláknina 3,1g sodík 0,0g vitamín C min.10mg



HAMÉ s.r.o.
FRUTA PODIVÍN, a.s.
Rybáře 156/157
691 45 Podivín

VÝROBKOVÁ SPECIFIKACE

balení a značení	výrobek se plní do skleněných obalů, hmotnost plnění je 250 g na etiketě jsou označeny všechny povinné údaje
skladování	v suchu při teplotě 0-30°C, po otevření uchovat v chladničce do 10°C a do 48hod spotřebovat
trvanlivost	minimální trvanlivost je 18 měsíců od data výroby
značení šarže	L DDMMYY/DDMMYY na víčku nebo etiketě, kde první je datum výroby a druhé je datum trvanlivosti,

alergen	přítomnost	
	ANO	NE
obiloviny obsahující lepek a výrobky z nich	X	
korýši a výrobky z nich		X
vejce a výrobky z nich		X
ryby a výrobky z nich		X
arašídý a výrobky z nich		X
sója a výrobky z nich		X
mléko a výrobky z něj (včetně laktosy)		X
suché skořápkové plody a výrobky z nich		X
celer a výrobky z něj		X
hořčice a výrobky z ní		X
sezamová semena a výrobky z nich		X
oxid siřičitý a siřičitany vyjádřeno jako SO ₂		X
vlčí bob a výrobky z něj		X
měkkýši a výrobky z nich		X

Výrobek neobsahuje GMO a ani suroviny z GMO vyrobené.

platnost od:	5.2.2010
vypracovala:	Ing. Dagmar Donéová, manažer jakosti

Megazyme

FRUCTAN ASSAY PROCEDURE

for the measurement of

**FRUCTO-OLIGOSACCHARIDES
(FOS)**

and

FRUCTAN POLYSACCHARIDE

K-FRUC 11/12

(with recombinant inulinases)

(100 Assays per Kit)

**AOAC Method 999.03
AACC Method 32.32
Codex Type III Method**



KIT CONTENTS:

Kits suitable for performing 100 determinations of fructan are available from Megazyme. The kits contain the full assay method plus:

- Bottle 1.** **Sucrase** plus β -amylase, pullulanase and maltase as a freeze-dried powder.
Stable for > 5 years at -20°C .
- Bottle 2.** **Fructanase.** Recombinant exo-inulinase and recombinant endo-inulinanase as a freeze-dried powder.
Stable for > 5 years at -20°C .
- Bottle 3.** **Fructan Control Flour.** Fructan freeze-dried in the presence of α -cellulose.
Stable for > 5 years stored dry at room temperature.
- Bottle 4.** **Sucrose Control Flour.** Sucrose freeze-dried in the presence of α -cellulose.
Stable for > 5 years stored dry at room temperature.
- Bottle 5.** **D-Fructose Standard Solution** (1.5 mg/mL) in 0.2% (w/v) benzoic acid.
Stable for > 5 years at room temperature.

PREPARATION OF ENZYMES:

1. Dissolve the contents of bottle 1 in 22 mL of Buffer 1 [sodium maleate (100 mM, pH 6.5)] (Enzyme Solution A). Divide into aliquots of appropriate volume and store at -20°C .
Stable in polypropylene containers for > 5 years at -20°C .
2. Dissolve the contents of the vial 2 in 22 mL of Buffer 2 [sodium acetate (0.1 M, pH 4.5)]. (Enzyme Solution B). Divide into aliquots of appropriate volume and store at -20°C .
Stable in polypropylene containers for > 5 years at -20°C .
- 3, 4 & 5. Use the contents of bottles 3, 4 and 5 as supplied.
Stable for > 5 years at room temperature.

BUFFERS (not supplied):

- Buffer 1: Sodium maleate buffer** (100 mM, pH 6.5)
Dissolve maleic acid (11.6 g, Sigma cat. no. M-0375) in 900 mL of distilled water and adjust the pH to 6.5 with sodium hydroxide solution (2 M). Adjust volume to 1 litre.
Stable for > 3 months at 4°C .
- Buffer 2: Sodium acetate buffer** (100 mM, pH 4.5)
Add glacial acetic acid (5.8 mL) to 900 mL of distilled water. Adjust to pH 4.5 using 1 M sodium hydroxide. Adjust the volume to 1 litre.
Stable for > 3 months at 4°C .

REAGENTS (not supplied):

1. PAHBAH Reducing Sugar Assay Reagent

Solution A. Add 10 g of *p*-hydroxybenzoic acid hydrazide (Sigma cat. no. H-9882) (PAHBAH) to 60 mL of distilled water in a 250 mL beaker on a magnetic stirrer. Stir the slurry and add 10 mL of concentrated hydrochloric acid. Adjust the volume of the solution to 200 mL with distilled water and store at room temperature. Stable for ~ 2 years.

Solution B. Add 24.9 g of trisodium citrate dihydrate to 500 mL of distilled water and stir to dissolve. Add 2.2 g of calcium chloride dihydrate and dissolve. Add 40.0 g of sodium hydroxide and dissolve with stirring (the solution may be milky, but will clarify when diluted to 2 litres). Adjust the volume to 2 litres and store the solution at room temperature. Stable for ~ 2 years.

PAHBAH Working Reagent. Immediately before use, add 20 mL of Solution A to 180 mL of Solution B and mix thoroughly. The mixed solution stored on ice is stable for ~ 4 hours.

2. Sodium hydroxide (50 mM)

Dissolve 2.0 g of sodium hydroxide in 900 mL of distilled water. Adjust the volume to 1 litre. Store at room temperature.

3. Alkaline borohydride (10 mg/mL sodium borohydride in 50 mM sodium hydroxide)

Accurately weigh approx. 50 mg of sodium borohydride (Sigma cat. no. S-9125) into polypropylene containers (10 mL volume with screw cap). Record the exact weight on the tubes (approx. 10 for convenience), seal the tubes and store them in a desiccator for future use.

Immediately before use, dissolve the sodium borohydride (at 10 mg/mL) in 50 mM sodium hydroxide. This solution is stable for 4-5 hours at room temperature.

4. Acetic acid (200 mM)

Add 11.6 mL of glacial acetic acid to 600 mL of distilled water and adjust the volume to 1 litre. Store at room temperature.

EQUIPMENT (RECOMMENDED):

1. Glass test tubes (round bottomed; 16 x 100 mm and 18 x 150 mm).
2. Pyrex beakers (100 and 200 mL capacity).
3. Volumetric flasks (50 and 100 mL capacity).
4. Micro-pipettors, e.g. Gilson Pipetman® (100 µL and 200 µL).

5. Positive displacement pipettor, e.g. Eppendorf Multipipette®
 - with 5.0 mL Combitip® (to dispense 0.2 mL aliquots of sucrose mixture and 0.1 mL aliquots of fructanase, and other solutions and buffers).
 - with 50 mL Combitip® (to dispense 5.0 mL aliquots of PAHBAH Working Reagent).
6. Analytical balance.
7. Spectrophotometer set at 410 nm.
8. Vortex mixer (e.g. IKA® Yellowline Test Tube Shaker TTS2).
9. Thermostated water bath (set at 40°C).
10. Boiling water bath.
11. Hot-plate magnetic stirrer.
12. Bench centrifuge (capable of 1,000 g) or filter funnels with Whatman No. 1 (9 cm) filter papers.
13. Stop watch.

CONTROLS AND PRECAUTIONS:

1. The time of incubation at 100°C with PAHBAH reagent is critical and should be timed with a stop watch.
2. With each set of determinations, reagent blanks and D-fructose controls should be included and analysed concurrently.
 - a) The reagent blank consists of 0.3 mL of 100 mM sodium acetate buffer (Buffer 2) + 5.0 mL of PAHBAH Working Reagent.
 - b) To prepare the D-fructose standard, 0.2 mL of D-fructose standard solution (1.5 mg/mL) is added to 0.9 mL of Buffer 2 [100 mM sodium acetate (pH 4.5)] and mixed thoroughly. Aliquots (0.2 mL) of this solution (containing 54.5 µg of D-fructose) are dispensed, in quadruplicate, into glass test tubes (16 x 100 mm). Buffer 2 (0.1 mL) is added to each tube plus 5.0 mL PAHBAH Working Reagent (immediately before incubation in the boiling water bath).
3. With each set of determinations a **fructan/cellulose control powder** is included. The fructan content of this powder is given on the vial label.
4. The **sucrose/cellulose control** powder should be analysed with each new lot of reagents. If the sucrose treatment step is completely effective, the determined fructan value should be approx. 0.2% (w/w). If the sucrose is not effective, the determined value will reflect the sucrose content of the control sucrose/cellulose powder [about 10% (w/w); see vial label].

5. D-Fructose **controls** (quadruplicate) and **reagent blank** solutions (duplicate) are run with each batch of samples and are incubated in the boiling water bath at the same time as the samples.
6. The effectiveness of borohydride reduction can be checked using D-fructose standard solution (0.2 mL, 1.5 mg/mL) and proceeding from **Step B.1.** (page 8) of the assay procedure. Treatment with fructanase enzyme (**Step C.2.**) is replaced with addition of acetate buffer (0.1 mL, 0.1 M, pH 4.5). The solution should be colourless following incubation with PAHBAH Working Reagent.
7. The PAHBAH Working Reagent should be used fresh or stored on ice for no more than 4 hours.
8. If the sample being analysed contains **galactosyl-sucrose oligosaccharides**, these can be removed by incubation with *A. niger* α -galactosidase (Megazyme cat. no. E-AGLAN). Add 50 μ L of α -galactosidase (200 U/mL) in 50 mM sodium acetate buffer (pH 4.5) to 0.2 mL of solution to be analysed and incubate for 30 min at 40°C before addition of the Sucrase/Amylase working mixture (Enzymes Solution I). This enzyme gives complete hydrolysis of D-galactose from galactosyl-sucrose oligosaccharides.