

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA
1130958**

**Technologická a výživná kvalita niektorých cereálií
a pseudocereálií**

2011

Martina Rišková

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**Technologická a výživná kvalita niektorých cereálií
a pseudocereálií**

Bakalárska práca

Študijný program:	Aplikovaná biológia
Študijný odbor:	1536700 Biológia
Školiace pracovisko:	Katedra biochémie a biotechnológie
Školiteľ:	prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc.

2011

Martina Rišková

ČESTNÉ VYHLÁSENIE

Podpísaná Martina Rišková vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „**Technologická a výživná kvalita niektorých cereálií a pseudocereálií**“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 26.mája 2011

.....

POĎAKOVANIE

Touto cestou si dovoľujem poďakovať vedúcej záverečnej práce prof. RNDr. Zdenke Gálovej, CSc. a Ing. Andrejovi Trebichalskému za ich odbornú pomoc, cenné rady a pripomienky, ktoré mi počas spracovania záverečnej práce poskytovali.

ABSTRAKT

Celiakia je ochorenie, ktoré je spôsobené intoleranciou lepku. Lepok (glutén) je zmes prolaminových a glutelínových bielkovín, ktoré sa nachádzajú predovšetkým v zrne pšenice, jačmeňa a raže. Účinnou terapiou celiakie je celoživotné dodržiavanie bezlepkovej diéty, ktorá je založená na obilninách neobsahujúcich lepok, najmä na ryži, kukurici, pohánke a prose. Cieľom bakalárskej práce bolo analyzovať vybrané odrody cereálií (pšenica, raž, jačmeň, ovos) a pseudocereálií (pohánka, amarant) z hľadiska nutričnej a technologickej kvality. V celozrnom šrote vzoriek sme stanovili obsah celkového dusíka, aktivitu alfa-amylázy, kyslých, zásaditých a neutrálnych proteáz a frakčnú skladbu bielkovín. Obsah hrubého proteínu a koeficient nutričnej kvality sme vypočítali na základe vzorcov. Získané výsledky sme vyhodnotili matematicko - štatistickými metódami podľa programu Microsoft Office Excel. Kvalita obilnín sa hodnotí na základe obsahu bielkovín. Z hľadiska obsahu hrubých bielkovín a jednotlivých bielkovinových frakcií boli zistené výrazné diferencie v analyzovaných odrodách cereálií a pseudocereálií. V analyzovaných odrodách cereálií obsah bielkovín varíroval v rozmedzí od 8 do 11,99 %, kým v pseudocereáliách od 10,78 % do 10,94 %. Zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií determinuje nutričnú a technologickú kvalitu zrna. Obsah albumínov a globulínov v pseudocereáliách bol v priemere 56,01 %, kým v cereáliách 29,11 %. Na druhej strane, pseudocereálie sa vyznačovali nízkym zastúpením lepkových bielkovín, najmä prolaminov (amarant 2,8 %, pohánka 4,37 %), čo ich predurčuje ako vhodný potravinový zdroj pre prípravu bezlepkových výrobkov. Cereálie sa vyznačovali vysokým obsahom zásobných bielkovín (v priemere 60,82 %), na základe čoho ich hodnotíme ako dobré potravinárske suroviny. Aktivita hydrolytických enzýmov (alfa-amylázy, kyslých, neutrálnych a zásaditých proteáz) bola nízka, čo súvisí s dobrou pekárskou a osivárskou hodnotou analyzovanej kolekcie cereálií a pseudocereálií.

Kľúčové slová: cereálie, pseudocereálie, nutričná kvalita,

ABSTRACT

Celiac disease is caused by intolerance to gluten. Gluten is a mixture of prolamin and glutelin proteins which are found primarily in grains of wheat, barley and rye. Effective therapy of celiac disease is lifelong adherence of gluten-free diet, which is based on gluten-free cereals, especially rice, maize, buckwheat and millet. Goal of this work was to analyze selected samples of cereals (wheat, rye, barley, oat) and pseudocereals (buckwheat, amaranth) in terms of nutritional and technological quality. In whole-wheat meal we determined the content of total nitrogen, activity of alpha-amylase, acidic, alkaline and neutral proteases, and fractional composition of proteins. Crude protein content and nutritional quality factor were calculated by the formulas. The results were evaluated by mathematical - statistical methods according to Microsoft Office Excel. Cereal quality is assessed on the basis of protein content. In terms of crude protein content and protein fractions there were found significant differences in the analyzed cereal and pseudocereal material. In analyzed types of cereals was the protein content ranging from 8 to 11.99% , by the pseudocereals from 10.78% to 10.94%. Content of individual protein fractions determines the nutritional and technological quality of corn. Content of albumin and globulin in pseudocereals was on average 56.01%, by cereals 29,11 %. On the other side, pseudocereals were characterized by low representation of gluten proteins, particularly prolamins (2.8% amaranth, buckwheat 4.37%), which makes them suitable as food source for the preparation of gluten-free products. Cereals were characterized by the high content of storage proteins (on average 60,82 %), therefore we can identify them as good food raw materials. Activity of hydrolytic enzymes (alpha-amylase, acidic, neutral and alkaline protease) was low. Which is associated with good baking and seed value analyzed collection of cereal and pseudocereals.

Key words: cereals, pseudocereals, nutritional quality

OBSAH

OBSAH	6
ÚVOD	7
1 PREHĽAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	8
1.1 Charakteristika a biologická funkcia bielkovín.....	8
1.2 Technologická kvalita zrna cereálií a pseudocereálií.....	10
1.3 Genetické markery technologickej kvality zrna.....	12
1.4 Nutričná kvalita zrna cereálií a pseudocereálií.....	15
1.5 Aktivita enzýmov v zrne obilovín.....	15
1.5 Charakteristika celiakálne aktívnych bielkovín.....	17
1.6 Potravinová intolerancia.....	19
1.7 Celiakia.....	20
1.8 Charakteristika analyzovaných pseudocereálií.....	23
2 CIEĽ PRÁCE	28
3 MATERIÁL A METODIKA	29
3.1 Biologický materiál.....	29
3.2 Biochemické rozborý.....	29
3.2.1 Stanovenie celkového dusíka podľa Kjehdahla.....	29
3.2.2 Výpočet hrubých bielkovín.....	30
3.2.3 Spektrofotometrické stanovenie bielkovín podľa Bradforda.....	30
3.2.4 Stanovenie frakčnej skladby bielkovín podľa Golenkova.....	31
3.2.5 Stanovenie aktivity alfa-amylázy Spofa testom.....	33
3.2.6 Stanovenie aktivity proteáz S-testom proteáza univerzál.....	33
3.2.7 Matematicko-štatistické spracovanie výsledkov.....	35
4 VÝSLEDKY A DISKUSIA	36
5 ZÁVER	43
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	44

ÚVOD

Obilniny tvoria dôležitú časť výživovej bilancie človeka, z dôvodu vysokého obsahu sacharidov, bielkovín, tukov, minerálov a vitamínov.

Medzi najčastejšie využívané obilniny pre správne spracovanie zaraďujeme pšenicu letnú (*Triticum aestivum* L.). Technologickú kvalitu pšenice určuje obsah bielkovín v zrne, ale predovšetkým zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií. K dobrej pekárskej hodnote pšenice prispievajú prolamínové a glutelínové frakcie bielkovín, ktoré pri pšenici nazývame gliadíny a gluteníny a tvoria gluténové resp. lepkotvorné bielkoviny. Na druhej strane tieto bielkoviny pšenice môžu vyvolávať u senzitívnych jedincov alergiu – celiakálnu sprue. Vznik tohoto ochorenia ovplyvňuje viacero faktorov, ku ktorým zaraďujeme genetické predispozície, imunologcké a ďalšie exogénne vplyvy. Predpokladá sa, že ochorenie spôsobujú hordeíny jačmeňa, gliadíny pšenice, aveníny ovsu a sekalíny raže, ktoré vyvolávajú zápalovú reakciu tenkého čreva, čo neskôr vedie k poškodeniu sliznice tenkého čreva. Pri celiakii sa nie vždy musia prejaviť príznaky tohoto ochorenia. Medzi príznaky celiakie patria hnačky, chudnutie a spomalenie rastu postihnutého jedinca.

Keďže na celiakiu neexistuje účinný liek, človek ktorý je postihnutý touto chorobou, musí dodržiavať celý život bezlepkovú diétu. V dnešnej dobe ide o jedinú účinnú liečbu celiakie, pri ktorej sa zistilo zlepšenie zdravotného stavu pacienta.

Bezlepková diéta je založená na využívaní rastlín neobsahujúcich lepok, ku ktorým zaraďujeme aj pseudocereálie. Medzi najvýznamnejšie pseudocereálie patria pohánka, cirok a amarant. Pre pseudocereálie je charakteristické, že majú nízky obsah prolamínových bielkovín avšak na druhej strane obsahujú vysoké percento plnohodnotných bielkovín, minerálnych látok, tukov a škrobu. V dnešnej dobe sa technológovia zaoberajú spracovaním pseudocereálií tak, aby finálne produkty dosahovali požadovanú nutričnú kvalitu.

1 PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

1.1 Charakteristika a biologická funkcia bielkovín

Hlavným štruktúrnym materiálom buniek sú bielkoviny, ktoré sú nezastupiteľné v plnení mnohých špecifických funkcií v organizmoch (Hudec et al., 2002). Priemerne obsahujú 55 % uhlíka, 21 % kyslíka, 17 % dusíka, 7 % vodíka, malé množstvo síry a fosforu (Škárka, Ferenčík, 1992).

Na rozdiel od rastlín a mikroorganizmov, živočíchy nie sú schopné syntetizovať si bielkoviny zo základných substrátov čo znamená, že sú závislé na prijímaní bielkovín z iných zdrojov. Základnými zložkami bielkovín sú aminokyseliny, ktoré vznikajú štiepením prijatých bielkovín počas trávenia živočíchov a z ktorých si resyntetizujú vlastné špecifické bielkoviny (Michalík et al., 2005).

Podľa Repku a Michalíka (2006) sú bielkoviny vysokopolymérne organické zlúčeniny, skladajúce sa zo zvyškov 20 rôznych aminokyselín a dvoch amidov pospájaných navzájom peptidovou väzbou. Ich relatívna molekulová hmotnosť je vyššia ako 10 000.

Poznáme bielkoviny jednoduché, ktoré sa skladajú len z aminokyselín alebo bielkoviny zložené, ktoré môžu obsahovať aj ďalšie zložky nebielkovinovej povahy, medzi ktoré patria napríklad sacharidy, lipidy, kyselina fosforečná, rôzne kovy atď. (Hudec et al., 2002).

Štruktúra bielkovín je zložitá. Podľa Ferenčíka et al. (2000) primárna štruktúra bielkovín je charakterická poradím jednotlivých aminokyselín v polypeptidových reťazcoch, pospájaných peptidovou väzbou. Zisťovanie poradia aminokyselín v polypeptidových reťazcoch je veľmi zložitá (Hudec et al., 2002). V peptidových reťazcoch sa však vyskytujú aj iné typy väzieb ako peptidové, sú to najmä disulfidové väzby, amidové a esterové väzby. Primárna štruktúra bielkovín je geneticky determinovaná (Michalík et al., 2006).

Sekundárnu štruktúru bielkovín charakterizuje geometrické usporiadanie peptidového reťazca. Tvorba vodíkových väzieb medzi amino a karboxylovými skupinami peptidových väzieb je dôležitá pre vytvorenie sekundárnej štruktúry bielkovín. Poznáme dva základné typy sekundárnej štruktúry a to α -helix a β štruktúra

skladaného listu. Jednotlivé úseky bielkovín majú rozdielnu sekundárnu štruktúru na základe aminokyselín, ktoré sa v reťazci vyskytujú a po krátkych úsekoch dochádza k striedaniu α -helixu a β štruktúry v jednom reťazci bielkoviny (Grones, 1998). Tieto štruktúry sú mnohokrát usporiadané do domén, čo sú kompaktné jednotky spojené polypeptidovou kostrou.

Terciárna štruktúra bielkovín je charakteristická priestorovým usporiadaním jednotlivých polypeptidových reťazcov. Vzájomné vzťahy domén a spôsoby, ktorými sa pri skladaní bielkovín môžu dostať do tesného susedstva aminokyseliny značne od seba vzdialené v zmysle primárnej štruktúry a ďalej väzby, ktoré stabilizujú tieto konformácie (Murray et al., 1998). Podľa Michalíka et al. (2006) sa na tvorbe terciárnej štruktúry podieľajú vodíkové a iónové väzby, van der Waalsove sily medzi alifatickými a aromatickými bočnými reťazcami aminokyselín ako aj hydrofóbne interakcie medzi bočnými reťazcami aminokyselín a vodou.

Kvartérna štruktúra bielkovín znamená priestorové usporiadanie jednotlivých podjednotiek do nadmolekulovej štruktúry. Kvartérnu štruktúru majú také molekuly bielkovín, ktoré sa skladajú z podjednotiek.

Bielkoviny môžeme klasifikovať z hľadiska ich fyzikálnych, chemických a biologických vlastností nasledovne (Ferenčík et al., 2000):

- a) podľa štruktúry (fibrilárne a globulárne),
- b) podľa rozpustnosti – v rôznych rozpúšťadlách,
- c) podľa prítomnosti neproteínovej zložky (jednoduché a zložené),
- d) podľa biologickej funkcie (katalytické, štruktúrne, transportné, pohybové, obranné, zásobné, regulačné),
- e) podľa stavu degradácie (natívne a denaturované).

Na základe rozpustnosti bielkovín v rôznych rozpúšťadlách sa delia na albumíny, globulíny, prolamíny, gluteníny, históny a protamíny (Michalík, 2005).

Albumíny sú dobre rozpustné vo vode. Patrí sem napríklad leukozín pšenice, legumelín hrachu a typickým zástupcom je vaječný albumín.

Globulíny sú rozpustné v zriedených roztokoch NaCl, KCl. Patrí medzi ne napríklad fazeolín z fazule, legumín z hrachu, glycín zo sóje a tuberín zo zemiakov,

Prolamíny sú rastlinné bielkoviny, ktoré majú vysoký obsah prolínu a glutamínu. Sú rozpustné v 70 % etanole a zaraďujeme k nim gliadín pšenice, hordeín jačmeňa, zeín kukurice a avenín ovsu a iné.

Glutelíny sú rastlinné zásobné bielkoviny, rozpustné v zásaditých roztokoch. Nachádzajú sa v zrne obilnín, kde spolu s prolamínom tvoria lepok. Patrí sem glutenín pšenice a oryzeín ryže.

Históny sa vyskytujú hlavne v jadre buniek a obsahujú najmä zásadité aminokyseliny, prevažne arginín a histidín. Protamíny sú zásadité bielkoviny, dobre rozpustné vo vode, zriedených roztokoch solí a minerálnych kyselinách.

Podľa funkčného významu bielkovinových zložiek (Gálová et al., 2006) sa bielkoviny delia na:

- Protoplazmatické bielkoviny, ku ktorým sa zaraďujú:
 1. katalytické bielkoviny - patria sem albumíny a globulíny. Tieto bielkoviny sú enzymaticky aktívne, vyznačujú sa amylázovou a proteázovou aktivitou.
 2. konštitučné bielkoviny – s nukleovými kyselinami a lipidmi tvoria štruktúry jadra a cytoplazmy.
- Zásobné bielkoviny – prolamíny a glutelíny, ktoré rozhodujú o technologickej kvalite zrna.

1.2 Technologická kvalita zrna cereálií a pseudocereálií

Obilniny sú významným energetickým a bielkovinovým zdrojom vo výžive ľudí a zvierat. Výživná hodnota rastlinných bielkovín je nízka a je spôsobená ich nízkou stráviteľnosťou (Repka, Michalík, 1988).

Pre spracovanie obilnín, a to nielen chlebových je dôležitá ich technologická hodnota, čo predstavuje súbor znakov a vlastností suroviny, ktoré umožňujú spracovateľovi dosiahnuť maximálnu výťažnosť a požadovanú akosť finálneho produktu (Frančáková et al., 2005).

Ako uvádza Muchová (1998), technologická kvalita zrna sa prejavuje až počas spracovania, ale poznatky získané pri zhodnocovaní rozborov správne vybraných znakov kvality pomáha predpokladať, ako sa zrno bude správať v mlynoch a aj ako sa múka prejaví v konkrétnych technológiách.

Technologická kvalita pšenice je podmienená najmä geneticky, avšak konečná technologická kvalita sa prejaví až v konkrétnych agroklimatických podmienkach pestovania (Hubík, Tichý, 1998).

Biologickú hodnotu bielkovín (BHB) definujeme ako zhodu aminokyselinového zloženia určitých bielkovín s aminokyselinovým zložením bielkovín podieľajúcich sa na stavbe organizmu človeka. Keďže ľudský organizmus má blokované gény kódujúce enzýmy nevyhnutné pre tvorbu esenciálnych aminokyselín, nie je schopný si ich sám syntetizovať, a preto musia byť dodané v potrave. Deficiencia esenciálnej aminokyseliny v potrave vymedzuje využitie zvyšných aminokyselín, pričom biologická hodnota a využiteľnosť je daná limitujúcou aminokyselinou, ktorá je spravidla prítomná v najmenšom množstve (Starovičová, 2003).

Najvyššiu nutričnú hodnotu z hľadiska aminokyselinového zloženia majú podľa Gálovej (1997) albumíny a globulíny, ktoré sa vyznačujú vysokým obsahom esenciálnych aminokyselín, a tak sú limitujúcim činiteľom nutričnej kvality bielkovinového komplexu zrna. Na druhej strane technologickú kvalitu zrna ovplyvňuje zastúpenie zásobných bielkovín (prolamínov a glutelínov) v celkových bielkovinách.

Hlavnú zložku zrna (80-85 %) tvoria zásobné bielkoviny, ktoré sú syntetizované len v zrne, kde sú zásobárňou živín pre klíčiacu rastlinu, v zelených častiach rastliny sa nevytvárajú. Bielkoviny sa ukladajú v bielkovinových telieskach o veľkosti 0,5 až 20 µm, ktoré sú lokalizované vo vnútri plastíd prípadne vakuol (Prugar a Hraška, 1986).

Podľa Michalíka (1994) slúžia zásobné bielkoviny ako zdroj dusíka pre rastúci organizmus. Nedostatočná stráviteľnosť prolamínov a glutenínov je spôsobená ich nízkou rozpustnosťou a hydrolyzovateľnosťou v zažívacom trakte živočíchov.

Gliadíny a gluteníny pšenice sú hlavnými zložkami lepku a ich pomer ovplyvňuje jeho fyzikálne a chemické zloženie. Glutén (lepok) tvoria dve skupiny podjednotiek a to vysokomolekulárne a nízkomolekulárne gluténové podjednotky. Zastúpenie vysokomolekulárnych glutenínových podjednotiek je podstatným faktorom, ktorý ovplyvňuje technologickú kvalitu múky (Gálová et al., 2003).

Michalík et al. (2006) uvádza, že obsah prolamínových bielkovín u pseudocerálií je nízky, čo ich predurčuje k využívaniu pri bezlepkovej diéte.

Aminokyselinové zloženie gliadínov poukazuje na vysoký podiel kyseliny glutamínovej a prolínu a na druhej strane na nízky obsah esenciálnych aminokyselín, predovšetkým lyzínu (Kráčmar et al., 2004).

Na technologickú akosť zrna pšenice vplyva viacero faktorov ako napríklad klimatické a pôdne podmienky, odrodová skladba, hnojenie, predplodina, stav porastov a iné (Hubík a Tichý, 1998).

1.3 Genetické markery technologickej kvality zrna pšenice a jačmeňa

Podľa Kraica (2002) sú molekulárne markery a metódy ich analýzy novými nástrojmi a cestami, ktorými sa aplikujú základné poznatky a zákonitosti viacerých vedných odborov, zvlášť klasickej a molekulovej genetiky a v praxi. Reálne využívanie molekulárnych markerov a ich začlenenie do šľachtiteľských programov sa využíva najmä pri pšenici.

Molekulárny marker je sekvencia DNA, ktorá je ľahko detegovateľná, je odlišná v rôznych organizmoch, a ktorej dedenie je možné ľahko monitorovať (Gálová et al., 2006).

Ideálny molekulárny marker by mal spĺňať isté dôležité vlastnosti (Kraic, 2002). Mal by vykazovať vysoký stupeň polymorfizmu a byť distribuovaný po celom genóme. Takisto by mal spĺňať jednoznačnosť a presnosť analýz, vysokú reprodukovateľnosť analýzy v rámci ako aj medzi testovacími pracoviskami, kodominantnú dedičnosť znaku, rýchlu a manuálne nenáročnú analýzu a takisto nízku cenu a jednoduchú a širokú dostupnosť metódy.

Genetický marker je polymorfický znak, ktorý vykazuje mendelistickú dedičnosť a môže byť asociovaný s variabilitou úžitkových vlastností (Trakovická, 1999). Z molekulárnych markerov sa za najdokonalejšie považujú DNA markery. Pomocou molekulárnych markerov viazaných na konkrétne lokusy je možné cielene a kontrolovane prenášať gény z donora do recipienta.

Pojem „genetický marker“ sa používa pre označovanie evidentného genotypového znaku, ktorý je spojený s variabilitou iného znaku. Pravdepodobnosť spoločného dedenia je daná vzájomnou vzdialenosťou sledovaného génu a markera na chromozóme (Bežo, 1998).

Podľa Černého a Šaška (1998) sú pre genetické mapovanie výhodné evolučne mladšie biekoviny, ako sú najmä zásobné bielkoviny semien a niektoré izoenzymové systémy.

Zásobné bielkoviny zrna obilnín sú reprezentované predovšetkým gluténom, ktorý je lokalizovaný v endosperme zrna. Gluténové bielkoviny (gliadíny a gluteníny) tvoria okolo 80 % z celkového obsahu bielkovín zrna pšenice. Vysoká heterogenita, druhová a genotypová špecifickosť, rozdielne fyzikálno-chemické vlastnosti, ako aj skutočnosť, že ich biosyntéza sa realizuje v endosperme v poslednej fáze tvorby zrna ich predurčuje plniť úlohu markerov hospodársky významných znakov a vlastností (Gálová, 2002).

Gliadíny a gluteníny sú typy markerov, ktorými sa priamo analyzuje, deteguje a charakterizuje samotná biekovina, ktorá viac či menej prispieva k jednotlivým parametrom múky, cesta a celkovej kvalite pšenice.

Gliadínové bielkoviny spĺňajú základné požiadavky, ktoré sa vyžadujú od markerov hospodársky dôležitých vlastností. Gliadínové spektrá sa vyznačujú výrazným polymorfizmom, podmieneným genetickou variabilitou v biosyntéze gliadínu. Polymorfizmus gliadínov umožňuje markerovať množstvo hospodársky významných znakov a vlastností pšenice (Prugar, Hraška, 1986).

Michalík et al. (2006) uvádza, že medzi elektroforetickými zložkami gliadínov a glutenínov existujú tak spoločné znaky pre všetky genómy, ako aj špecifické znaky pre každý genóm. Z toho vyplýva, že je možné podľa elektroforetických spektier bielkovín zrna identifikovať veľmi rýchlo jednotlivé odrody pšenice, odlíšiť potravinárske odrody od tzv. kýmnych, prípadne určiť prítomnosť markerovacích génov hospodársky významných vlastností a znakov.

Prugar a Hraška (1986) uvádzajú, že niektoré gliadínové zložky sa dedia spoločne ako blok. Gliadínový blok predstavuje skupinu blízko seba viazaných gliadínových zložiek, ktoré vystupujú ako mendelistické štiepiacie jednotky, dedia sa spoločne a nerekombinujú sa v procese crossing-overu. Jednotlivé gliadínové lokusy tvoria alelické série s rozličnými gliadínovými blokmi. Alelické gliadínové bloky sa môžu líšiť počtom gliadínových zložiek, čo podmieňuje genotypové rozdiely v zložení gliadínov jednotlivých línií kultivarov pšenice.

Gliadínové bloky – markery sú najviac využívané v oblasti šľachtenia nových odrôd pšenice. Pomocou týchto blokov je možné hodnotiť a vyberať rodičovské formy do hybridizačných programov, odhadovať početnosť genotypov nesúcich gény

požadovaných vlastností v štiepiacich populáciách F2 a F3 a vyberať žiadúce genotypy rastlín v generácii F2, alebo žiadané genotypy línií v generácii F3 a v mladších generáciách (Gálová, 2001).

Gliadíny sa vyznačujú veľkým polymorfizmom a to nielen druhovým ale aj kultivarovým. Gény podmieňujúce gliadínové bloky sú lokalizované na 1A, 1B, 1D, 6A, 6B, 6D genómoch (Prugar, Hraška, 1986).

Z hľadiska vzťahu k mlynsko-pekárenskej kvalite múky sú významné vysokomolekulárne glutenínové podjednotky (HMW – GS). Tieto podjednotky sa syntetizujú iba v endosperme vyvíjajúceho sa pšeničného zrna a ich syntéza je riadená génmi uloženými na troch lokusoch označených Glu-A1, Glu-B1 a Glu-D1. Najlepšie preštudované sú podjednotky kódované lokusom Glu-D1. Dvojica podjednotiek 2+12 negatívne ovplyvňuje pekársku kvalitu a naopak prítomnosť podjednotiek 5+10 pripieva pozitívne k tejto kvalite (Gálová, 2006).

Kladný, resp. záporný vzťah HMW-GS k technologickej kvalite sa dá vyjadriť bodovou hodnotou, pomocou Glu-skóre (Glu-hodnotenia) (Chňápek et al., 2004). Maximálna hodnota Glu skóre je 10. Vyššia hodnota Glu skóre sa odzrkadľuje na lepších technologických vlastnostiach múky danej pšenice (Gálová, 2002).

Gliadínové bloky je možné využívať ako markery kvality múky (výber genotypov s vyššou technologickou kvalitou múky) odolnosti voči hrdzi trávovej, homozygotnosti a heterozygotnosti hybridných generácií, ako markery pri selekcii mrazuvzdorných typov. Najvyššiu odolnosť voči mrazu majú tie typy, ktoré majú gliadínové bloky Gld1 A1, Gld1 A2, Gld6 A3, Gld6 D2 a Gld1 B2 (Prugar, Hraška, 1986).

V posledných rokoch sú glutenínové a gliadínové markerovacie systémy, ktoré boli používané v slovenskom šľachtení pšenice, čoraz viac nahrádzané DNA markermi pre jednotlivé alely kódujúce HMW-GS (Kraic, 2002). DNA markery majú v porovnaní s bielkovinovými markermi niekoľko výhod (Gregáňová et al., 2004). Analýzy bielkovín sú závislé len na expresii kódujúcich sekvencií genómu, kým DNA analýzy pomáhajú odhaľovať polymorfizmus v kódujúcich ako aj v nekódujúcich sekvenciách genómu.

1.4 Nutričná kvalita zrna cereálií a pseudocereálií

Ako uvádzajú Prugar a Hraška (1986) obilniny zastávajú veľmi dôležitú úlohu vo výžive ľudstva, pre ich vysoký podiel sacharidov a rastlinných bielkovín. Využívajú sa aj ako zdroj minerálnych látok (Ca, P a Fe) a vitamínov skupiny B.

Podľa Bajčiho et al. (1994) výživná hodnota bielkovín je do značnej miery ovplyvnená zložením a využiteľnosťou aminokyselín (hlavne esenciálnych).

Nutričnú kvalitu bielkovín podmieňuje hlavne podiel albumínov a globulínov, ktoré označujeme aj ako rozpustné bielkoviny (Michalík, 1992).

Albumíny a globulíny patria do skupiny konštitučných bielkovín a majú katalytické účinky. Na základe vysokého zastúpenia esenciálnych aminokyselín ovplyvňujú nutričnú kvalitu zrna (Gálová et al., 2003).

Pre cereálie je typické nižšie zastúpenie albumínov a globulínov než pre pseudocereálie, z čoho vyplýva že nutričná hodnota pseudocereálií je vyššia ako pri cereáliách.

Avšak veľmi dôležitý je aj obsah gliadínov a glutelínov, ktorá majú vplyv na aminokyselinové zloženie celého zrna (tvoria 80-90 % celého zrna). Obsah esenciálnych aminokyselín je pri týchto frakciách nízky (Prugar, Hraška, 1986).

Prolamínové bielkoviny zaraďujeme do skupiny bielkovín, ktoré nie sú biologicky plnohodnotné hlavne z dôvodu nízkeho a nevyrovnaného zastúpenia esenciálnych aminokyselín (lyzín, treonín a tryptofán). Aby sme mohli považovať bielkovinu za plnohodnotnú je potrebný pomer rastlinných a živočíšnych bielkovín 1:1.

Ako uvádza Gálová et al. (2003) zhromažďovanie zásobných bielkovín v zrne je závislé od podmienok pestovania rastlín, pričom tieto klimatické podmienky prevyšujú genetický potenciál v rozsahu 10-20 %.

Počas dozrievania zrna pšenice dochádza k biosyntéze bielkovinového komplexu, ktorá je charakteristická kvalitatívnymi a kvantitatívnymi zmenami. Pri tomto procese sa dotvára výsledná frakčná skladba bielkovín a táto zodpovedá za nutričnú a technologickú kvalitu zrna (Gálová et al., 2003).

1.5 Aktivita enzýmov v zrne obilovín

V každom organizme prebieha neustála premena látok prebiehajúca pomocou chemických reakcií, ktoré sú prejavom vzájomného pôsobenia organizmu a prostredia.

Enzýmy spravidla vytvárajú multienzýmové systémy, čo umožňuje vytvárať integrované cykly enzýmových reakcií nazývaných tiež metabolickými dráhami. Enzým katalyzuje len jednu z termodynamicky možných reakcií, to znamená, že iba pre jednu reakciu sa aktivačná energia natoľko zníži, že nastane rovnovážny stav (Michalík, 1998).

Hydrolytické enzýmy majú veľký význam z hľadiska kvality zrna, nakoľko determinujú výživnú, technologickú a osivársku hodnotu zrna. V tomto smere k najvýznamnejším patria amylolytické a proteolytické enzýmy, ktoré štiepia makromolekuly bielkovín a polysacharidov na aminokyseliny a monosacharidy potrebné pre syntézu ďalších dôležitých látok nevyhnutných pre rastliny (Gálová et al., 2003).

Enzýmy, ako vysokomolekulárne látky bielkovinovej povahy tvoria jednu z najvýznamnejších skupín, tzv. biokatalyzátorov, s väčšou alebo menšou špecifčnosťou účinku potrebnou v pekárskej technológii, pričom najvýznamnejšie sa uplatňujú amylolytické enzýmy štiepiace škrob až na maltózu a proteolytické enzýmy štiepiace bielkoviny na peptidy a aminokyseliny (Muchová, 1991).

Medzi hydrolázy štiepiace škrob patria α -amyláza, β -amyláza, R-enzým (amylol-1,6-glykozidáza), chitináza, celulóza, fruktofuranozidáza. Medzi najdôležitejšie patria α -, β -amylázy. Zdravé a suché zrná obilnín vykazujú relatívne nízke aktivity rôznych amyláz a proteáz, čo umožňuje ich dobrú skladovateľnosť a určuje vyhovujúcu technologickú kvalitu. Naproti tomu rýchlosť klíčenia je podmienená prítomnosťou a vysokou aktivitou hydrolytických enzýmov a absenciou látok inhibičnej povahy v zrne (Gálová et al., 2003).

Proteázy delíme na peptidázy a proteinázy. Tieto enzýmy majú v pekárstve veľký význam, pretože podstatne ovplyvňujú vlastnosti lepku. V múke sú proteinázy vo veľkom množstve, ale prevažne v inaktívnej forme. Ich aktivitu vyvolávajú aktivátory, ktoré sa môžu dostať do cesta napríklad s kvasnicami. Z nich najvýznamnejší je tripeptid glutation, ktorý sa nachádza v kvasniciach a v niektorých častiach obilného zrna (Muchová, 1991).

Úroveň aktivity amylolytických a proteolytických enzýmov v procese dozrievania zrna významne ovplyvňuje aj obsah a vzájomný pomer jednotlivých zásobných látok. Pre zrna vysokej kvality je charakteristické skoro úplné zníženie hydroláz bielkovín a škrobu v plnej zrelosti zrna (Michalík, 1992, Gálová et al., 2003).

Bolo zistené, že k hydrolyze bielkovín dochádza v klíčiacom resp. poškodenom zrne. Všeobecne platí, že zvýšená aktivita amylolytických a proteolytických enzýmov narušuje a zhoršuje vlastnosti lepku a tým sa ovplyvňuje reológia cesta (Bajči et al., 1994).

Bolo dokázané, že zvýšená aktivita alfa- amylázy v zrne spôsobuje pokles pekárenskej kvality múky. Vplyvom zvýšenej vlhkosti v dobe dozrievania, zberu úrody a v čase uskladnenia zrna dochádza k predčasnému klíčeniu, pričom klíčenie zrna je sprevádzané prudkým nárastom aktivity všetkých hydrolytických enzýmov a ako prvý štartovací enzým, ktorého aktivita prudko stúpa je alfa- amyláza (Bajči et al., 1994, Gálová et al., 2003).

1.6 Charakteristika celiakálne aktívnych bielkovín

Prevažná časť bielkovinového komplexu zrna pšenice je zastúpená zásobnými, tzv. lepkovými bielkovinami (60- 70 %). Ide o frakciu bielkovín rozpustných v etylalkohole – prolamínov, a frakciu bielkovín rozpustných v hydroxidoch – glutenínov. Lepok je čiastočne kontaminovaný aj cytoplazmatickými bielkovinami, albumínmi a globulínmi (Michalík et al., 2006).

Bielkoviny typu albumínov a globulínov sú dobre stráviteľné, nakoľko sú dobre rozpustné vo fyziologických roztokoch a ľahko hydrolyzovateľné proteolytickými enzýmami (Michalík, 1994).

Prolamínové bielkoviny v závislosti od ich druhového pôvodu majú rôzny názov. Na označenie prolamínov pšenice sa používa názov gliadíny, jačmeňa hordeíny, prolamíny raže sa nazývajú sekalíny a ovsu aveníny. Glutelíny pšenice sa nazývajú gluteníny. Hlavný rozdiel medzi gliadínmi a glutenínmi je v ich funkčnosti. Gliadíny sú jednoduché polypeptidové reťazce, kým gluteníny sú viacreťazcové štruktúry polypeptidov pospájané disulfidovými väzbami (Gianibelli et al., 2001).

Glutén je komplexná zmes zásobných bielkovín pšenice, raže a jačmeňa. Gluténové bielkoviny majú niekoľko špecifických charakteristík, ktoré súvisia s ich imunogénnymi vlastnosťami, ako napríklad s rozvojom celiakie (Shan et al., 2002).

Zásobné bielkoviny sa vyznačujú nízkou rozpustnosťou a hydrolyzovateľnosťou, čo predurčuje ich nedostatočnú stráviteľnosť. Michalík a Karlubík (1988) uvádzajú, že

nízky obsah a nevyrovnané zastúpenie esenciálnych aminokyselín v prolaminových bielkovinách ich zaraďuje z výživového hľadiska medzi bielkoviny neplnohodnotné.

Z hľadiska celiakálneho ochorenia si mimoriadnu pozornosť zaslúži hlavne frakcia prolaminových bielkovín s nízkou molekulovou hmotnosťou okolo 30 kDa (Michalík, Karlubík, 1988). V prípade zrna pšenice sa táto frakcia nazýva alfa-gliadín a vykazuje toxické vlastnosti, ktoré zapríčiňujú celiakálne ochorenie (Michalík, 1994; Petr et al., 2003)

Molekula alfa-gliadínu obsahuje N-koncovú doménu s veľkosťou 95 aminokyselinových zvyškov, ktorá je bohatá na prolín a glutamín (krátke repetitívne sekvencie). Ďalej je zložená z dlhého úseku s veľkosťou 171 aminokyselinových zvyškov C-koncovej domény, ktorá sa vyznačuje nízkym podielom prolínu a absenciou repetitívnych sekvencií (Michalík, Bauerová, 2001).

Na viacerých pracoviskách sa intenzívne skúmalo zloženie najmenej stavebnej jednotky gliadínov zodpovednej za ochorenie. Identifikácia tejto bielkovinovej jednotky zodpovednej za zhoršenie alebo opätovné prepuknutie choroby viedla k enzymatickej degradácii gliadínov až na úroveň peptidov a na následnú prípravu a testovanie syntetických peptidov. V podmienkach *in vitro* bola dokázaná toxicita tetrapeptidov o sekvencii: prolín (Pro)- serín (Ser)- glutamín (Gln)- glutamín (Gln)- a Pro-Gln-Gln-Gln (Michalík, 1994).

Tieto fragmenty sa nachádzajú v N-koncovej oblasti gliadínového polypeptidu (zvyšky 3-55, 3-19, 39-45) a C-koncovej oblasti molekuly (fragment 211-217). Po pôsobení chymotrypsínom celiakálnu aktivitu vykazovali iba štiepne produkty lokalizované v oblasti 1-30 a 31-50, zatiaľ čo zvyšky 56-68 neboli aktívne (Shewry et al., 1992).

Za najvýznamnejší stimulačný aktivátor celiakie sa považuje imunodominantný epitop z alfa-gliadínu (Buráková et al., 2005).

Celiakálne ochorenie vo všeobecnosti vyvolávajú gliadíny pšenice, hordeíny jačmeňa, sekalíny ryže a aveníny ovsu, na rozdiel od zeínov (kukurica), panicínov (proso), kafirínov (sorgo), oryzeínov (ryža) a prolaminov pohánky, ktoré nevykazujú celiakálnu aktivitu (Michalík, Bauerová, 2001; Buráková et al., 2005).

Aminokyselinové zloženie uvedených prolaminov sa výrazne nelíši. Odlišnosť v aktivite prolaminov jednotlivých plodín je daná štrukturálnymi determinantami. Predpokladá sa, že reaktivita peptidových fragmentov alfa-gliadínov je závislá od

konformácie polypeptidu, teda vytvoreného alfa-helixu alebo beta-závitú (Michalík et al., 2006).

WHO vypracovala hraničné hodnoty obsahu prolaminových bielkovín v požívatinách pomocou elektroforetickej metódy. Okrem tejto metódy sa na stanovenie obsahu gliadínových zložiek využíva aj chromatografia (RP-HPLC), pomocou ktorej bolo možné otestovať množstvo cereálnych výrobkov (Holečková, Michalík, 1993).

1.5 Potravinová intolerancia

Potravinová intolerancia, rovnako ako alergia na potraviny, patrí medzi potravinové reakcie, ktoré sa označujú ako potravinová precitlivosť. Alergia na potraviny je imunologicky podmienená nežiadúca potravinová reakcia (Kayserová, 2004).

Podľa Dolinu et al. (2003) potravinová intolerancia v sebe skrýva patogenickú odpoveď organizmu, ktorá nie je spúšťaná žiadnou skupinou imunitného systému a je nežiadúcou reakciou na stravu, ktorá môže byť na enzymatickom alebo neuromolekulárnom podklade. Ettlerová a Kohout (2005) delia potravinové intolerancie na enzymatické, farmakologické a nedefinované.

Neznášanlivosť potravín (intolerancia) je možné charakterizovať ako neprimerané nežiadúce reakcie na jedlo, ktoré spôsobujú poruchy respirácie, tráviaceho systému, kožné a krvné choroby akútneho alebo chronického charakteru (Golian, 1998).

Niektoré potraviny alebo ich súčasti sú pritom príčinou ťažkostí nasledujúcich po prijatí jedla (Golian, 1998). Príčinu týchto ťažkostí Golian (1998) delí do troch základných skupín:

1. neznášanlivosť potravín imunologického pôvodu,
2. neznášanlivosť potravín iného pôvodu (toxická, metabolická, pseudoalergická a pod.),
3. neznášanlivosť potravín psychického pôvodu.

Golian (1998) do prvej skupiny zaraďuje rôzne imunologicky podmienené reakcie na jedlo. Sú to na alergickom podklade vyvinuté zmeny najrôznejších prejavov. Osobitým typom imunologicky podmienenej reakcie na potraviny je potravinová alergia, čo je tzv. senzibilizácia na potraviny.

Pri potravinovej alergii imunitný systém nevníma bielkovinovú zložku potravy, na ktorú je jedinec citlivý ako bezpečnú a táto zložka sa nazýva alergén (O'Callaghan, 2005).

Potravinové alergény sú najčastejšie glykoproteíny s molekulovou hmotnosťou 5-70 kDa. Najrizikovejšie alergény sa vyznačujú vysokým stupňom odolnosti voči tepelnému spracovaniu, nízkemu pH a enzymatickému tráveniu (Drápal et al., 2003).

Alergie na potraviny obyčajne nie sú zapríčinené celou molekulou proteínu, ale iba jej samostatnou časťou (peptidom) a hlavne aktívnou sekvenciou (epitopom) aminokyselín v polypeptidovom reťazci (Robinson, 2002).

Robinson (2002) uvádza, že potravinové alergie sa prejavujú v 1-2 % populácie detí a menej ako v 1 % dospelých. Podľa Goliana (1998) a Ettlerovej, Kohouta (2005) sa však potravinové alergie vyskytujú častejšie, v 5-8 % pri deťoch vo veku do 3 rokov, 1 až 2 % pri dospelých. V Európskej únii sa podľa zistení prejavuje alergická reakcia na potraviny v 3 až 7 miliónoch ľudí.

Vedľa genetickej predispozície sú pre vývoj potravinovej precitlivenosti nepriaznivé všetky stavy spojené s narušením črevnej membrány a zvýšenou črevnou permeabilitou, ktorá umožňuje zvýšený prienik imunogénnych molekúl potravy do obehu. Fyziologicky prechádza cez črevnú bariéru 0,1-1 % potravinových antigénov, ktoré sa dostávajú k cieľovým orgánom a môžu senzibilizovaným jedincom po väzbe na IgE vyvolať alergickú reakciu (Ettlerová, Kohout, 2005).

1.6 Celiakia

Celiakia je najrozšírenejšia potravinová intolerancia na svete. Môžeme ju definovať ako zápalové ochorenie hornej časti tenkého čreva (jejunum, duodenum) u geneticky predisponovaných jedincov, vyvolané konzumáciou potravín vyrobených zo pšenice, jačmeňa, raže, tritikale, prípadne ovsu (Mowat, 2003).

Celiakia (gluténsenzitívna enteropatia, celiakálna sprue), je ochorenie, ktoré je spôsobené abnormálnou imunitnou reakciou organizmu na lepok. Škodlivou noxou pre chorého sú fragmenty bielkovín s vysokým zastúpením a špecifickou sekvenciou prolínu, glutamínu a kyseliny glutámovej, ktoré sú obsiahnuté predovšetkým vo frakcii pšeničných gliadínov – jačmeňa, tritikale a pravdepodobne aj ovsu (Tlaskalová et al., 1999).

Fučíková (1997) popisuje celiakiu (gluténová enteropatia) ako imunopatologickú chorobu charakterizovanú zápalovým postihnutím tenkého čreva, ktoré je spôsobené precitlivosťou na zložku obilného lepku – gluténu. Výsledkom zápalovej reakcie je poškodenie sliznice tenkého čreva v zmysle atrofie klkov a hyperplázie krýpt, čo presne možno klasifikovať pri mikroskopickom vyšetrení vzoriek z tenkého čreva (Páv, 2006).

Đuriš a kol. (2001) píše, že celiakiu spôsobuje gliadín a to tak, že uvoľňuje epitelové bunky črevných klkov z bazálnej membrány. Mechanizmus účinku však nie je známy. Gliadín sa podobá lektínom v prípade, ak sú epitelových bunkách črevných klkov patologicky prítomné príslušné receptory, viaže sa na ne gliadín a pôsobí cytotoxicky.

Celiakia je podľa Kohouta (2005) autoimunitné ochorenie spôsobené tvorbou protilátok proti bunkám sliznice tenkého čreva. Ochorenie je vyvolané prítomnosťou lepku v potrave, pričom vzniká ako dôsledok tvorby protilátok proti vlastným tkanivám – bunkám sliznice tenkého čreva (enterocytom).

Na vznik celiakie je potrebná expozícia lepkom a zároveň senzitívny jedinec, ktorý reaguje na lepek ako na antigén. Celiakálne ochorenie sa vyznačuje permanentnou intoleranciou k lepku (Krkošková et al., 1998; Páv, 2006).

Celiakia detí je jedným z najčastejších ochorení na metabolickom podklade. Toto chronické ochorenie črevnej sliznice je spôsobené toxickým pôsobením lepku, ktorý tvorí bielkovinovú súčasť rôznych obilnín (Jodl, 1988).

Páv (2006) popisuje rôzne formy celiakie, ktorú podľa prejavov a príznakov rozdeľuje na:

- klinickú – pacient má klinické prejavy, histologické vyšetrenie potvrdzuje totálnu alebo subtotálnu atrofiu sliznice jejuna,
- silentnú – pacient nemá klinické prejavy, histologicky je prítomná subtotálna alebo totálna atrofia jejuna,
- latentnú – pacient má klinické príznaky, histologicky normálny nález na jejune alebo duodene,
- potenciálnu – pacient nemá žiadne klinické príznaky, ale má ochorenie, ktoré môže byť asociované s celiakiou, alebo niekto z príbuzných má celiakiu.

Celiakia sa najčastejšie prejavuje u detí okolo jedného roka veku, čo však často manifestuje až u väčších detí alebo v dospelosti. Ochorenie väčšinou pretrváva po celý život (Golian, 1998; Šašinka, Kuchta, 1998).

Celiakia bola prvý krát popísaná rímskym lekárom Galenosom a bola známa už v 2. storočí pred n.l. pod názvom koiliakos (Michalík, Bauerová, 2001).

Až v roku 1950 W. K. Dick zistil, že zložkou stravy, ktorá zodpovedá za vznik celiakie sú bielkoviny, hlavne lepková frakcia. W. K. Dick ako prvý začal študovať celiakov a odporúčal bezgluténovo-bezlepkovú diétu (Krkošková et al., 1998; Ciclitira, 2001).

Zmeny sliznice tenkého čreva zapríčinené chronickým zápalom pri celiakii ako prvý popísal Paulley v roku 1954. V ďalších rokoch došlo k rozvoju metód vyšetovania pacientov chorých na celiakiu napr. perorálnej intestinálnej biopsie, čo výrazne zjednodušilo diagnostiku tohto ochorenia (Luostarinen, 2003).

Aj v dnešnej dobe sa ťažko získavajú presné epidemiologické údaje o celiakii, keďže asymptomatický priebeh choroby predstavuje väčšiu úroveň problematickej a gluténové odozvy, čo nevylučuje prechodnú gluténovú odozvu (Kohout, Pavlíčková, 1994).

Ochorenie je charakterizované znížením resorpčnej plochy, postihnutím enzýmov kefkovitého lemu enterocytov, a z toho vyplývajúcou zhoršenou resorpciou hlavných živín – sacharidov, tukov a bielkovín, dochádza tiež k malabsorpcii ďalších látok, a to predovšetkým tých, ktoré sa vstrebávajú v jejune. Ide predovšetkým o zníženú resorpciu vápnika, ktorý sa viaže na nevstrebávaný tuk v strave, ďalej o zníženú resorpciu železa a kyseliny listovej, omnoho menej je postihnutá resorpcia žlčových kyselín a vitamínu B₁₂. Na druhej strane však dochádza k zvýšenej priepustnosti črevnej bariéry, čo môže viesť k zvýšenému prieniku antigénov sliznice tenkého čreva s možným vznikom komplikácií a k antigénnej hyperstimulácii s následnou poruchou imunologického systému s častejším výskytom nádorových ochorení (Kohout, Pavlíčková, 1994).

Najčastejšími prejavmi celiakie u detí vo veku 6 – 24 mesiacov sú chronické hnačky, ale môže nimi byť aj obstipácia, distenzia a bolesti bruška, zvýšený meteorizmus, nechutenstvo, strata hmotnosti, vracanie, dráždivosť a nepokoj, spomalenie rastu. Často býva prítomný iba jeden z príznakov. Staršie deti a adolescenti majú príznaky podobné ako dospelí (Pekárková, Pekárek, Kabátová, 2009).

Podľa Ruttkaya (2009) si pacienti sťažujú na nafukovanie, kŕče v bruchu, pocity škvŕkania a prelievania črevného obsahu, hnačky a po dlhšom čase aj chudnutie a zníženie imunity.

Anémia je častá u detí aj dospelých, môže byť jediným prejavom celiakie. Pri ťažších formách je postihnuté aj terminálne ileum, čo má za následok anémiu z poruchy vstrebávania vitamínu B₁₂. Ďalším prejavom môže byť krvácanie pri koagulopatii (porucha zrážanlivosti krvi) následkom poruchy vstrebávania vitamínu K (Jurgoš, Kužela, Hrušovský a i. 2006).

Častejšie sa vyskytujú okrem tráviacich problémov príznaky mimo tráviaci trakt: poruchy zubnej skloviny trvalého chrupu, oneskorený rast, problémy s kosťotvorbou a hustotou kostí, ktoré sa môžu prejaviť opakovanými zlomeninami. Príznakov je však ešte viac – opakujúce sa afty (infekcie) v ústach, nevysvetliteľný únavový syndróm. Nepoznaná celiakia môže mať aj gynekologické obtiaže ako sú oneskorený nástup puberty, porucha reprodukcie (Kabátová, 2008).

Pri celiakii ide o celoživotné ochorenie. Jediným účinným riešením zdravotných problémov pacientov s celiakiou je dôsledné dodržovanie bezlepkovej diéty. Ako prirodzené bezlepkové je možné označiť potraviny a potravinárske suroviny s množstvom do 2 mg gliadínu na 100 g vzorky; ako potraviny a suroviny so zníženým obsahom gliadínu, povolené pre bezlepkovú diétu, max. do 10 mg gliadínu na 100 g vzorky.

Do úvahy pre bezlepkovú diétu prichádzajú na základe dosiaľ získaných skúseností predovšetkým obilniny II. skupiny – kukurica, proso, ryža a pseudocereálie – pohánka, amaranthus a z ostatných plodín napr. zemiaky alebo sója. Podľa informácií lekárov zaoberajúcich sa celiakiou má mnoho pacientov, najmä dospievajúcich, problémy s dodržiavaním bezlepkovej diéty. Je preto potrebné hľadať nové zdroje a nové rastlinné suroviny, ktoré by mohli množstvo potravín pre bezlepkovú diétu obohatiť.

1.7 Charakteristika analyzovaných cereálií a pseudocereálií

Pšenica (*Triticum*)

Pšenica letná forma ozimná, ako najdôležitejšia chlebová plodina, predstavuje základný zdroj ľudskej výživy. Jej plochy od začiatku uplynulého storočia zdvojnásobili a jej produkcia sa zvýšila 3,5 krát. Celková svetová produkcia pšenice sa pohybuje

okolo 560 mil. t, čo predstavuje štvrtinu celkovej svetovej produkcie všetkých obilnín (Uher et al., 2008).

Pšenica je najstaršou obilninou využívanou človekom. Najstaršie nálezy sa týkajú divorastúcej pšenice, ktorá pochádza z jaskyne Nohal Oren, neďaleko Hajfy a je stará 18 tisíc rokov. Jej divoké formy sa rozširovali z územia dnešného Iraku, Sýria, Palestíny, Izraela, severného Egyptu ale tiež z oblasti Iránu, Afganistanu a Kaukazu. Rod pšenica patrí do čeľade Poaceae (lipnicovitých) (Molnárová a kol., 2009).

Pšenica je našou základnou obilninou. Zrno sa využíva k výrobe chleba, pečiva, krúp, cestovín a v cukrárstve. Vlastnosti chleba a pečiva závisia od chemického zloženia zrna najmä bielkovín, ktoré vytvárajú lepok majúci pri pečení chleba mimoriadny význam. Pšeničné zrno má i vysokú dietetickú hodnotu, najmä celozrnný chlieb, pri ktorom sa pozitívne hodnotí vplyv vlákniny na zníženie cholesterolu v krvi a činnosť čriev. Využíva sa tiež ako surovina k výrobe celého radu dôležitých látok ako sú napríklad lepkové bielkoviny, lepidlá, škrob alebo etanol. Pšeničné šroty a otruby predstavujú vysoko koncentrované krmivo, vhodné pre všetky druhy hospodárskych zvierat (Uher et al., 2008).

Raž (*Secale*)

Kultúrna raž je pomerne mladou plodinou. Vznikla z burinnej raže v horských oblastiach Prednej Ázie a stredoázijských pohorí. Ako burina sa vyskytuje v dvoch formách s lámavým a nelámavým klasovým vretenom a sprevádza pšenicu v horských oblastiach Afganistanu. So stúpajúcou nadmorskou výškou postupne vytláča pšenicu, až napokon prevláda (Molnárová a kol., 2009).

Na Slovensku sa raž podieľa na celkovej produkcii obilnín 2,4 %. Osevné plochy raže sa pohybujú v rozpätí 30 – 32 tisíc ha s priemernou úrodou 2,3 – 2,8 t.ha⁻¹. Na potravinárske účely sa využíva približne 71,5 %, na osivo 6,5 %, na krmne účely 18 % a na ostatnú spotrebu 4 %.

Najväčšie množstvo raže sa spotrebuje na výrobu bioetanolu, ražného destilátu, na výrobu cereálnych výrobkov, ražného chleba a malé množstvo na výrobu ražnej kávy a kávovín. Ako objemová krmovina sa raž pestuje formou ozimnej miešanky, pre skorý jarný zber – zelené objemové krmivo v čistom stave alebo v miešankách.

Ražná slama sa využíva na výrobu rohoží, krytiny ako energetický zdroj a podobne (Uher et al., 2008).

Jačmeň (*Hordeum*)

Jačmeň patrí medzi najstaršie a zároveň najrozšírenejšie obilniny. Vyznačuje sa adaptabilitou na rôzne klimatické podmienky. Vo svete sa pestuje od studených humídnych oblastí až po arídne. Z hľadiska svetovej produkcie je po pšenice, ryži a kukurici na štvrtom mieste s výmerou oševnej plochy okolo 10 % výrobkov (Uher et al., 2008).

Jačmeň sa pestoval už v 5-6. tisícročí pred n.l. Za génové centrá, kde sa mohli využiť jeho kultivované typy možno považovať Etiópiu a Sikimské vysočiny v Južnom Tibete. Prvá zmienka o jeho pestovaní na našom území je z roku 1227. Jačmeň zaraďujeme do čeľade *Poaceae* (lipnicovité) (Molnárová a kol., 2009).

Zrno jačmeňa je svojím látkovým zložením ideálnou surovinou na získanie sladú vhodného pre ďalšie pivovarské spracovanie. Podľa počtu zrn rozdeľujeme jačmene na dvojradové a viacradové. (Frančáková et al., 2005).

Jačmeň a výťažky z jačmenného sladú sa využívajú k výrobe rôznych farmaceutických výrobkov. Z naklíčeného zrna sa získavajú enzýmy (peptidázy). Jačmeň sa používa pri výrobe škrobu, ktorý sa využíva v chemickom a farmaceutickom priemysle k výrobe liehu, organických kyselín, hormónov a ďalších výrobkov (Uher et al., 2008).

Ovos (*Avena*)

Ovos je jedným z najmladších druhov obilnín. Predpokladá sa, že dnešný ovos siaty vznikol z ovsa hluchého, ktorý je aj dnes veľmi rozšírenou burinou. Pravdepodobne prirodzenou mutáciou vznikol bezplevnatý (nahý) ovos, ktorý sa na naše územie dostal pri sťahovaní národov (Uher et al., 2008).

V štruktúre rastlinnej výroby ovos má výnimočné postavenie, nakoľko ide nielen o významnú krmnu, ale aj potravinársku obilninu, ktorá sa vyznačuje významnou nutričnou a dietetickou hodnotou. Predurčuje ho k tomu jednak zvýšený obsah bielkovín, lyzínu a vitamínov komplexu B a vitamín E (Molnárová a kol., 2009)

Obsahuje 12,4 – 24,4 % bielkovín, 3,1 – 11,6 % tuku s priaznivou skladbou vyšších mastných kyselín, dobre rozpustné cukry, kvalitnú vlákninu, vitamíny, najmä B a E, alkaloidy (avenín, trigonelín), horčík, železo a iné látky.

Z ovsených produktov, ktoré sa využívajú v potravinárstve, je najznámejšia ovsená múka a vločky. Z ovsy sa vyrábajú proteínové izoláty, krúpy, krupice a kozmetické výrobky. Ovsená slama je vhodná na kŕmne účely. Významné je využitie ovsy ako krycej plodiny, pre zakladanie podsevov viacročných krmovín.

Pohánka (*Fagopyrum*)

Pohánka je starou kultúrnou rastlinou, ktorej historickou vlasťou je juhovýchodná Ázia, odtiaľ sa začala rozširovať do Číny a Indie. Na našom území sa začala pestovať v 12. – 13. storočí a vplyvom uhorského panstva sa rozšírila prakticky na celé územie, najmä však do horských a podhorských oblastí. Bola prevažne potravou chudobnej vrstvy obyvateľstva.

Patrí do čeľade Polygonaceae (stavikrvovité) a do rodu *Fagopyrum*. Pohánka siata je jednoročná rastlina s kolovitým málo rozkonáreným koreňom a červenkastou stonkou vysokou 0,5 až 2 m, v hornej časti značne rozkonárenou. Kvety sú bielo ružové, niekedy aj červené, rozkvitajú postupne zdola nahor, sú cudzoopelivé a opeľujú ich najmä včely. Kvety sú bielo ružové, niekedy aj červené, rozkvitajú postupne zdola nahor, sú cudzoopelivé a opeľujú ich najmä včely. Plodom pohánky je trojboká hladká nažka, hnedej až fialovočervenej farby.

Obsah bielkovín vo vylúpanom semene sa pohybuje okolo 12 % a ich biologická hodnota je pomerne vysoká. Hlavný podiel sacharidov nachádzajúcich sa v pohánkovom semene tvorí predovšetkým škrob, ktorého obsah je približne rovnaký ako v semenách ostatných obilnín. Nažka pohánky obsahuje 2 – 3 % lipidov (tukov), nachádzajúcich sa najmä v embryu a endosperme. Aj obsah minerálnych látok v pohánke je dôležitý, v nažkách je relatívne vysoký obsah draslíka, horčíka, fosforu ale aj železa (Muchová a kol., 2007).

Využíva sa na výrobu krúp, krupice, múky, vločiek, pohánkového medu, rôzne druhy jemného a trvanlivého pečiva, vhodná je pre diabetikov, pri bezlepkovej diéte, posilňuje imunitný systém, reguluje zrážanlivosť krvi a obsah cholesterolu, vhodná je pri poruchách zažívacieho ústrojenstva. Pohánková kaša je ľahko stráviteľná. Má

priaznivú skladbu aminokyselín, obsahuje vitamíny skupiny B₁, B₂, PP. Z minerálnych látok obsahuje pomerne veľa P, K, Fe, Cu (Molnárová a kol., 2009).

Láskavec (*Amaranthus*)

Amaranthus ako plodinu možno zaradiť medzi pseudocereálie. Má širokospektrálne využitie, jednak vo výžive ľudí (kde sa konzumujú semená ako obilnina, ale aj mladé listy, príp. mladé rastliny vo forme zeleniny). Mimo toho sa ako surovina používa v rôznych odvetviach nielen potravinárskeho alebo farmaceutického ale aj papierenského priemyslu (Žajová, 2006).

Láskavec má vysokú výživovú hodnotu, keďže obsahuje kvalitné bielkoviny (14,5 - 17,8 %), vlákninu (3,2 - 6,4 %) a škrob, taktiež sú v ňom bohaté zastúpené nenasýtené tuky, minerálne látky a vitamíny. Semená tejto rastliny sú plné vitamínov, prevažne tiamínu, riboflavínu, kyseliny nikotínovej, kyseliny listovej a v rastline sa nachádza vitamín C. Z minerálnych látok sú to najmä fosfor, draslík, vápnik, horčík, železo a sodík (Gajdošová, Hozová, 2006).

Gonor et al. (2006) uvádzajú, že zo semien sa extrakciou získava kvalitný olej s liečebnými účinkami pre pacientov s ischemickou chorobou srdca. Beran et al. (2008) považuje olej z láskavca za bohatý zdroj nenasýtených mastných kyselín, vrátane kyseliny linolovej a je výnimočný obsahom skvalénu (8 %) a rastlinných sterolov (4 %).

V semenách láskavca sa nachádzajú štyri hlavné typy bielkovín - albumíny, globulíny, prolamíny a glutelíny (Beran et al., 2008).

Bielkoviny semena láskavca sú zaujímavé nielen ich vyšším obsahom v porovnaní s obilninami, ale aj lepšou kvalitou a z hľadiska lepšieho aminokyselinového zloženia, čo je veľmi dôležité pre výživu ľudí (Muchová et al., 2000).

2 CIEĽ PRÁCE

Cieľom bakalárskej práce bola biochemická analýza pšenice, jačmeňa, raže, ovsa pohánky a amarantu z hľadiska nutričnej a technologickej kvality, pričom dôraz bol kladený na ich vhodnosť pre bezlepkovú diétu. Vzhľadom na uvedené bolo potrebné:

1. preštudovať a spracovať literárny prehľad z danej problematiky,
2. analyzovať vzorky z hľadiska niektorých biochemických ukazovateľov:
 - stanovenie aktivity alfa – amylázy, kyslých, zásaditých a neutrálnych proteáz,
 - výpočet obsahu bielkovín a koeficienta nutričnej kvality,
 - stanovenie frakčnej skladby bielkovín,
3. výsledky vyhodnotiť matematicko-štatistickou metódou.

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 Biologický materiál

Analyzovali sme vzorky pšenice (*Triticum*) odrody Rada a Astela, ovsu (*Avena*) odrody Vendelín a Atego, ozimnú raž (*Secale*) odrody Nikita a Stal, jačmeň siaty (*Hordeum*) odrody Kompakt a Nitran, pohánku (*Fagopyrum*) odrody Pulawska a Aiva a amarant (*Amaranthus*) odrody Olpir a Burgundy. Všetky analyzované vzorky boli získané z Génovej banky semenných druhov SR v CVRV Piešťany.

3.2 Biochemické rozbory

3.2.1 Stanovenie celkového dusíka podľa Kjehdahla

Princíp stanovenia

Pri tejto metóde sa rastlinná hmota spaľuje v Kjehdahlovej banke, pričom musí byť prítomná kyselina sírová a vhodný katalyzátor. Za týchto podmienok sa dusík viazaný v organickej hmote oxiduje na amoniak, ktorý sa pri reakcii s kyselinou sírovou mení na síran amónny. Tento proces oxidácie je veľmi zložitý. Kyselina sírová odoberá látke kyslík a vodík, pričom sa istá zložka počas varu rozkladá a uvoľňuje sa kyslík. Kyslík zapríčiňuje oxidáciu uhlíku na oxid uhličitý. Zložité dusíkaté látky sa vplyvom koncentrovanej kyseliny sírovej rozkladajú na jednoduchšie látky ako je voda, amoniak a oxid uhličitý. Po naviazaní amoniaku, ktorý sa uvoľnil počas reakcie, na kyselinu sírovú vzniká síran amónny. Prebytkom alkalického hydroxidu sa vytesní amoniak ako slabšia zásada zo síranu amónneho. Následne je tento amoniak predestilovaný do predlohy z nám už zisteným množstvom kyseliny sírovej.

Vlastné stanovenie

Navážili sme 3 g mletého zrna do suchej Kjehdahlovej banky, pričom sme následne pridali 25 ml koncentrovanej kyseliny sírovej. Roztok sme zahriali a spaľovali. Po spálení bola vzorka kvantitatívne prenesená do banky s objemom 250 ml a pridali sme do tejto banky destilovanú vodu a premiešali sme. Odpipetovali sme z roztoku 25 ml, potom sme pridali 30 % roztoku hydroxidu sodného v prebytku a predestilovali do predlohy s obsahom $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ kyseliny sírovej. Za pomoci $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ hydroxidu sodného sme pretitrovali nezreagovanú kyselinu sírovú na metylčerveň.

Odpočítali sme množstvá spotrebovaného hydroxidu sodného od kyseliny sírovej v predlohe, pričom bolo známe $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ sa rovná 1,401 mg dusíka.

3.2.2 Výpočet hrubých bielkovín

Po vynásobení obsahu celkového dusíka stanoveného podľa Kjehdahla prepočítavacími koeficientami sme získali obsah bielkovín podľa nasledovného vzorca:

$$\% \text{ hrubých bielkovín} = \% \text{ N} \cdot \text{koeficient}$$

3.2.3 Spektrofotometrické stanovenie bielkovín podľa Bradforda

Princíp stanovenia

Princíp stanovenia spočíva v posunutí maxima absorpcie farbiva CBB G – 250 po vytvorení komplexu proteín – farbivo v jej kyslom roztoku. Toto posunutie je typické pri vlnových dĺžkach zo 495 na 595 nm. Po vytvorení kalibračnej krivky je nárast absorpcie pri vlnovej dĺžke 595 nm úmerný množstvu vytvoreného komplexu. V priebehu niekoľko minút sa vytvorí komplex, pre ktorý je charakteristický vysoký extenčný koeficient a stabilita okolo jednej hodiny. Medzi výhody tejto metódy patrí rýchlosť analýzy, vysoká citlivosť, kompatibilita so 61 interferenčnými látkami a takisto aj nenáročnosť metódy. Významnou vlastnosťou je vysoká špecifita k proteínu, ktorá spôsobuje odlišnú odozvu rôznych bielkovín. Veľmi dôležitá pri tejto metóde je pozorná kalibrácia a príprava interných štandardov.

Príprava roztokov

Rozpustili sme 100 mg Coomassie Brilliant Blue G – 250 v 100 ml koncentrovanej 88 % H_3PO_4 a tak sme získali zásobný roztok. K tomuto roztoku sme pridali 47 ml koncentrovaného metanolu a dôkladne premiešali. Zriedili sme 73,5 ml zásobného roztoku s 500 ml deionizovanej vody a tým sme získali pracovný roztok. Následne sme roztok prefiltrovali cez modrý filtračný papier do zásobnej fľaše.

Vlastné stanovenie

50 µl filtrátu sme pridali do 150 µl extrakčného tlmivého roztoku. Zo získaného roztoku sme odpipetovali 100 µl a pridali do 5 ml roztoku Bradford, následne sme získaný roztok nechali postáť 5 minút merali sme absorbanciu vzoriek pri vlnovej dĺžke 595 nm.

3.2.4 Stanovenie frakčnej skladby bielkovín podľa Golenkova (ICC metóda)

Vlastné stanovenie

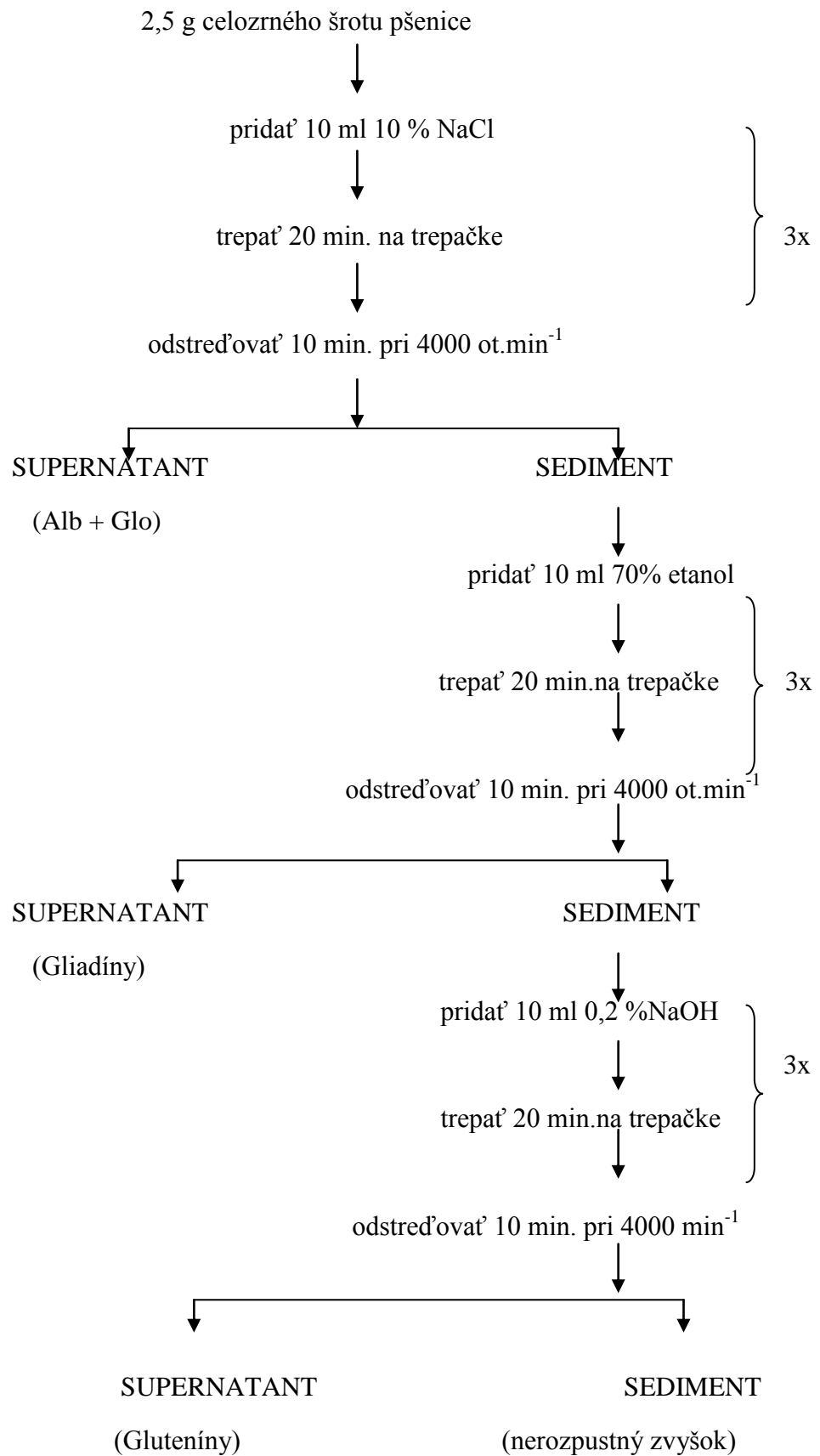
Zrná pšenice boli zhomogenizované pomocou laboratórneho mlynu Fritish Pulveri Sette na veľkosť 0,2 mm. Následne boli pomocou unifikovanej Golenkovej metódy vyextrahované základné bielkovinové frakcie, medzi ktoré patria globulíny, albumíny, gluteníny a prolamíny.

Za prítomnosti 10 %-ného chloridu sodného boli extrahované albumíny a globulíny (prvá frakcia), zatiaľ čo prolamíny boli extrahované pomocou 70 % etanolu (druhá frakcia), gluteníny 0,2 %-ným hydroxydom sodným (tretia frakcia) a ako posledná (štvrtá) frakcia nám ostal nerozpustný zvyšok. Každá extrakcia bola trikrát opakovaná. V 1, 2, 3 supernatantoch a v 4. frakcii bol stanovený dusík podľa Kjehdahla, následne bola prepočítaná na sušinu a vypočítané percentuálne zastúpenie jednotlivých frakcií.:

$$N1 + N2 + N3 + N4 = N \text{ sum}$$
$$\text{obsah Alb + Glo (\%)} = \frac{N1}{N \text{ sum}}$$
$$\text{obsah Pro (\%)} = \frac{N2}{N \text{ sum}}$$
$$\text{obsah Glu (\%)} = \frac{N3}{N \text{ sum}}$$
$$\text{obsah zvyšku (\%)} = \frac{N4}{N \text{ sum}}$$

Na výpočet koeficientu nutričnej kvality (KNK) sme použili obsahy jednotlivých frakcií:

$$\frac{\text{Alb + Glo + Zvyšok}}{\text{Pro}} \times 100$$



Obrázok 1 Schéma izolácie jednotlivých bielkovinových frakcií podľa Golenkova (ICC metóda)

3.2.5 Stanovenie aktivity alfa-amylázy Spofa testom

Aktivitu alfa-amylázy sme stanovovali pomocou tabletiiek Spofa testu.

Princíp stanovenia

V tabletkách sa nachádza nerozpustný škrob s kovalentne viazaným farbivom, zložky fosfátového tlmivého roztoku (pH 7), aktivátor enzýmu a neaktívnu zložku – mikrokraštalicá celulóza. Enzým alfa-amylázy obsiahnutý vo vzorke hydrolyzuje nerozpustný farebný škrob, ktorý prechádza do roztoku a tým ho zafarbí. Aktivita alfa-amylázy je úmerná sfarbeniu roztoku meranému pri absorbancii 620 nm.

Extrakcia alfa-amylázy

Z 1 gramu čerstvého šrotu pšenice sme extrahovali enzým pomocou 5 ml 0,2 mol.dm⁻³ acetátového tlmivého roztoku pri laboratórnej teplote. Aktivity alfa amylázy sme stanovovali z číreho supernatantu.

Vlastné stanovenie

K 0,5 ml odpipetovaného filtrátu sme pridali 1 ml 0,2 mol.dm⁻³ acetátového tlmivého roztoku (pH 5,5) a nechali sme temperovať vo vodnom kúpeli s teplotou 37 °C po dobu 5 minút. Pridali sme pomocou pinzety 1 tabletu Spofa – testu a bez miešania sme nechali inkubovať 10 minút pri teplote 37 °C. Potom sme pridali 4 ml zastavovacieho roztoku (10 g Na₂CO₃ + 900 ml destilovaná voda + 100 ml acetón).

Reakčný roztok sme dobre premiešali a následne filtrovali. Na spektrofotometri sme merali absorbanciu číreho filtrátu oproti slepému pokusu pri vlnovej dĺžke 620 nm.

3.2.6 Stanovenie aktivity proteáz S-testom proteáza univerzál

Aktivitu alkalických, neutrálnych a kyslých proteáz sme stanovili tabletkami S-test proteáza univerzál (Lachema Brno, a.s.)

Princíp stanovenia

Účinnou zložkou tablety S- TEST proteáza univerzál je nerozpustný proteín s kovalentne viazaným farbivom, ktorý sa pôsobením proteolytických enzýmov

hydrolyzuje a prechádza do roztoku vo forme rozpustných zafarbených peptidov. Intenzita zafarbenia filtrátu je úmerná aktivite prítomnej proteázy. Testovacia tabletká neobsahuje zložky tlmivého roztoku, ktoré sa musia pridávať podľa potreby pri stanovení príslušných proteáz.

Príprava roztokov

Tlmivé roztoky: pripravili sme pre každý stanovený proteolytický enzým ako je uvedené v tabuľke:

Typ proteáz	pH	Zložky tlmivého roztoku
Alkalické proteázy	8	4g Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O + 0,2g NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O + 1,5g NaCl v 1000 ml dest. H ₂ O
úNeutrálne proteázy	7	4g Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O + 1g NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O + 1,5 NaCl v 1000 ml dest. H ₂ O
Kyslé proteázy	1,5	0,05 – 0,1 mol.dm ⁻¹ HCl
Zastavovací roztok		10g Na ₂ CO ₃ + 100 ml acetónu + 900 ml dest. H ₂ O

Pracovný postup:

Navázili sme 0,5 g pšeničného šrotu, pridali 10 ml príslušného fosfátového tlmivého roztoku a dali trepať na 15 minút. Potom sme roztok prefiltrovali do centrifugačných skúmaviek.

Vlastné stanovenie

Do skúmavky sme napipetovali 0,5 ml zásobného roztoku o príslušnom pH a 0,1 ml enzýmu. Obsah skúmavky sme temperovali 5 minút pri teplote 37°C. Po uplynutí času sme skúmavku vybrali z vodného kúpeľa a pridali sme mednu tabletu S-testu. Vzorku sme inkubovali 15 minút pri 37°C. Po inkubácii sme pridali 4 ml zastavovacieho roztoku, reakčnú zmes sme dobre premiešali a približne po piatich minútach bolo potrebné vzorku prefiltrovať. Absorbancia číreho filtrátu sa merala oproti vode pri 620 nm v 1 cm kyvete.

Z nameranej hodnoty absorbancie sa objemová aktivita proteázy vypočítala podľa vzorca:

$$\text{Objemová aktivita} = A : T \cdot 2 \cdot 10^6$$

T - absorbancia nameraná po úplnej hydrolýze testovacej tablety. Pre každú výrobnú šaržu je udaná zvlášť. V našom prípade je T= 8,3.

A - absorbancia je nameraná po reakcii vzorky pri 620 nm.

U - jednotka proteolytickej aktivity. Zodpovedá aktivite, ktorá hydrolyzuje 1 mg chromolytického proteínového substrátu za jednu hodinu.

Špecifickú aktivitu enzýmu sme vypočítali podľa vzorca:

$$\text{Špecifická aktivita} = \text{Objemová aktivita enzýmu} / \text{Obsah bielkovín}$$

3.2.7 Matematicko-štatistické spracovanie výsledkov

Získané výsledky sme vyhodnocovali matematicko – štatistickými metódami pomocou programu Microsoft Office Excel, kde sme počítali priemer, minimum, maximum, smerodajnú odchýlku a variačný koeficient.

4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celiakia patrí v dnešnej dobe do kategórie často sa vyskytujúcich ochorení. Je to autoimunitné ochorenie, ktoré sa vyskytuje u ľudí senzibilných na glutén a prejavuje sa ako zápal, čo je výsledkom poškodenia tenkého čreva.

Jedinou doteraz overenou liečbou je celoživotné dodržiavanie bezlepkovej diéty. Medzi potraviny ktoré sa pri tejto diéte nemôžu konzumovať patrí múka z obilnín, pretože celiakiu spôsobujú v prvom rade gliadíny pšenice, sekalíny raže, hordeíny jačmeňa a aveníny ovsa. Pri dodržiavaní bezlepkovej diéty sa zdravotný stav pacienta zlepšuje.

Keďže celiakia je v dnešnej dobe rozšírenou chorobou, je v záujme potravinárskych inštitúcií rozširovať ponuku potravín pre túto skupinu ľudí. Cieľom našej práce bolo biochemicky analyzovať niektoré cereálie (pšenica, jačmeň, raž, ovos) a dve pseudocereálie (pohánka, amarant) z hľadiska nutričnej a technologickej kvality

Celkový obsah dusíka bol zistený z celozrnného šrotu analyzovaných vzoriek. Zo zistených výsledkov (Tab. 1) vyplýva, že obsah dusíka sa pohybuje v hodnotách od 1,4 % až do 2,1 % pri cereáliách a od 1,8 do 1,89 % pri pseudocereáliách. Najvyššia hodnota bola zistená pri pšenici Astela a najnižšia pri pšenici Rada, zatiaľ čo pri pseudocereáliách boli výsledky relatívne vyrovnané.

Podľa Muchovej et al. (2000) sa kvalita obilnín hodnotí predovšetkým z obsahu bielkovín, pričom obsah hrubých biekovín sme vypočítali vynásobením celkového dusíku koeficientami, ktoré sú rozdielne pre jednotlivé druhy analyzovaného materiálu. Rozpätie vypočítaných hodnôt bolo pri cereáliách od 8 do 11,99 % a pri pseudocereáliách od 10,78 do 10,94 %, takže môžeme povedať že pseudocereálie sú v priemere kvalitnejšie než cereálie, pri ktorých hodnota hrubých bielkovín kolísala.

Zo zastúpenia jednotlivých frakcií bielkovinového komplexu môžeme posudzovať výživnú a technologickú kvalitu rastlinného materiálu. Tento komplex sa skladá z albumínov, globulínov (cytoplazmatické bielkoviny), prolamíny a gluteníny (zásobné bielkoviny). Cytoplazmatické bielkoviny sú charakteristické enzymatickou aktivitou a vykazujú vysoký obsah esenciálnych aminokyselín, ktoré sú dôležitým ukazovateľom výživnej kvality. Na druhej strane zásobné bielkoviny sú charakterizované ako neplnohodnotné bielkoviny pre svoj nízky obsah esenciálnych aminokyselín. Sú dôležité z hľadiska technologického spracovania obilnín.

Obsah celkového dusíka a hrubých bielkovín v analyzovaných vzorkách

Tabuľka 1

ODRODA	Celkový N %	HB %	KNK
Cereálie			
Ovos Vendelín	1,71	9,98	463,58
Ovos Alego	2,05	11,94	624,73
Pšenica Rada	1,40	8,00	175,63
Pšenica Astela	2,10	11,99	188,96
Ozimná raž Nikita	1,96	11,45	166,30
Ozimná raž Stal	1,99	11,61	151,86
Jačmeň Kompakt	1,73	9,83	173,91
Jačmeň Nitran	1,46	8,32	329,85
Priemer	1,80	10,39	284,35
Minimum	1,40	8,00	624,73
Maximum	2,10	11,99	151,86
Smerodajná odchýlka	0,25	1,50	163,81
Variačný koeficient	13,93	14,46	57,61
Pseudocereálie			
Pohánka Pulawska	1,82	10,94	2379,17
Pohánka Aiva	1,80	10,78	2039,53
Amarant Olpir	1,89	10,80	3270,91
Amarant Burgundy	1,89	10,80	3609,80
Priemer	1,85	10,83	2824,85
Minimum	1,80	10,78	2039,53
Maximum	1,89	10,94	3609,8
Smerodajná odchýlka	0,04	0,06	638,45
Variačný koeficient	2,20	0,59	22,60

Vysvetlivky: N – dusík, HB – hrubé bielkoviny, KNK – koeficient nutričnej kvality

Z výsledkov uvedených v tabuľke 2 môžeme konštatovať, že zastúpenie albumínov a globulínov v analyzovaných vzorkách cereálií bolo od 25,51 % do 35,18 %. Pri pseudocereáliách sme vypočítali vyššie hodnoty (v priemere 56,01 %). Najvyššie zastúpenie (v priemere 58,16 %) albumínov a globulínov mala pohánka, pričom aj amarant vykazoval vysoké zastúpenie albumínov a globulínov (až 53,86 %). Najnižšie množstvo vykazoval jačmeň (25,81 %) a pšenica (25,7 %).

Cytoplazmatické bielkoviny sú dôležité z nutričného hľadiska, zatiaľ, čo zásobné bielkoviny (prolamíny a glutelíny) sú typické pre technologickú kvalitu. Sú nedostatočne stráviteľné živočíchmi a vytvárajú lepok.

Zastúpenie prolamínových frakcií pri cereáliách bolo v rozsahu od 13,62 do 39,2 %. Najvyššie hodnoty vykazovala raž (38,26 %) a za ňou nasledovala pšenica (35,14 %). Pri pseudocereáliách obsah prolamínov bol v priemere 3,58 %. Najnižšiu

hodnotu vykazoval v priemere amaranthus (2,8 %) a potom nasledovala pohánka (4,37 %), čo je typické pre pseudocereálie.

Percentuálne zastúpenie bielkovinových frakcií v analyzovanej vzorke

Tabuľka 2

ODRODA	Alb+Glo	Prolamíny	Glutelíny	Zvyšok	Pro+Glu
Cereálie					
Pšenica Rada	25,73	34,21	28,15	10,76	62,36
Pšenica Astela	25,67	36,07	29,13	8,56	65,20
Ovos Vendelín	32,2	17,65	41,32	8,3	58,97
Ovos Alego	28,86	13,62	44,78	11,47	58,40
Ozimná raž Nikita	35,18	37,32	16,34	10,54	53,66
Ozimná raž Stal	33,63	39,2	17,02	8,89	56,22
Jačmeň Kompakt	25,51	36	30,72	6,38	66,72
Jačmeň Nitran	26,11	22,96	39,86	10	62,82
Priemer	29,11	29,63	30,91	9,36	60,54
Minimum	25,51	13,62	16,34	6,38	53,66
Maximum	35,18	39,2	44,78	11,47	66,72
Smerodajná odchýlka	3,74	9,34	9,98	1,54	4,21
Variačný koeficient	12,86	31,53	32,29	16,50	6,95
Pseudocereálie					
Pohánka Pulawska	56,63	3,95	14,09	23,19	18,04
Pohánka Aiva	59,69	4,79	13,14	24,83	17,93
Amarant Olpir	52,22	2,9	25,87	16,9	28,77
Amarant Burgundy	55,49	2,69	30,04	11,67	32,73
Priemer	56,01	3,58	20,79	19,15	24,37
Minimum	52,22	2,69	13,14	11,67	17,93
Maximum	59,69	4,79	30,04	24,83	32,73
Smerodajná odchýlka	2,67	0,84	7,33	5,23	5,85
Variačný koeficient	4,77	23,60	35,25	27,33	24,01

Vysvetlivky: Alb + Glo- albumíny a globulíny, Pro+Glu – prolamíny a glutelíny

Podľa Michalíka et al. (2006), ak zastúpenie prolamínových bielkovín v zrne nepresiahne hodnotu 5 %, možno danú plodinu využiť ako surovinu pre prípravu potravín vhodných pre stravovanie celiakikov.

Čo sa týka glutelínov môžeme uviesť, že pri cereáliách bolo percentuálne zastúpenie vyššie (30,91 %) ako pri pseudocereáliách (20,79 %). Najnižšiu hodnotu dosahovala pohánka 13,14 % a naopak najvyššiu hodnotu sme zaznamenali pri ovse 44,78 %. Keď hodnotíme zásobné bielkoviny ako lepkové bielkoviny, tak ich obsah v pšenici bol v priemere 63,78 %, v ovsi 58,68 %, v raži 54,94 % a v jačmeni 64,77 %. Na druhej strane zastúpenie gluténových bielkovín v pohánke bolo 17,98 % a v amarante 30,75 %.

Podľa nami zistených výsledkov môžeme posúdiť, čo sa týka nutričnej kvality, že pohánka a amarant patria medzi nutrične veľmi významné plodiny, zatiaľ čo jačmeň je z nutričného hľadiska najmenej významný. Na druhej strane za technologicky najvýznamnejší môžeme považovať ovos a následne za ním jačmeň a pšenicu.

Aktivita alfa-amylázy v analyzovaných vzorkách

Tabuľka 3

ODRODA	OA ($\mu\text{kat.dm}^{-3}$)	Obsah B (mg.ml^{-1})	ŠA ($\mu\text{kat.mg}^{-1}\cdot 10^{-4}$)
Cereálie			
Ovos Vendelín	2,69	4,91	5,48
Ovos Alego	0,79	5,03	1,57
Ozimná raž Nikita	2,69	5,64	4,77
Ozimná raž Stal	2,22	5,15	4,31
Pšenica Rada	1,75	5,25	3,34
Pšenica Astela	2,69	5,64	4,77
Jačmeň Kompakt	1,27	5,64	2,25
Jačmeň Nitran	1,75	5,25	3,32
Priemer	1,98	5,31	3,73
Minimum	0,79	4,91	1,57
Maximum	2,69	5,64	5,48
Smerodajná odchýlka	0,67	0,27	1,26
Variačný koeficient	33,84	5,14	33,86
Pseudocereálie			
Amarant Olpir	0,79	5,15	1,53
Amarant Burgundy	1,98	5,77	3,43
Pohánka Pulawska	0,79	4,72	1,67
Pohánka Aiva	2,22	5,40	4,11
Priemer	1,45	5,26	2,69
Minimum	0,79	4,72	1,53
Maximum	2,22	5,77	4,11
Smerodajná odchýlka	0,66	0,38	1,11
Variačný koeficient	45,71	7,26	41,43

Vysvetlivky: OA – objemová aktivita, OB – obsah bielkovín, ŠA – špecifická aktivita

V našej práci sme ďalej hodnotili osivársku a technologickú kvalitu zrna na základe aktivity alfa-amylázy a proteázy (neutrálna, kyslá a zásaditá), ktoré sú lokalizované v oblasti klíčku a aleurónovej vrstvy zrna. V naklíčenom zrne sa enzýmová aktivita zvyšuje

Amylázy a proteázy zaraďujeme do skupiny hydrolytických enzýmov. Mobilizujú zdroje nízkomolekulárnych látok, ktoré sú prekursorami pre syntézu zásobných látok, regulačne vplývajú na priebeh a rozsah tvorby a využitia zásobných látok v endosperme (Michalík, 1998).

Význam pšeničných amyláz, predovšetkým alfa-amylázy, je v ich schopnosti ovplyvňovať technologickú kvalitu zrna, ako aj pekársku kvalitu produktov.

Z výsledkov (tabuľka 3) môžeme konštatovať že hodnoty špecifickej aktivity alfa-amylázy boli vyššie pri cereáliách (v priemere $3,73 \mu\text{kat.mg}^{-1}10^{-4}$) v porovnaní s pseudocereáliami (v priemere $2,69 \mu\text{kat.mg}^{-1}10^{-4}$). Najvyššie hodnoty špecifickej aktivity sme zistili v ovse, ($5,48 \mu\text{kat.mg}^{-1}10^{-4}$) a raži, ($4,77 \mu\text{kat.mg}^{-1}10^{-4}$), zatiaľ čo najnižšie hodnoty sme detegovali v amarante ($1,53 \mu\text{kat.mg}^{-1}10^{-4}$).

Alfa – amyláza aj proteázy narúšajú škrobovo - bielkovinový komplex gluténu, ktorý potom stráca svoju schopnosť vytvoriť a zachytiť dostatočné množstvo CO_2 v pekárskom procese, čo má za následok zníženie kvality kysnutého produktu (Muchová, 2007).

Aktivita neutrálnych proteáz v analyzovaných vzorkách

Tabuľka 4

ODRODA	OA ($\mu\text{kat.dm}^{-3}$)	Obsah B (mg.ml^{-1})	ŠA ($\mu\text{kat.mg}^{-1}$)
Cereálie			
Pšenica Rada	4782,24	4,60	1,04
Pšenica Astela	4345,32	4,54	0,96
Ovos Vendelín	3921,57	4,66	0,84
Ovos Alego	1960,78	4,60	0,43
Ozimná raž Nikita	3921,57	5,40	0,73
Ozimná raž Stal	1960,78	5,03	0,39
Jačmeň Kompakt	1960,78	4,72	0,42
Jačmeň Nitran	1960,78	4,79	0,41
Priemer	3101,73	4,79	0,65
Minimum	1960,78	4,54	0,39
Maximum	4782,24	5,40	1,04
Smerodajná odchýlka	1168,44	0,27	0,25
Variačný koeficient	37,67	5,65	38,97
Pseudocereálie			
Amarant Olpir	5882,35	5,15	1,14
Amarant Burgundy	3921,37	5,03	0,78
Pohánka Pulawska	7843,14	4,48	1,75
Pohánka Aiva	5882,35	5,77	1,02
Priemer	5882,30	5,11	1,17
Minimum	3921,37	4,48	0,78
Maximum	7843,14	5,77	1,75
Smerodajná odchýlka	1386,56	0,46	0,36
Variačný koeficient	23,57	8,97	30,51

Vysvetlivky: OA – objemová aktivita, OB – obsah bielkovín, ŠA – špecifická aktivita

Aktivita zásaditých proteáz v analyzovaných vzorkách

Tabuľka 5

ODRODA	OA ($\mu\text{kat.dm}^{-3}$)	Obsah B (mg.ml^{-1})	ŠA ($\mu\text{kat.mg}^{-1}$)
Cereálie			
Pšenica Rada	8342,34	5,03	1,65
Pšenica Astela	7134,45	4,91	1,45
Ovos Vendelín	14 170,04	4,12	3,44
Ovos Alego	6 072,87	4,17	1,46
Ozimná raž Nikita	10121,46	4,96	2,04
Ozimná raž Stal	14170,04	5,28	2,67
Jačmeň Kompakt	10121,46	4,48	2,26
Jačmeň Nitran	12145,75	4,22	2,88
Priemer	10339,25	4,65	2,23
Minimum	7134,45	4,12	1,45
Maximum	14170,04	5,28	3,44
Smerodajná odchýlka	2319,90	0,42	0,68
Variačný koeficient	22,44	9,10	30,29
Pseudocereálie			
Amarant Olpir	12145,75	4,48	2,71
Amarant Burgundy	22267,21	5,77	3,86
Pohánka Pulawska	4048,58	5,08	0,80
Pohánka Aiva	16164,33	5,03	3,22
Priemer	13656,47	5,09	2,65
Minimum	4048,58	4,48	0,80
Maximum	22267,21	5,77	3,86
Smerodajná odchýlka	6614,91	0,46	1,14
Variačný koeficient	48,44	8,99	43,13

Vysvetlivky: OA – objemová aktivita, OB – obsah bielkovín, ŠA – špecifická aktivita

Štiepenie peptidových väzieb v bielkovinách a peptidoch až na aminokyseliny katalyzujú proteázy, ktoré sú aj dôležitým znakom kvality zrna (Michalík et al., 2006).

Stanovovali sme aktivitu zásaditých, kyslých aj neutrálnych proteáz. Z výsledkov vyplýva (tab. č. 4-6), že špecifická aktivita je najvyššia pri kyslých proteázach, konkrétne pri pseudocereáliách v priemere $7,95 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ (najvyššia hodnota bola v pohánke Pulawska $12,78 \mu\text{kat.mg}^{-1}$). Naopak najnižšie hodnoty sme zistili pri neutrálnych proteázach (pri cereáliách v priemere $0,65 \mu\text{kat.mg}^{-1}$ a pri pseudocereáliách v priemere $1,17 \mu\text{kat.mg}^{-1}$). Najnižšia hodnota bola detegovaná v raži Stal $0,39 \mu\text{kat.mg}^{-1}$.

Aktivita kyslých proteáz v analyzovaných vzorkách

Tabuľka 6

ODRODA	OA ($\mu\text{kat}\cdot\text{dm}^{-3}$)	Obsah B ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$)	ŠA ($\mu\text{kat}\cdot\text{mg}^{-1}$)
Cereálie			
Pšenica Rada	4657,97	5,03	0,93
Pšenica Astela	4943,02	4,29	1,51
Ovos Vendelín	1960,78	4,72	0,42
Ovos Alego	12549,02	4,22	2,97
Ozimná raž Nikita	28 627,45	4,05	7,07
Ozimná raž Stal	4313,73	4,48	0,96
Jačmeň Kompakt	40392,16	4,48	9,02
Jačmeň Nitran	3921,57	4,54	0,86
Priemer	10391,18	4,48	2,98
Minimum	1960,78	4,05	0,42
Maximum	40392,16	5,03	9,02
Smerodajná odchýlka	12632,89	0,29	3,06
Variačný koeficient	121,57	6,38	102,97
Pseudocereálie			
Amarant Olpir	43529,41	4,29	10,14
Amarant Burgundy	17647,06	4,54	3,89
Pohánka Pulawska	58 039,22	4,54	12,78
Pohánka Aiva	22352,94	4,48	4,99
Priemer	27843,14	4,46	7,95
Minimum	17647,06	4,29	3,89
Maximum	43529,41	4,54	12,78
Smerodajná odchýlka	11257,02	0,10	3,65
Variačný koeficient	40,43	2,30	45,95

Vysvetlivky: OA – objemová aktivita, OB – obsah bielkovín, ŠA – špecifická aktivita

Naše výsledky môžeme zhodnotiť za vyhovujúce, pričom môžeme povedať že sa zhodujú s prácami viacerých autorov, ktorí zistili že aktivita alfa-amyláz a proteáz v suchom a zdravom zrne dosahujú nízke hodnoty (Michalík et al., 2006).

Urmínská a Michalík (1996) vo svojej práci uvádzajú, že pre zrno vysokej kvality je charakteristická nízka aktivita hydrolytických enzýmov (amyláz a proteáz) v plnej zrelosti zrna, čo umožňuje ich dobrú skladovateľnosť a takisto určuje technologickú kvalitu zrna. Na základe týchto poznatkov môžeme považovať naše vzorky analyzovaných genotypov za kvalitné.

ZÁVER

Cieľom bakalárskej práce bola biochemická charakteristika štyroch druhov cereálií (pšenica, raž, ovos, jačmeň) a dvoch druhov pseudocereálií (amarant, pohánka), z hľadiska nutričnej a technologickej kvality a ich možného využitia pre bezlepotú diétu. Na základe získaných experimentálnych výsledkov sme dospeli k nasledovným záverom:

- Najvyšší obsah hrubých bielkovín medzi našimi analyzovanými vzorkami sme zistili v pšenici Astela 11,99 % a v ovse 11,94 %, zatiaľ čo najnižší obsah bol v pšenici Rada 8 %.
- Najvyššie zastúpenie albumínov a globulínov vykazovala pohánka, v priemere 58,16 % a amarant 53,86 %, čo svedčí o ich vysokej nutričnej kvalite. Na druhej strane najnižšie zastúpenie albumínov a globulínov sme detegovali v jačmeni 25,51 % a v pšenici 25,70 %.
- Zásobné bielkoviny rozhodujú o technologickej kvalite múky. Z uvedeného pohľadu najvyššie zastúpenie lepkových bielkovín vykazoval jačmeň Kompakt 66,72 %, potom pšenica letná v priemere 63,78 % a najnižšie zastúpenie sme zistili v pseudocereáliách v priemere 24,37 %.
- Všetky analyzované vzorky vykazovali nízku aktivitu alfa – amyláz a proteáz, čo svedčí o ich dobrej technologickej kvalite a osivárskej hodnote.
- Na základe získaných biochemických ukazovateľov môžeme pohánku a amarant zaradiť do skupiny plodín s dobrou nutričnou kvalitou, ktoré sú vhodné na prípravu bezlepkových potravín. Pšenicu, raž, ovos a jačmeň s vyšším obsahom zásobných bielkovín hodnotíme sa obilniny s dobrou technologicou kvalitou.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BAJČI, P. et al. 1994. *Hodnotenie surovín rastlinného pôvodu*. Nitra : VŠP - VES, 1994, 244 s. ISBN 80-7137-127-0.
2. BERAN, M. – KOPICOVÁ, Z. – URBAN, M. – ADÁMEK, L. – MATUŠOVÁ, K. Potravinárske využití amarantu v ČR - realita a budoucí perspektivy. In *Výživa a potraviny*. ISSN 1211-846X, 2008, roč. 63, č. 2, s. 35-37.
3. BEŽO, M. 1998. Metódy molekulovej biológie, genetiky a biotechnológií v šľachtení pšenice na kvalitu. In: *Kvalita zrna pšenice: Zborník referátov z prvej vedeckej konferencie*. Nitra: SPU, 1998. s. 21 – 23. ISBN 80-7137-505-5.
4. BURÁKOVÁ, E. et al. 2005. Vplyv enzýmovej hydrolýzy na zmeny prolaminovej frakcie pšenice. In *Agriculture*, roč. 51, 2005, č. 11, s. 561 – 567. ISSN 0551-3677.
5. CICLITIRA, P. J. 2001. AGA Technical review on coeliac sprue. In *Gastroenterology*, vol. 120, 2001, p. 1526-1540.
6. ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. 1998. *Stanovení odrůdové pravosti pšenice a ječmene elektroforézou bílkovinných genetických markerů*. Praha: ÚZPI, 1998. 60 s. ISBN 80-86153-83-5.
7. DOLINA, J. – HEP, A. – PŘECECHTĚLOVÁ, M. 2003. Dráždivý tračník – diagnostická a terapeutická úskalí. In *Interní medicíny pro praxi*, 2003, č. 5, s. 236.
8. DRÁPAL, J. et al. 2003. *Potravinová přecitlivělost: alergie a intolerance* [online] aktualizované 2003. [online review]. Dostupné na internetovej stránke: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/vvpdokumenty.htm>.
9. ĎURIŠ, I. – HULÍN, I. – BERNADIČ, M. 2001. *Princípy internej medicíny - Gastroenterológia*. 2. časť. Bratislava : SAP, 2001. 2951 s. ISBN 80-88908-69-8.
10. ETTLEROVÁ, K. – KOHOUT, P. 2005. *Funkční poruchy a alergie*. Dostupné na internetovej stránke: https://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/3141_6661.html.
11. FERENČÍK, M. – ŠKÁRKA, B. – NOVÁK, M. – TURECKÝ, L. 2000. *Biochémi*a. Bratislava: FABER, 2000. s. 241 – 261. ISBN 80-88908-58-2.
12. FRANČÁKOVÁ, H. et al., 2005. *Hodnotenie poľnohospodárskych produktov*. Nitra: SPU, 2005. 177 s. ISBN 80-8069-287-4.

-
13. FUČÍKOVÁ, T. 1997. *Klinická imunologie v praxi*, 2. vyd. Praha : Galén, 1997. s. 222 – 223. ISBN 80-85824-57-4.
 14. GAJDOŠOVÁ, A. – HOZOVÁ, B. Amarant - netradičná cereália. In *Výživa a zdravie*. ISSN 0042-9406, 2006, roč. 50, č. 3-4, s. 36-37.
 15. GÁLOVÁ, Z. 1997. *Dynamika biosyntézy bielkovín v zrne pšenice (Triticum aestivum L.) : habilitačná práca*. Nitra: SPU, 1997. 66 s.
 16. GÁLOVÁ, Z. 2001: Molekulárna identifikácia, diferenciacia a charakteristika zrna pšenice a jačmeňa. In *Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín: zborník referátov zo VII. Vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou*. Nitra: SPU, 2001. s. 84 – 87. ISBN 80-7137-915-8.
 17. GÁLOVÁ, Z. 2002. Genetické markery technologickej kvality zrna pšenice a jačmeňa. In *Mapovanie genómu zrna pšenice pre účely determinácie genetickej diverzity obilnín*. VEGA projekt č. 1/7648/20. Nitra: SPU, 2002.
 18. GÁLOVÁ, Z. – KNOBLOCHOVÁ, H. – GREGÁŇOVÁ, Ž. – STAROVIČOVÁ, M. 2003. Hodnotenie kolekcie zrna novošľachtencov pšenice letnej, z hľadiska biochemických ukazovateľov. In *Hodnotenie genetických zdrojov rastlín: zborník z 3. odborného seminára*. Piešťany: VÚRV, 2003. s. 36 -38.
 19. GÁLOVÁ, Z. – GREGÁŇOVÁ, Ž. – MICHALÍK, I. et al. 2006. *Biotechnológie v rastlinnej produkcii*. Nitra: SPU, 2006. 148 s. ISBN 80-8069-803-1.
 20. GIANIBELLI, M.J. et al. 2001. *Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat endosperm protein* [online review]. Dostupné na internetovej stránke: <http://www.aaccner.org/cerealchemistry/freearicle/gienibelli.pdf>.
 21. GOLIAN, J. 1998. *Ochorenia z potravín*. Nitra : SPU, 1998. 94 – 99 s. ISBN 80-7137-519-5.
 22. GONOR, K. V. – POGOZHEVA, A. V. – DERBENEVA, S. A. – MALTSEV, G. I. – TRUSHINA, E. N. – MUSTAFINA, O. K. The influence of a diet with including amaranth oil on antioxidant and immune status in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteidemia. In *Vopr Pitan*. ISSN 0042-8833, 2006, vol. 75, č. 6, s. 3-30.
 23. GREGÁŇOVÁ, Ž. – GÁLOVÁ, Z. – CHŇAPEK, M. 2004. Detekcia génov kódujúcich technologickú kvalitu pšenice pomocou DNA markerov. In *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe: Zborník z X. medzinárodného vedeckého seminára*. Nitra: SPU, 2004. s. 228 – 234. ISBN 80-8059-488-6.
-

-
24. GRONES, J. 1998. *Molekulárna biológia*. Bratislava: UK, 1998. 265 s. ISBN 80-223-1209-6.
 25. HOLEČKOVÁ, H. – MICHALÍK, I. 1993. Elektroforetická analýza gluténových bielkovín zrna pšenice. In *Polnohospodárstvo*, roč. 39. 1993. č. 11. s. 866 – 877.
 26. HUBÍK, K. – TICHÝ, F. 1998. Hodnocení technologický jakosti zrna potravinářské pšenice a možnosti jejího ovlivnění. In *Zborník referátov z I. vedeckej konferencie*. Nitra: SPU, 1998. s. 27 – 32.
 27. HUDEC, J. – TÓTH, J. – TOMÁŠ, J. 2002. *Organická chémia*. Nitra: SPU, 2002. s. 154 – 161. ISBN 80-7137-975-1.
 28. CHŇAPEK, M. – GÁLOVÁ, Z. – GREGÁŇOVÁ, Ž. 2004. Bielkovinové markery technologickej kvality zrna pšenice. In *Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe: Zborník z X. medzinárodného vedeckého semináru*. Nitra: SPU, 2004. s. 235 – 240. ISBN 80-8069-488-6.
 29. JODL, J. 1988. Dieta bezlepková při celiakii u dětí. Praha: Avicenum, 1988. 103 s.
 30. JURGOŠ, L. – KUŽELA, L. – HRUŠOVSKÝ, Š. et al. 2006. *Gastroenterológia*. Bratislava: VEDA, 2006. 663 s. ISBN 80-224-0893-X.
 31. KABÁTOVÁ, J. 2008. Celiakia. In *BEZlepku* [online]. 2008, roč. 2, č. 1, [cit. 2011-02-12]. Dostupné na internete: <<http://www.q-media.sk/bezlepku/bezlepku-2008.pdf>>.
 32. KAYSEROVÁ, H. 2004. Potravinová alergia. In *Via Practica*, 2004, č. 2, s. 90.
 33. KOHOUT, P. – PAVLÍČKOVÁ, J.. 1994. Celiakie: Dieta bezlepková. Čestlice: Pavla Momčilová, 1994. 120 s. ISBN 80-901137-6-1.
 34. KRAIC, J. 2002. Molekulárne markery – nástroj při zvyšování kvalitativních parametrov pšenice a jařmena. In *Nové poznatky z genetiky a šľachtenia polnohospodárskych rastlín. Šľachtenie obilnín na kvalitu : Zborník z 8. odborného seminára*. Piešťany: VÚRV, 2002. s. 28 -31.
 35. KRÁČMAR, S. – KUČEROVÁ, J. – CERKAL, R. – ZEMAN, I. 2004. *Hodnotenie genetických zdrojov rastlín*. Piešťany: VÚRV, 2004. s. 20 – 27. ISBN 80-88790-11-5.
 36. LUOSTARINEN, L. 2003. *Neurological manifestation in coeliac disease: Dissertation thesis*. Tampere : UOT, 2003. 81 p.
-

-
37. MICHALÍK, I. 1992. Vplyv agroekologických podmienok na tvorbu bielkovinového komplexu zrna pšenice. In *Rastlinná výroba*, roč. 38, 1992, č. 8, s. 346-351.
 38. MICHALÍK, I. 1994. Charakteristika cereálnych bielkovín, ich výživná kvalita a vplyv na zdravotný stav. In *Výživa a zdravie*, roč. 39, 1994, č. 8, s. 159 – 161, 185 – 186.
 39. MICHALÍK, I. 1998. Komponentná charakteristika a biosyntéza zásobných bielkovín zrna obilnín. In: *Kvalita zrna pšenice : zborník referátov z I. vedeckej konferencie*. Nitra : SPU, 1998, 7 – 12 s.
 40. MICHALÍK, I. 2005. *Biochémia*. 5.vyd. Nitra: SPU, 2005. 226 s. ISBN 80-8069-613-6.
 41. MICHALÍK, I. et al. 2006. Bielkovinový komplex zrna obilnín a pseudoobilnín In *Výživná a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*. Nitra: SPU, 2006. ISBN 80-7271-162-8.
 42. MICHALÍK, I. – BAUEROVÁ, M. 2001. Celiakálne ochorenie známe i neznáme. In *Výživa a zdravie*, roč. 46, 2001, č. 1, s. 10-12. ISSN 0042-9406.
 43. MICHALÍK, I. – KARLUBÍK, M. 1988. Nutičná kvalita bielkovín vo výžive monogastričných zvierat. In *Pol'nohospodárstvo*, roč. 34, 1988, č. 12, s. 1079-1088.
 44. MOLNÁROVÁ, J. – ILLÉŠ, L. – ŽEMBERY, J. 2009. *Rastlinná výroba I*. Nitra : SPU, 2009. ISBN 978-80-552-0194-8.
 45. MOWAT, A. 2003. Coeliac disease – a meeting point for genetics, immunology, and protein chemistry. In *The Lancet*, vol. 361, 2003, p. 1290 - 1292.
 46. MUCHOVÁ, Z. 1991. Pšenica ako potravinárska surovina: habilitačná práca. Nitra : VŠP, 1991, 114 s.
 47. MUCHOVÁ, Z. 1998. Aktuálne otázky technologickej kvality zrna potravinárskej pšenice. In *Kvalita zrna pšenice: zborník referátov z I. vedeckej konferencie*. Nitra: SPU, 1998. s. 38 - 40. ISBN 80-7137-505-5.
 48. MUCHOVÁ, Z. – ČUKOVÁ, Ľ. – MUCHA, R. 2000. Bielkovinové frakcie semena laskavca. In *Rostlinná výroba*. ISSN 0370-663X, 2000, roč. 46, č. 7, s. 331–336.
 49. MUCHOVÁ, Z. 2001. *Faktory ovplyvňujúce technologickú kvalitu pšenice a jej potravinárske využitie*. Nitra: SPU, 2001, s. 84-88. ISBN 80-7137-923-9.
-

-
50. MUCHOVÁ, Z. – FRANČÁKOVÁ, H. – BOJŇANSKÁ, T. – BAJČI, P. 2007. *Hodnotenie surovín a potravín rastlinného pôvodu*. Nitra : SPU, 2007. ISBN 978-80-8069-835-5.
 51. MURRAY, R. K. – GRANNER, D.K. – MAYES, P. A. – RODWELL, V. W. 1998. *Harperova biochemie*. Jinočany: H&H, 1998. s. 45 – 51. ISBN 80-8587-38-5.
 52. O'CALLAGHAN, CH. – STEPHENSON, T. 2005. *Pediatric do kapsy*. Praha: Grada avicenum, 2005. 448 s. OSBN 80-247-0933-3.
 53. PÁV, I. 2006. Celiakia v ambulantnej praxi. In *Via pract.*, roč. 3, 2006, č. 1, s. 22 – 24.
 54. PEKÁRKOVÁ, B. - PEKÁREK, B. - KABÁTOVÁ, J. 2009. Racionálna diagnostika a liečba celiakie. In *Metodický list racionálnej farmakoterapie* [online]. 2009, roč. 13, č. 1-2, s. 2 [cit. 2010-03-25]. Dostupné na internete: <<http://www.herba.sk/stiahni/metodicky-46-celiakia.pdf>>.
 55. PETR, J. – MICHALÍK, I – TLASKALOVÁ, H. – CAPOUCHOVÁ, I. – FAMĚRA, O. – URMINSKÁ, D. – TUČKOVÁ, L. – KNOBLOCHOVÁ, H. 2003. Extention of the spectra of plant products for the diet in coeliac disease. In *Czech Journal of Food Scientia*, roč. 21, 2003, č. 2, s. 59-70.
 56. PRUGAR, J. – HRAŠKA, Š. 1986. *Kvalita pšenice*. Bratislava: Príroda, 1986. 220 s.
 57. REPKA, J. – MICHALÍK, I. 1988. *Biochemicko – fyziologické základy šľachtenia rastlín*. Nitra: VŠP, 1988. 195 s.
 58. ROBINSON, F. 2002. *Potravinová alergia*. Bratislava : Výskumný ústav potravinársky, 2002. 23 s. ISBN 80-89088-08-2.
 59. RUTTKAY, L. 2009. Diagnóza: Celiakia In *Diabetik*, roč. 8, 2009, č. 4, s.
 60. SHAN, L. – MOLBERG, O. – PARROT, I. – HAUSCH, F. – FILIZ, F. – GRAY, G. M. 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. In *Science*, vol. 297, 2002, p. 2275-2279.
 61. SHEWRY, P. R. – HALFORD, N. G. – TATHAM, A. S: 1992. High-molecularweight subunits of wheat gluten. In *J. Cereal Sci*, vol. 15, 1992, p. 105 – 120.
 62. STAROVIČOVÁ, M. 2003. *Využitie genetického polymorfizmu zásobných bielkovín pri identifikácii a charakteristike genotypov pšenice : dizertačná práca*. Nitra: SPU, 2003. 64 s.
-

-
63. ŠAŠINKA, M. – KUČHTA, M. 1998. Celiakia, najčastejšia príčina chronickej poruchy výživy u detí. In *Lekársky obzor*, roč. 47, 1998, č. 1, s. 35-38.
 64. ŠKÁRKA, B. – FERENČÍK, M. 1992. *Biochémia*. Bratislava: Alfa, 1992. s. 321 – 334. ISBN 80-05-01076-1.
 65. TLASKALOVÁ, H. et al. 1999. Imunopatogenetické mechanizmy celiakie. In: *Trendy soudobé pediatrie*, roč. 1, s. 181 – 197.
 66. TRAKOVICKÁ, A. 1999. *Genetické polymorfne znaky a ich využitie pri hodnotení populácií hospodárskych zvierat : habilitačná práca*. Nitra: SPU, 1999.
 67. UHER, A. – ČERNÁ, I. – MEZEY, J. 2008. *Polné a záhradné plodiny*. Nitra : SPU, 2008. s. 10 – 18. ISBN 978–80-552-0036-1.
 68. URMINSKÁ, D. - MICHALÍK, I. 1996. Analýzy štartovacích enzýmov klíčenia zrna pšenice. In: *Rastlinná výroba*, roč. 42, 1996, č. 3, 97 – 100 s.
 69. ŽAJOVÁ, A. 2006. *Amaranthus L. - Láskevce ako netradičná potravina*. In *Zborník Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*. Nitra : SPU, 2006. s. 106. ISBN 80-8069-766-3.