

OPTIMALIZÁCIA IZOLÁCIE INULÍNU Z ČAKANKY OBYČAJNEJ (*CICHORIUM INTYBUS L.*) A JEHO NIEKTORÉ APLIKÁCIE V SPOLOČENSKEJ PRAXI

AUGUSTÍN J.

Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta potravinárskej technológie, Katedra potravinárskej technológie

SÚHRN

Optimalizácia izolácie inulínu z čakanky obyčajnej (*Cichorium intybus L.*) a jeho niektoré aplikácie v spoločenskej praxi

Táto štúdia sa zaoberá problematikou technologického spracovania čakanky obyčajnej (*Cichorium intybus*) za účelom izolácie fruktánového polysacharidu inulínu ($C_6H_{10}O_5$) a optimalizáciou jednotlivých výrobných stupňov extrakcie (spôsob čistenia suroviny pred samotnou extrakciou a purifikácie konečného produktu, teplota extrakčnej zmesi, expozičná doba extrakčného činidla, vplyv pH, optimalizácia modulu pre stanovenie najvhodnejšieho objemu extrakčného činidla, stanovenie najvhodnejšieho pomeru objemu etanolu pri vyzrážaní inulínu z reakčného prostredia). Dosiagnuté experimentálne výsledky sú porovnávané a hodnotené so zameraním na kvalitu (belosť) a výťažnosť získaného finálneho produktu. Ďalej sa práca zaoberá aj niektorými možnými aplikáciami inulínu vo farmaceutickej, medicínskej, kozmetologickej, potravinárskej a krmovínárskej oblasti.

K l ú č o v é s l o v á: inulín – fruktán – polysacharid – extrakcia – čakanka obyčajná

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 145–150

SUMMARY

Optimization of Isolation of Inulin from *Cichorium intybus L.* and Some of Its Uses in Social Practice

The study is concerned with the technological processing of chicory *Cichorium intybus* in order to isolate the fructan polysaccharide inulin ($C_6H_{10}O_5$) and the optimization of the individual production steps of extraction (the method of purification of the raw material prior to the extraction itself and purification of the final product, temperature of the extraction mixture, exposure period of the extraction agent, effect of pH, optimization of the module for the determination of the most suitable volume of the extraction agent, determination of the most suitable ratio of the volume of ethanol in the extraction of inulin from the reaction medium). The obtained experimental results are compared and evaluated with regard to quality (whiteness) and the yield of the obtained final product. The paper is also concerned with several possible uses of inulin in pharmaceutical, medical, cosmetic, food industrial, and fodder production fields.

K e y w o r d s: inulin – fructan – polysaccharide – extraction – *Cichorium intybus*

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 145–150

Má

Úvod

Stále narastajúci svetový trend vo vysokom príjme tukov a sacharidov v strave obyvateľstva a znížená spotreba vlákniiny spôsobujú celý rad vážnych ochorení. Práve pre tieto dôvody boli vyvinuté a ďalej úspešne sa vyvíjajúce nové alternatívne náhrady tukov a sacharidov na báze prírodných zdrojov^{1–3}). Jedným z významných zdrojov takejto náhrady v zdravej výžive je fruktózový polymér inulín³).

Čakanka, ako prírodný zdroj pre izoláciu inulínu

Rozšírené používanie prírodných aditívnych látok v rámci zvyšovania kvality finálnych výrobkov je podmienené využívaním surovínových zdrojov. Jednou zo surovín, ktorej sa venuje v poslednej dobe zvýšená pozornosť, je aj čakanka (v praženej forme známa ako cigória a ľudovo nazývaná korenie sv. Petra). Čakanka spĺňa základné kritéria kladené na modernú surovinu,

a to hlavne pre jej dostupnosť, vďaka zvládnutiu jej priemyselnej produkcie, ako aj možnosti komplexného využitia rozpustnej (inulín) a nerozpustnej vlákniny a charakteristických horkých látok⁴). Čakanka je dvojročná bylina a botanicky patrí do čeľade astrovitých – hviezdnicovitých (*Asteraceae*)⁵⁻⁷). Má veľmi dobrú farbiacu schopnosť, značný obsah polysacharidu inulínu a charakteristickú jemnú horkastú chuť a príjemnú vôňu. Práve pre tieto vlastnosti sa stala využívanou surovinou na prípravu známej kávoviny ako náhrada zrnkovej kávy⁸). Volne rastúca čakanka je známa v ľudovom liečiteľstve ako mierne laxatívum, cholagogum a stomachikum. Využíva sa aj pri zápalových ochoreniach pečene a pri rôznych gastrointestinálnych diagnózach^{5, 6}). V dnešných dobách čakanka patrí do skupiny najčastejšie geneticky modifikovaných rastlín, pričom génové manipulácie sú hlavne zamerané na zvýšenie odolnosti proti herbicídom, ďalej na reguláciu a zvýšenie obsahu inulínu a iných sprievodných látok v koreňovom systéme, ale i listových častiach a pukoch, ktoré sa stali vyhľadávanou lahôdkou na prípravu rôznych šalátov.

Inulín

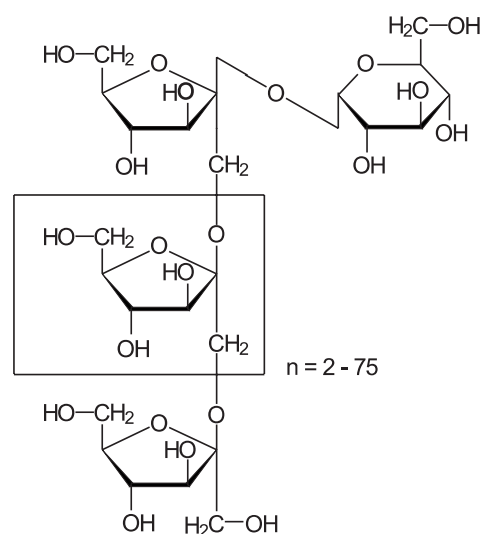
Polysacharid inulín sa syntetizuje v listoch rastlín pri asimilačných pochodoch, podobne ako škrob a ukladá sa tiež v semenách a podzemných častiach rastlín (koreň, hlúzy)^{4, 7}). Je sprevádzaný i inými, biologicky dôležitými látkami, ako napríklad seskviterpénmi, horčínami, slizmi, trieslovinami, enzýmami a pod. Inulín sa nachádza asi v tridsaťtisícoch rôznych druhov rastlín sveta. Najznámejšie u nás sú napríklad oman pravý (*Inula helenium* L.), slnečnica ročná (*Helianthus annuus* L.), topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), púpava lekárska (*Taraxacum officinale* L.), lopúch plstnatý (*Atractium tomentosum*), lopúch väčší (*Atractium lappa* L.), ostropes obyčajný (*Onopordion acanthii*), čierny koreň (*Scorzonera hispanica*), georgina (*Dahlia*), cibuľa (*Allium sativum*) a cesnak (*Allium cepa*)^{4, 7}).

Chemická štruktúra inulínu

Molekula inulínu z pohľadu jeho chemickej štruktúry predstavuje lineárny polysacharid, patriaci do skupiny fruktózanov, ktoré sú zložené z β -D-fruktofuranózových jednotiek spojených α -(1,2) glykozidovou väzbou. Počet fruktózových jednotiek v molekule inulínu (stupeň polymerizácie) závisí od pôvodu a stupňa zrelosti suroviny, ako aj od pôdoklimatických podmienok. Ich počet sa pohybuje v rozmedzí od 2 do 75⁹⁻¹¹). Na konci reťazca sa nachádza β -D-glukopyranózový zvyšok, ktorý je pripojený väzbou α -(1,2)⁶). Práve preto sa pri hydrolýze inulínu získajú i stopové množstvá sacharózy, čo potvrdili vo svojej práci Carpita et al., keď stanovili chemickú štruktúru tohto polysacharidu pomocou C -¹³ NMR spektroskopicky¹¹) (obr. 1).

Izolácia inulínu

Izolácia a presne definovaný popis výroby inulínu sa v dostupnej literatúre zatiaľ nevyskytuje. Vo všeobecnosti sa uvádza, že na výrobu tohto polysacharidu sa použí-



Obr. 1. Chemická štruktúra polysacharidu inulínu s väzbami α -(1,2) v lineárnom reťazci s pripojeným glukopyranózovým zvyškom v bočnom vetvení

va obdobný technologický postup ako na výrobu sacharózy z cukrovej repy, resp. z cukrovej trstiny. Ako surovina slúži zvyčajne surový koreň čakanky pre najvyššie percento obsahu inulínu¹³⁻¹⁵). Z citovaných literárnych údajov možno konštatovať, že samotný proces výroby je značne energeticky náročný, podobne ako výroba sacharózy. Extrakčné výťažky sú však nižšie ako pri spracovaní cukrovej repy na cukor. Na získanie inulínu je potrebná niekoľkonásobná rekryštalizácia a opakované premývanie vodou¹⁵). Postupy využívajúce ako vstupnú surovinu sušené čakankové korene nie sú zatiaľ v literárnych údajoch popísané. Aj to boli hlavné dôvody upriamiť pozornosť na extrakcie inulínu z takéhoto zdroja a sledovať jeho jednotlivé stupne extrakcie so zameraním sa nielen na zvýšenie výťažnosti, ale i kvality finálneho produktu.

Aplikácie inulínu v medicíne, farmaceutickej a kozmetickej praxi

V medicínskej praxi sa inulín považuje za liečebné diagnostikum, ktoré slúži ako referenčná látka pri zisťovaní funkčnosti obličiek, a pridáva sa ako zdroj energeticky bohatých látok (fruktóza) do živných médií, využívaných v mikrobiálnej praxi¹⁶). Inulín podobne ako aj ďalšie prírodné biopolysacharidy má schopnosť znižovať hladinu LDL cholesterolu v krvnom riečišti, pričom hladina HDL cholesterolu nie je ovplyvnená³).

Ďalej sa inulín využíva ako marker pri zisťovaní celkovej veľkosti extracelulárnych priestorov, čo priamo súvisí s glomerulárnou filtráciou obličiek¹⁶). Inulín sa pridáva ako hlavná, resp. ako vedľajšia zložka do komerčne vyrábaných čajových zmesí, určených hlavne pre liečbu ťažších i ľahších foriem diabetes mellitus^{5, 17}). Lamka¹⁶) popisuje liečebné účinky inulínu, keď tento polysacharid použil ako modelovú látku pri štúdiu faktorov, ovplyvňujúcich prenos liečiv cez bariéru krvného systému. Autori Mc. Thomas a Hollander¹⁸) a Gibbon¹⁹) študovali blahodárny vplyv inulínu na činnosť mikroflóry v hrubom čreve a na prítomnosť

bifido-baktérie, ako aj ďalšie baktérie nachádzajúce sa v zažívacom trakte a potvrdili utilizáciu inulínu týmito črevnými baktériami. Pozorovali tieto vznikajúce metabolity ako pozitívne ovplyvňovali celkové zdravie organizmu. V kozmetike sa fruktózy inulínového typu pridávajú do rôznych pleťových krémov, kde zlepšujú ich organoleptické vlastnosti a potencujú ich biologické účinky. Majú veľmi dobré vlhčiace vlastnosti, nie sú lepkavé a mazľavé ¹⁷⁾.

Aplikácie inulínu v potravinárskom a krmovinárskom priemysle

Pomerne vysoký obsah fruktózy v inulíne umožňuje široké uplatnenie vo výžive ako dietetikum. Inulín sa pridáva do rôznych diabetických cereálnych výrobkov (chlieb, pečivo). Takýto prídavok v spomínaných komponentov vytvára mäkkosť výrobkov a predlžuje ich trvácnosť ^{20–25)}. Inulín je nosnou zložkou, ktorá vplyvom vysokých teplôt pri pražení koreňa čakanky sa rozkladá za vzniku oximetylfurfutolu, zodpovedného za príjemnú vôňu a lahodnú chuť, ktorá pripomína chuť pravej zrnkovej kávy. V krmovinárskom priemysle sa inulín využíva spolu s ďalšími polysacharidmi v práškovej forme do rôznych krmných zmesí, doporučovaných hlavne pre odstavčatá a mladé jedince. Inulooligosacharidy majú priaznivý vplyv na vývoj somatických buniek v ranných štádiách vývoja organizmu. Inulín sa pridáva do nízkokalorických potravinárskych výrobkov pre obsah biologicky aktívnych látok, ale i pre priaznivý vplyv na senzorické vlastnosti týchto potravín ^{23, 25)}. Ďalej sa tento polysacharid používa ako prídavok (9 %) do niektorých konzervovaných mäsových výrobkov, kde pôsobí ako stabilizátor a ako prídavok (2 %) na zvýšenie nutritívnej hodnoty kyslej kapusty ²⁶⁾. Chemicky upravené rôzne polysacharidy fruktánového typu sa využívajú ako vhodné aditíva do zmrzlín, čokolád, majonéz, tvarohových plniek, ako aj do rôznych dressingov a kokteilov a popísané je aj využitie modifikovaného inulínu oxidačnou karboxylalkyláciou, hydroxylalkyláciou alebo kyanoetyláciou ako vhodná prísada do jedál, resp. ako pomocná látka s využitím vo farmaceutickom priemysle ^{24, 26)}.

POKUSNÁ ČASŤ

Materiál

Na experimentálne práce bol použitý sušený a narezaný koreň čakanky, poskytnutý spracovateľským závozom Kávoviny a.s. Sered'. Ďalší rastlinný materiál (koreň čakanky) bol zbieraný v jesennom období v lokalitách Bratislavy, Sv. Jura a Brezovej pod Bradlom, resp. bol zakúpený v obchodnej sieti špecializovaných lekární a laboratórne spracovaný na našom pracovisku (čistenie, triedenie, sušenie, rezanie). Všetky chemikálie a laboratórne prístroje boli poskytnuté laboratóriom Katedry potravinárskej technológie FChPT STU v Bratislave. Chemikálie boli p.a. čistoty. Použitá voda k extrakciám bola destilovaná a na čistiace a premývacie stupne v technologickom procese bola použitá iba pitná voda.

Metódy

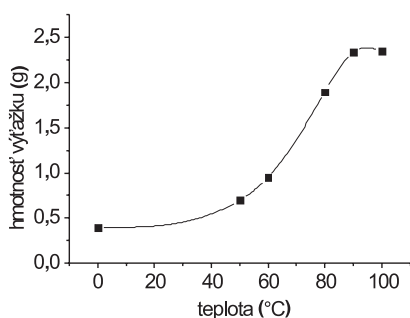
Polysacharid inulín bol izolovaný modifikovanou metódou podľa Pershaka a Wolfenhenera ¹²⁾, s využitím už doteraz známych poznatkov extrakcie tohto polysacharidu. Kyslá hydrolyza výsledného produktu bola uskutočnená podľa Boříška et al. ³¹⁾. Identifikácia jednotlivých produktov hydrolyzy bola uskutočnená metódou tenkovrstvovej chromatografie sacharidov podľa Davídka ³²⁾ a Praznika a Becka ³³⁾. Belosť reprezentatívnej série finálnych produktov bola stanovená podľa Očadílka et al. ³⁴⁾ na leukometri VEB Carl Zeiss Jena – 250856 modifikovanou metódou pozorovania s bielym štandardom MgO, ktorého remisia dosahovala hodnotu na prístroji 85,98, čo bolo považované za 100 %. Na bielenie produktu bola využitá aj metóda s využitím adsorbčných schopností aktívneho uhlia, ktorá však neprinesla očakávaný efekt (ťažká filtrovateľnosť pri separácii aktívneho uhlia filtráciami, opakované centrifugácie, ako aj zdĺhavosť a energetická náročnosť. Pôsobenie 30% peroxidu vodíka na belosť inulínu bolo veľmi účinné a malo v niektorých prípadoch i vplyv na mierne zvýšenie výťažku inulínu ^{27, 29)}.

Extrakcie

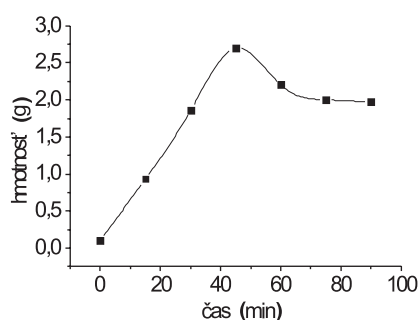
Na izoláciu a purifikáciu inulínu sú známe extrakcie, ktoré prebiehajú buď v zásaditom vodnom prostredí ^{12, 27)}, kyslom ²⁸⁾, alebo s využitím enzýmových systémov ²⁹⁾. Ešte pred samotnou extrakciou suroviny boli zaradené do izolačného postupu dva až tri stupne, v ktorých bola surovina sušenej čakanky pretriedená. Mechanicky boli odstránené rôzne kontaminujúce zložky (prachové častice a ďalšie prítomné nečistoty). Samotné extrakčné postupy boli uskutočnené pri zistenej optimálnej teplote 96 °C v destilovanej vode za mierného miešania. Extrakčné prostredie bolo optimalizované a upravené na pH=6,5–8,0 prídavkom tlmivého fosforečnanového roztoku ³⁰⁾ a bolo sledované v rozmedzí pH od 3,0–13.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

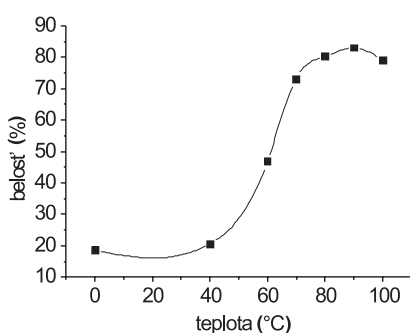
Izolácie inulínového, ale i iných typov polysacharidov z rastlinných materiálov, predstavujú ako už bolo spomenuté, zložitý komplex operácií, zahŕňajúci extrakcie v rôznych prostrediach, upravovaných chemickými prídavnými látkami. V rastlinnom materiáli sú spolu s polyfruktózami prítomné i ďalšie kontaminujúce látky, ktorých separácia sa uskutočňuje náročnými metódami. Tieto a ďalšie faktory majú vplyv na samotnú výťažnosť a čistotu konečného produktu. Preto i cieľom tejto štúdie bolo v maximálnej miere eliminovať nevýhody doteraz známych izolačných postupov a skúmať ich optimalizáciu podmienok, vyhovujúcim súčasným náročným požiadavkám, spĺňajúcich požadované hľadiská na spracovateľskú technológiu a výrobu surovín. Ako vyplynulo z výsledkov zaradenie čistiaceho a triediaceho stupňa vstupnej suroviny (čakanka) ešte pred samotnou extrakciou malo pozitívny vplyv na celkovú belosť a čistotu (okolo 8–10 %) konečného preparátu oproti produktom, získaných bez týchto tzv. čistiacich predstupňoch. Jednalo sa však iba o mechanické triedenie a čistenie čakanky, nakoľko použitie jedného, resp. troch a viac premývacích stupňov s využitím vody sa ukázalo málo efektívne. Bolo zaznamenané čiastočné vyplavovanie inulínu a vo finálnom produkte to zhruba predstavovalo



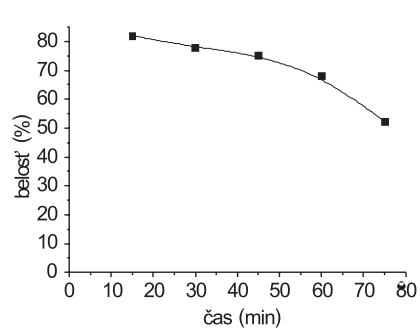
Obr. 2. Závislosť množstva výťažku od teploty extrakčnej zmesi



Obr. 4. Závislosť množstva výťažku od expozičnej doby extrakčného činidla



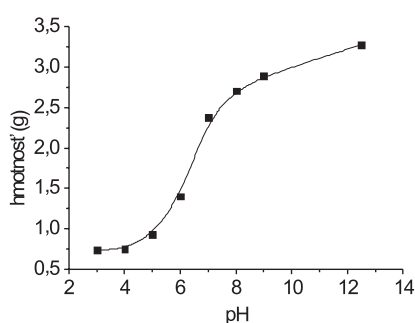
Obr. 3. Závislosť belosti výťažku od teploty extrakčnej zmesi



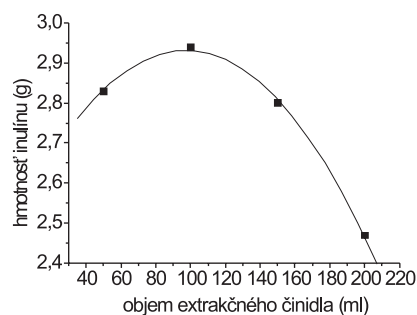
Obr. 5. Závislosť belosti výťažku od expozičnej doby extrakcie

až 25 % pokles hmotnosti výťažku inulínu a jeho belosť bola porovnateľná iba s dosiahnutou belosťou inulínu, získaného bez využitia operácií vodným premývaním. Zaradenie práve mechanickej separácie vstupnej suroviny ešte pred extrakčným postupom bolo jedným z dôležitých stupňov optimalizácie prípravy inulínu a v dostupnej literatúre sa tento poznatok zatiaľ neuvádza. Ďalej bolo potvrdené, že teplotné optimum extrakčnej zmesi je v rozmedzí 90–100 °C (obr. 2). K podobným záverom dospeli vo svojej práci i Yamazaki a Matsumoto²⁸⁾ a zároveň táto teplota súvisí i s najvyššou možnou dosiahnutou belosťou (obr. 3). Zhodnotenie vplyvu expozičnej doby, počas ktorej prebieha extrakcia inulínu, je znázornená na obrázku 4. Bola zistená optimálna doba extrakcie čakanky (45 minút). V doterajších extrakčných postupoch sa tento časový interval doporučoval predlžovať až na dobu 60 min¹²⁾. Bolo zistené, že práve predlžovanie času extrakcie (expozičnej doby) nemá očakávaný efekt vo zvýšení hmotnosti a belosti konečného produktu, ale naopak postupný jeho pokles. Najvyššia intenzita belosti preparátu bola zaznamenaná po 15 minútovej expozícii (obr. 5), avšak celkový výťažok predstavoval len 15 %. V prípade extrakcií, ktorých doba expozície trvala až 120 minút, dochádzalo k deštrukciám rastlinných pletív, čo dodávalo konečnému produktu hnedošedý nádych. Z výsledkov ďalej vyplynulo, že v kyslom prostredí optimálna doba extrakcie oproti zásaditému a neutrálnemu prostrediu sa skraca. K podobným záverom dospeli i autori Perschak a Wolf-

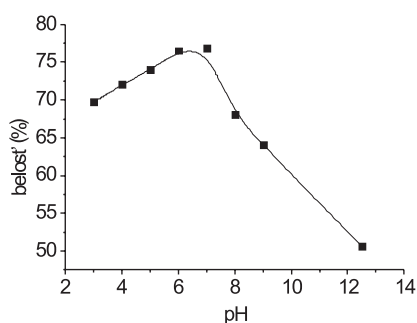
lehner¹²⁾. Sledovaním vplyvu pH extrakčného prostredia na výsledné parametre bolo potvrdené, že inulín je možné izolovať v kyslej, zásaditej i neutrálnej oblasti (obr. 6). Na využitie toho správneho pH prostredia na izoláciu polysacharidov všeobecne vládnu medzi autorami rôzne, až protichodné názory^{12, 15, 27, 29)}. V tejto práci boli optimálne výsledky dosiahnuté pri hodnotách pH=6,5–8. Zdá sa to ako vhodné riešenie z ekonomického, ale i z ekologického hľadiska. Pri použití vyšších hodnôt (pH=9 až pH=12,5) bolo zistené, že vo finálnych vzorkách narastá značné zvýšenie obsahu nežiadúcich prímiesí a minerálnych látok, čo malo negatívny dopad na farebnosť inulínu. Najvyššiu belosť mal konečný preparát pri pH=6,7 (obr. 7). Ďalším optimalizačným stupňom v tejto práci bolo zistenie závislosti množstva získaného výťažku od použitého objemu extrakčného činidla. Ako je znázornené na obrázku 8, boli testované štyri rôzne objemy extrakčných činidiel a ich vplyv na extrakciu polysacharidu inulínu. Z výsledkov vyplýva, že najvyšší výťažok bol dosiahnutý pri použití objemu (surovina:extrakčné činidlo, 10:100) keď sa výťažok pohyboval okolo hodnoty 29,3 %. Na obrázku 9 je znázornené použitie rôznych objemov a ich vplyv na belosť produktu. Pri použití pomeru (10:50) bol výťažok v tomto prípade o niečo nižší (28,4 %), ale výsledok najlepši z pohľadu hodnotenia belosti. Z týchto dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že izolácia inulínu s použitím nižšieho množstva extrakčného činidla je síce náročnejšia na mechanické operácie (priebežné mieša-



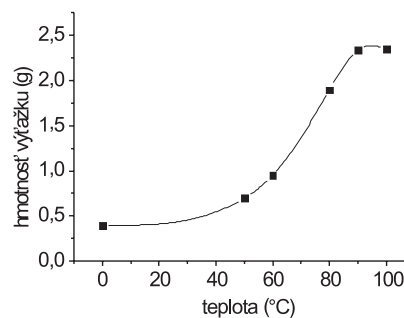
Obr. 6. Vplyv pH extrakčného prostredia na výťažok inulínu



Obr. 8. Závislosť množstva výťažku od použitého objemu extrakčného činidla



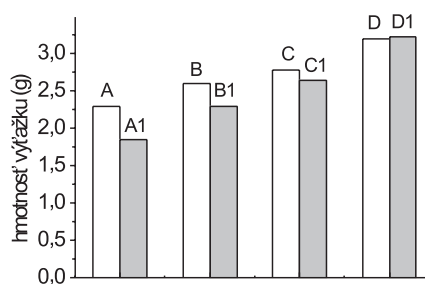
Obr. 7. Vplyv pH extrakčného prostredia na belosť inulínu



Obr. 9. Závislosť belosti výťažku od použitého objemu extrakčného činidla

nie, opakované filtrácie a pod.), avšak predstavuje výrazné nižšie náklady a získaný produkt má dobré organoleptické vlastnosti. Niektorí autori vo svojich štúdiách tento parameter izolácie inulínu buď vôbec nezverejňujú, alebo uvádzajú jeho širšie rozpätie v rozmedzí od 30 ml do 300 ml na 1 g suroviny (čakanky). Na obrázku 10 je znázornený vplyv rôznych objemov 96% etanolu (zrážací pomer) a použitia rôznych pomerov zahustenia filtrátu na výťažok inulínu. Zvyšovaním objemu etanolu pri vyzrážaní sa získava väčšie množstvo zrazeniny, avšak získaná zrazenina ďalším zvyšovaním objemu etanolu výrazne mení konzistenciu. Z jemných bielych vlákien prechádza na drobné kryštáliky nežiaducej hnedšej farby, ktoré sú veľmi ťažko filtrovateľné. Bol zistený optimalizovaný objem použitia 96% etanolu na vyzrážacie reakcie inulínu z roztoku, ako aj vplyv na jeho výťažnosť v pomere 1:2. Pre technologickú prax sa javí použitie tohto zrážacieho pomeru za optimálne. Ďalšie zvýšenie množstva hmotnosti menej belšieho výťažku pri vyšších zrážacích pomeroch je zanedbateľné oproti niekoľkokrát znásobenému množstvu použitého, finančne nákladného etanolu. Tieto údaje v doterajších prácach väčšinou absentujú, i keď tvoria veľmi dôležitý parameter samotnej izolácie inulínu so značným dopadom na výťažnosť a belosť produktu. Zahusťovanie získaného filtrátu doporučujú viacerí autori³⁵⁻³⁷. Experimentálnym overením bolo zistené, že zahusťovanie filtrátu má pozitívny vplyv na mierny vzostup výťažnosti. Postupné zahustenie o 20 % zvýši výťažok inulínu o 10 % oproti nezahusťovanému filtrátu. Zahustenie o 20 % zvýši výťažok až o 20 % a pod. (obr.

10). Možno však konštatovať, že z hľadiska energetických nárokov na zahusťovanie je zvýšený výťažok málo efektívny. Optimalizovaním jednotlivých stupňov izolácie polysacharidu inulínu z koreňa čakanky sme získali až o 20 % väčšie výťažky oproti doteraz známym klasickým izolačným technológiám inulínu o požadovanej čistote. Uvedený navrhovaný technologický postup izolácie inulínu z prírodného materiálu minimalizuje náročnosť na jednotlivé extrakčné stupne a poskytuje ľahko oddeliteľný produkt. Po jeho dôkladnom vysušení, mletí a preosiatí získame jemnú práškovitú látku. Takýto produkt je primeranej belosti s využitím vo farmaceutickom, potravinárskom a kozmetickom priemysle, ale i v krmovínárskej a veterinárnej oblasti a pod.



Obr. 10. Vplyv rôznych zrážacích objemov etanolu (96%) na výťažok inulínu, zrážací pomer A, B, C, D (reakčná zmes: etanol). Vplyv rôzneho pomeru zahustenia filtrátu na výťažok inulínu, pomer zahustenia (A1, B1, C1, D1) A¹ – bez zahustenia filtrátu, B¹ – 20% zahustenie, C¹ – 40%, D¹ – 60% zahustenie

LITERATÚRA

1. **Rebertfroid, M. B.:** Br. J. Nutr., 2002; 87, 139.
2. **Rebertfroid, M. B., Slavin, J.:** Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2002; 40, 461.
3. **Augustín, J.:** Čes. a slov. Farm., 1998; 47, 10.
4. **Špaldon, E. et al.:** Rastlinná výroba. Bratislava, Príroda, 1982, s. 451.
5. **Kresánek, J., Krejča, J.:** Atlas liečivých rastlín a lesných plodov. Martin, Osveta, 1982, s. 345.
6. **Tomko, J. et al.:** Farmakognózia. 1. vyd. Martin, Osve-ta-Avicenum, 1989, s. 424.
7. **Ernst, M.:** Agnew. Bot., 1991; 65, 319.
8. **Augustín, J.:** Povídaní o kávě. Kávovníkové zrno (Coffea arabica), káva a kávoviny jako významnépotravinařské pochutiny. Olomouc, Fontána, 2003, s. 354.
9. **Karlson, P.:** Základy biochemie. Praha, Akademie, 1981 s. 345.
10. **French, A.D.:** Carbohydr. Res., 1988; 176, 17.
11. **Carpita, N. C. et al.:** Carbohydr. Res., 1991; 217, 127.
12. **Pershak, F., Wolflehner, L.:** Zuckerindustrie, 1990; 6, 466.
13. **Samek, Z., Šilhár, S., Polívka, L.:** Bulletin PV 34, 1995; 19.
14. **Baxa, S.:** Czech. J. Food Sci., 1998; 16, 72.
15. **Bubník, Z., Korčáková, I., Kadlec, P. et al.:** Potravní Vědy, 1997; 15, 49.
16. **Lamka, J.:** Pol. J. Pharmacol., 1992; 44, 147.
17. **Rubcov, V.G.:** Zelená lékárna. Praha, Lidové nakladatelství, 1985, s. 154.
18. **Mc Thomas, Y., Hollander, D.:** Gastroenterology, 1995; 42, 262.
19. **Gibbon, G. R.:** Gastroenterology, 1995; 28, 271.
20. **Roland, N. et al.:** J. Nutr., 1988; 118, 840.
21. **Fusch, A.:** Starch, 1987; 39, 335.
22. **Velíšek, J.:** Chemie potravin, 1.vyd. Tábor, OSSIS, 1999, s. 352.
23. **Griffin, I. J., Davila, P. M., Abrams, S. A.:** Br. J. Nutr., 2002; 87, 179.
24. **Franck, A.:** Br. J. Nutr., 2002; 87, 287.
25. **Gupta, A. K. et al.:** J. Chem. Technol. Biotechnol., 1988; 42, 69.
26. **Knudsen, K., Hesov, I.:** Br. J. Nutr., 1995; 174, 101.
27. **Malý, E.:** Pat. CS 262630, 1989.
28. **Yamazaki, H., Matsumoto, K.:** Pat.USA 13377, 1986.
29. **Tamani H. et al.:** Pat. EP 429077, 1991.
30. **Perelman, P. I.:** Malá chemická příručka. Bratislava, SNTL, 1995, s. 435.
31. **Boříšek, L. et al.:** Technická kontrola pri výrobe buničiny. Bratislava, SNTL, 1957, s. 138.
32. **Davídek, J. et al.:** Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL, 1977, s. 234.
33. **Praznik, W., Beck, R. H. F.:** J. Chromatogr., 1985; 348, 187.
34. **Očadilek, J. et al.:** Laboratorné cvičenia z textilnej chémie. Bratislava, Edič. Stredisko FChPT, 1980, s. 140.
35. **Klaushofer, H. et al.:** Zuckerindustrie, 1988; 113, 209.
36. **Augustín, J., Kuniak, L.:** Čes. a slov. Farm., 1995; 44, 314.
37. **Flickinger, E. A., Van Loo, J., Fahey, G. C.:** Crit. Rev. Sci. Nutr., 2003; 43, 19.

Došlo 1. 11. 2004.

Přijato ke zveřejnění 10. 12. 2004.

doc. PharmDr. Jozef Augustín, PhD.
Radlinského 9, 812 37 Bratislava, SR
e-mail : jozef.augustin@stuba.sk

Katalog kongresů, konferencí, symposií a přednášek
počínaje rokem 2005 nebude vycházet ve své tradiční tištěné podobě, ale elektronicky.
Akce odborných lékařských společností a spolků ČLS JEP najdete na adrese:
www.cls.cz/katalog