



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STUDIUM PŘÍTOMNOSTI FENOLICKÝCH LÁTEK A JEJICH ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY V POTRAVINÁŘSKÝCH PRODUKTECH S OBSAHEM PLODU ŠÍPKOVÉ RŮŽE (ROSA CANINA L.)

STUDY OF THE PRESENCE OF PHENOLIC SUBSTANCES AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY
IN FOOD PRODUCTS CONTAINING ROSEHIP (ROSA CANINA L.)

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Vendula Hronová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1686/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Vendula Hronová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium přítomnosti fenolických látek a jejich antioxidační aktivity v potravinářských produktech s obsahem plodu šípkové růže (*Rosa canina* L.)

Zadání bakalářské práce:

1. Literární rešerše na zadané téma (typy fenolických látek vyskytujících se v ovoci a jejich účinky na zdraví, využití alternativních sladidel v potravinářství, charakterizace složení a účinků různých „superpotravin“).
2. Příprava džemů z plodu šípkové růže za využití různých druhů sladidel.
3. Charakterizace džemů (obsah sacharidů, fenolických látek, pektinu, vitamínu C, antioxidační vlastnosti).
4. Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Vendula Hronová
student(ka)

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce sledovala obsah bioaktivních látek a antioxidační aktivitu v džemech připravených z plodů šípkové růže (*Rosa canina* L.). Džemy byly slazeny různými sladidly, třtinovým cukrem, řepným cukrem, erythritolem a stévií. Také byly stanoveny reologické vlastnosti džemů. Vlastnosti domácích šípkových džemů byly porovnány s komerčním.

Dalším cílem bylo zjistit, zda mohou vedlejší produkty získané po výrobě džemů sloužit jako prospěšné zdroje bioaktivních látek po přípravě vodných extraktů.

Obsah sacharidů, polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita byly stanoveny v džemech a vodných extraktech spektrofotometricky. Dále byla provedena spektrofotometrická detekce pektinu, chemická charakterizace džemů pomocí infračervené spektrometrie a spektrofotometrické stanovení barvy džemů. Byl zjištěno, že koncentrace bioaktivních látek v džemech byla ovlivněna geografickou lokalitou, časovými a povětrnostními podmínkami při sklizni. Reologické vlastnosti a obsah pektinu v džemech byli ovlivněny typem použitého sladidla.

Hodnocení extraktů připravených z vedlejších produktů po výrobě džemů a ze sušených plodů šípku ukázalo vysoký obsah bioaktivních látek a vysokou antioxidační aktivitu ve všech testovaných vodných extraktech. Bakalářská práce poukazuje na to, že z plodů šípku je možné připravit džemy a následně vodné extrakty s vlastnostmi superpotravin.

KLÍČOVÁ SLOVA

Růže šípková, džemy, bioaktivní látky, sladidla, pektin, antioxidační aktivita

ABSTRACT

This bachelor's thesis monitored the content of bioactive substances and antioxidant activity in the jams made of the fruit of rose hips (*Rosa canina* L.). The jams were sweetened with various sweeteners such as cane sugar, beet sugar, erythritol and stevia. Moreover, the rheological properties of jams were determined. The properties of home-made jams prepared from rosehip fruit were compared with the commercial jam.

Another aim was to determine whether the by-products received after the production of jams could serve as beneficial sources of bioactive substances after the preparation of water extracts.

The content of carbohydrates, polyphenols, flavonoids, and antioxidant activity were determined in jams and extracts spectrophotometrically. Next, the spectrophotometric detection of pectin, the chemical characterization of jams by infrared spectrometry, and the spectrophotometric determination of the jam colour were performed. The concentration of bioactive substances in jams was influenced by the geographical location and the time and weather conditions of harvest. The rheological properties and pectin content of the jams depended on the type of the used sweetener.

The assessment of the water extracts prepared from the by-products after jam production and from the dried fruits of rosehip showed the high content of bioactive substances and high antioxidant activity in all tested extracts. The presented work points out that it is possible to prepare jams with superfood properties from the fruit of rose hips and extracts with high antioxidant activity.

KEYWORDS

Rosehip, jams, bioactive compounds, sweeteners, pectin, antioxidant activity

HRONOVÁ, Vendula. *Studium přítomnosti fenolických látek a jejich antioxidační aktivity v potravinářských produktech s obsahem plodu šípkové růže (Rosa canina L.)*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131431>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Adriána Kovalčík.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucí bakalářské práce paní doc. Ing. Adriáně Kovalčík, Ph.D., za její ochotu, trpělivost, odborné rady při práci v laboratoři a také konzultace, které byly při zpracovávání výsledků velmi nápomocné. Poděkování patří také Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D., Ing. Martinu Szotkowskému Ph.D., prof. Ing. Michalu Veselému CSc. a Ing. Vojtěchu Enevovi Ph.D. za pomoc při provádění experimentů. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Ing. Pavlu Vostrejšovi za cenné rady a pomoc při práci v laboratoři. Velké poděkování patří také mé rodině za podporu v průběhu studia.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Růže šípková.....	9
2.1.1	Obecná charakteristika	9
2.1.2	Složení plodu.....	9
2.1.3	Využití šípků	10
2.2	Bioaktivní látky	12
2.2.1	Vitamin C	12
2.2.2	Fenolické sloučeniny	13
2.2.3	Karotenoidy	16
2.2.4	Účinky šípku na zdraví.....	16
2.3	Marmelády a džemy	17
2.3.1	Alternativní sladidla v potravinářství	18
2.4	Superpotravy.....	21
2.4.1	Rakytník řešetlákový	21
2.4.2	Spirulina	22
2.4.3	Borůvky	22
2.4.4	Kustovnice cizí	22
3	Experimentální část.....	23
3.1	Seznam použitých přístrojů a vyhodnocovacích programů.....	23
3.2	Seznam použitých chemikálií	23
3.3	Analyzované vzorky	25
3.3.1	Příprava džemů.....	25
3.3.2	Příprava vodných extraktů	25
3.4	Analýzy.....	26
3.4.1	Příprava vzorků džemů pro jednotlivá stanovení.....	26
3.4.2	Stanovení obsahu sacharidů	26
3.4.3	Stanovení celkových fenolických látek.....	27
3.4.4	Stanovení celkových flavonoidů	27
3.4.5	Stanovení antioxidačních vlastností	27
3.4.6	Stanovení vitamínu C	28
3.4.7	Stanovení pektinu	29
3.4.8	Stanovení celkových karotenoidů pomocí HPLC	30
3.4.9	Kolorimetrie	30
3.4.10	Měření FTIR spekter džemů.....	31
3.4.11	Reologická měření	31
3.4.12	Statistická analýza	31

4	Výsledky a diskuze.....	32
4.1	Vlastnosti džemů	32
4.1.1	Obsah sacharidů	32
4.1.2	Obsah celkových polyfenolů.....	34
4.1.3	Obsah celkových flavonoidů.....	35
4.1.4	Antioxidační aktivita.....	36
4.1.5	Obsah pektinu.....	38
4.1.6	Reologické vlastnosti	39
4.1.7	Barva	40
4.1.8	Chemické složení	41
4.2	Vlastnosti vodných extraktů	43
4.2.1	Obsah sacharidů	43
4.2.2	Obsah celkových polyfenolů.....	44
4.2.3	Obsah celkových flavonoidů.....	45
4.2.4	Antioxidační aktivita	46
4.3	Obsah karotenoidů v džemech a vodném extraktu	47
4.4	Obsah vitaminů v džemech a vodných extraktech	48
4.4.1	Obsah vitamínu C.....	48
4.4.2	Obsah cholekalciferolu.....	49
4.4.3	Obsah ostatních vitamínů	50
5	Závěr.....	51
6	Seznam použitých zdrojů	52
7	Seznam použitých zkratk a symbolů	57

1 ÚVOD

Potrava člověka je velmi komplexní. V čerstvých poživatinách můžeme nalézt kolem půl milionu různých chemických sloučenin. Další látky vznikají při skladování, kulinárním nebo průmyslovém zpracování potravin, reakcemi enzymovými a neenzymovými. Nejdůležitější přirozenou látkou z potravin jsou živiny s výživovou a energetickou hodnotou. Mezi ně patří bílkoviny, tuky, cukry a voda, také vitaminy a minerální látky, které jsou z výživového pohledu často esenciální a musíme je tedy přijímat potravou [1].

S růstem světové populace souvisí ubývání přírodních zdrojů. Díky tomu mají až dvě miliardy obyvatel celého světa chronické nedostatky mikroživin. Hledají se tedy nové přírodní zdroje potravy. V průběhu let byly nalezeny dosud nevyužité zdroje, které mají potenciál fungovat jako funkční potravina, tedy potravina se schopností vyživovat, neboť obsahuje množství bioaktivních látek s pozitivním vlivem na lidské zdraví. Právě jedním z mála využívaných nutričních zdrojů je růže šípková [2].

Šípky jsou známy bohatým obsahem fenolických látek, také důležitým zdrojem vitamínu C. Používají se díky tomu jako pomocné léčivo při chřipce, infekcích, zápalových onemocněních a chronických bolestech. Nacházejí uplatnění také v kosmetickém průmyslu díky benefičním účinkům na pleť. V potravinářském průmyslu se zpracovávají do potravin a nápojů, těmi jsou nejčastěji čaje, marmelády a džemy [3].

Sladidla mají v potravinách mnoho funkcí. Nejvýznamnější je vytváření sladké chuti, také se podílejí na Maillardově reakci a ovlivňují kvalitu potravin. Podle směrnice WHO by cukr neměl představovat více než 10 % denního kalorického příjmu. Džemy a marmelády obsahují asi 60 % cukru, který do značné míry ovlivňuje jejich vlastnosti. Jeho úplné vynechání z hlediska konzervace i senzorických vlastností je omezené. Nahrazení cukru jinými sladidly možné je, avšak výrobky mohou vykazovat odlišné vlastnosti, jako například nižší kyselost a výraznější synergezi.

Tato bakalářská práce si klade za cíl stanovit koncentraci sacharidů, fenolických látek, pektinu, vitamínu C a antioxidační vlastností v doma vyrobených džemech a tyto vlastnosti porovnat s džemem koupeným. Dalšími cíli je u jednotlivých druhů džemů zjistit, zdali má na výsledky vliv druh použitého sladidla a způsob výroby. Snahou bylo také využít šípky celé, proto byly porovnány extrakty z odpadního produktu z výroby džemů a ze sušených šípků.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Růže šípková

2.1.1 Obecná charakteristika

Růže šípková, lat. *Rosa canina* L., je planý keř z čeledi růžovitých (*Rosaceae*). Čeleď *Rosaceae* obsahuje zhruba 150 zaznamenaných druhů, z nichž všechny rostou na severní polokouli. Růže šípková roste divoce v Evropě, severozápadní Africe a západní Asii. Často ji můžeme nalézt na lesních okrajích, svazích a mezích, spíše na slunných nebo polostinných místech [4, 5].

Jedná se o rozložitý, bohatě větvený trnitý keř, který může dorůst až do výšky 3 m. Listy růže šípkové jsou lichozpeřené, palistnaté a ostře pilovité. Květy jsou bílé nebo růžové s baňkovitou číškou a s pěti kališními listy, se kterými se střídá pět dvoulaločnatých opadavých korunních plátků. Doba kvetení se pohybuje od června do července [6].

Plodem jsou šarlatové červené šípky lat. *Fructus cynosbati*. Z morfologického hlediska je považujeme za nepravý plod, protože se na jeho stavbě podílejí jak jednotlivé plody (nažky), tak i češule květu a květní lůžko. Šípky jsou lysé, mají vejčitý až kulovitý tvar a uvnitř jsou chlupaté. Ke sběru dochází v době dokonalé zralosti, to je na přelomu září a října. Pro využití ve fytoterapii je nejlepší sbírat dosud nezměkklé šípky před prvním mrazem [4, 7, 8].

2.1.2 Složení plodu

Šípky se skládají z 30–35 % ze semen, zbylých 65–70 % je tvořeno dužinou. V porovnání s ostatními druhy ovoce i zeleniny mají vysoký obsah vitamínu C. Jeho množství se v extraktu ze šípků pohybuje mezi 0,56 a 3,73 mg na 1 g sušiny. Bylo prokázáno, že nejvíce vitamínu C je obsaženo v plně uzrálých plodech. V nich může být jeho množství až šestkrát vyšší než u plodů nezralých. Obsah vitamínu C v dužině ovlivňuje dále nadmořská výška [5, 9].

Šípek obsahuje několik skupin biologicky aktivních látek. Těmi jsou sacharidy, organické kyseliny, pektiny, vitaminy, mastné kyseliny a třísloviny. Plod je bohatý na obsah fenolických látek včetně flavonoidů (antokyany, prokyanidiny, katechin, quercetin) a fenolových kyselin, jako je kyselina gallová a ellagová. Také karotenoidy (včetně lykopenu, β -karotenu, zeaxantinu) a tokoferoly. Je cenným zdrojem minerálních látek, převážně vápníku, draslíku a fosforu. Obsah základních složek, minerálních látek a vitaminů zobrazuje tabulka 1 [5, 10].

Semena šípků jsou bohatá na olej a minerální látky. Z mastných kyselin v nich nalezneme hlavně kyselinu linolovou, olejovou, linolenovou, palmitovou, stearovou a arachidonovou [11].

Tabulka 1: Nutriční hodnoty šípku [12]

Základní složky [g·kg ⁻¹]							
Voda	Sušina	Bílkoviny	Lipidy	Sacharidy	Popeloviny	Vláknina	
490,00	510,00	36,00	4,40	220,00	30,00	224,00	
Minerální látky [mg·kg ⁻¹]							
Ca	Fe	Na	Mg	P	Cl	K	
1800,00	180,00	140,00	550,00	540,00	63,00	3200,00	
Vitaminy [mg·kg ⁻¹]							
A	B1	B2	B6	B9	C	E	P a bioflavonoidy
40,00	0,46	0,50	0,05	0,02	3500,00	10,00	200,00

2. 1. 3 Využití šípků

Šípky se používají k přípravě pokrmů po celém světě. Mají své uplatnění i v tradiční medicíně. Nejčastěji bývají konzumovány jako čaje. Používají se k přípravě řady potravinářských produktů, jimiž mohou být omáčky, marmelády, džemy, sirupy, vína, likéry, ale i nealkoholické nápoje. Trendem poslední doby je užívat šípek jako ingredienci do probiotických nápojů, jogurtů a polévek. Díky obsahu vysokého množství účinných látek jsou šípky také potenciálním kandidátem pro výrobu funkčních potravin a přírodních léčiv [5, 9].

2. 1. 3. 1 Čaj

Čaj se připravuje ze sušených plodů růže šípkové, které se zalijí horkou vodou. Tepelnou úpravou se však ztrácí značné množství vitamínu C. Čaj má kvůli obsahu pektinu povzbuzující účinek na činnost střev, reguluje tak jejich funkci. Šípky můžeme nalézt v urologických čajových směsích a čajích proti chřipce. Dá se také použít čaj ze šípkových jader, který pomáhá při léčbě ledvinových kamenů, dny a revmatu [4].

2. 1. 3. 2 Šípkový prášek

Jde o sušený a následně drcený plod šípkové růže. Může se použít buď za tepla k vaření čaje, nebo za studena do vody, ovocných šťáv, nebo smoothie. V některých zemích Evropy je řazen mezi potravinové suplementy díky prokázaným protizánětlivým účinkům. Podle klinických studií pomáhá redukovat osteoartritu kolene nebo kyčle. Je také používán k léčbě revmatoidní artritidy a zánětů [5].

2. 1. 3. 3 Šípkový olej

Za studena lisovaný olej ze semen růže šípkové se používá kvůli svým potenciálním účinkům na léčení kožních problémů (jizvy, dermatitida, akné, ekzém a popáleniny). Je též cennou surovinou pro výrobu přírodní kosmetiky a produktů péče o pleť, kvůli obsahu esenciálních mastných kyselin, karotenoidů a vitamínu A [5].

2. 1. 3. 4 Tinktura

Jedná se o slazený alkoholický nápoj vyráběný ochucením ethanolu bylinkami, ovocem, květy, nebo kořeny rostlin. Nevyrábí se pouze pro své sensorické vlastnosti, ale také kvůli pozitivnímu efektu na zdraví. V průběhu macerace se do finálního produktu vyloučí cenné bioaktivní sloučeniny a antioxidační látky. Tinktura připravená ze šípků obsahuje těchto látek celou řadu, hlavně fenolické látky a vitamin C.

Tabaszešska a Najgebauer-Lejko ve své studii [10] sledovali vliv technik zpracování a uchovávání šípků na koncentraci fenolických látek, vitaminu C a antioxidační aktivity připravených tinktur. Autoři studie zjistili, že odstranění semínek z plodů růže šípkové zvyšuje antioxidační aktivitu připravených tinktur. U čerstvých šípků s odstraněnými semínky se získá větší množství celkových polyfenolů a vitaminu C v porovnání s celým plodem šípků. Jako nejvhodnější a nejšetnější postup pro uchovávání šípků bylo vyhodnoceno zamrazování [10].

2.2 Bioaktivní látky

Rostliny a jejich plody mohou být cennými zdroji chemických látek, které mají mnoho využití. Například při výrobě léčiv (steroidy a alkaloidy) nebo při použití v potravinářském průmyslu jako přídavné látky (přírodní aroma a barviva). Díky jejich farmaceutickým nebo toxikologickým účinkům bývají tyto sloučeniny označovány jako bioaktivní látky. Patří mezi ně sulfidy, polyfenoly, flavonoidy, fenolové kyseliny, glukaráty, karotenoidy, kumariny, monoterpeny, triterpeny, ftalidy, isothiokyanáty, lignany, polyacetyleny a další. Najdeme je v košťálové, tykvovité a lilkovité zelenině, česneku, křenu, v citrusových plodech i v dalším ovoci, zeleném čaji, v obilovinách a sóji. Jejich účinek je těžce nahraditelný uměle vyrobenými suplementy a preparáty [11, 13].

Přírodní materiály a rostliny obecně mají velkou chemodiverzitu. Často obsahují struktury, které není možno syntetizovat kvůli strukturní složitosti nebo stereospecifitě. V rostlinách bývají tyto bioaktivní sloučeniny produkovány jako sekundární metabolity. Vznikají různými biologickými cestami, jejich podstatou je ochrana rostlin před biotickým nebo abiotickým stresem a hrají důležitou roli v přirozeném růstu a obraně rostlin [11, 14].

Mnoho klinických i epidemiologických studií jasně prokázalo existenci vztahu mezi stravou a zdravím člověka. Tato zjištění vedla ke zvýšení zájmu o potraviny, které by nebyly pouhým zdrojem živin, ale byly by rovněž schopny působit proti spoustě nemocí, jako jsou rakovina, kardiovaskulární poruchy a cukrovka, nebo by uměli posílit imunitu. Právě proto je potřebné vytyčit potenciální zdravotní výhody potravin rostlinného původu jako bohatý zdroj bioaktivních látek a detailně charakterizovat jejich fytonutrienty a biologickou aktivitu [9].

2.2.1 Vitamin C

Kyselina askorbová je základní biologicky aktivní sloučenina. Ze čtyř možných izomerů vykazuje aktivitu jen L-askorbová kyselina, ta se také může označovat jako vitamin C. Askorbová kyselina je syntetizována všemi zelenými fotoautotrofními rostlinami. Esenciální je pouze pro lidi, primáty, morčata a některé další živočichy, kteří ji nedokážou syntetizovat (absence enzymu gulonolaktonoxidas) [1][15].

Tvoří bezbarvé, ve vodě rozpustné krystaly, jeho chuť je kyselá. Vykazuje malou odolnost vůči teplu a oxidaci, jeho obsah se tedy snižuje tepelným zpracováním nebo za přístupu kyslíku. Ke snížení obsahu dochází zvláště za přítomnosti kovů, pozor bychom si tedy měli dávat na používání kovového nádobí a nožů [15].

Funkce askorbové kyseliny souvisí hlavně s jejími redoxními vlastnostmi. Jejím oxidovaným produktem je méně účinný dehydroaskorbát, se kterým tvoří významný oxidoredukční systém. Jako vitamin C se někdy může označovat celý oxidoredukční systém kyselina L-askorbová ↔ kyselina L-monodehydroaskorbová ↔ kyselina L-dehydroaskorbová, který je schopný poskytnout protony H⁺ a fungovat jako antioxidant. Působí jako ochrana proti volným radikálům, může chránit ostatní antioxidanty (tokoferol a retinol) před oxidací [1, 15].

Kurděje jsou projevem deficience kyseliny L-askorbové. Jejich primárním příznakem je otok sliznic a vypadávání zubů. Nespecifickými příznaky nedostatku vitamínu C mohou být

únava nebo snížená imunita. Vitamin C najdeme v hojném množství v ovoci a zelenině, hlavně černém rybízu, šípkách, jahodách a citrusových plodech. Ze zeleniny pak v kapustě, paprice, brokolici a špenátu [15].

2. 2. 2 Fenolické sloučeniny

Fenolické sloučeniny nazývané také polyfenoly přispívají k antioxidačním vlastnostem ovoce, zeleniny a rostlin. Jako antioxidanty mohou fungovat díky své struktuře, chovají se jako redukční činidla, donory vodíku, či chelatační činidla kovů. Také oddalují degradaci tuků způsobenou oxidací, čímž zlepšují kvalitu a výživovou hodnotu potravin [16].

Skládají se z aromatického kruhu, který nese jednu nebo více hydroxylových skupin. Strukturně se velmi liší od jednoduchých molekul až po složité vysokomolekulární polymery. Mohou se dělit do těchto základních skupin: flavonoidy, fenolové kyseliny, stilbeny, lignany a taniny [17].

2. 2. 2. 1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou skupinou sekundárních metabolitů rostlin, skládají se z jednoho substituovaného fenolového kruhu. V rostlinách mohou existovat v různých formách (volné glykosidy, rozpustné estery) [18].

Mezi zástupce patří kyselina kávová, ferulová, gallová nebo chlorogenová, ta je z nich v potravě nejhojnější. Nacházejí se v kávě, bramborách a dalších druzích ovoce a zeleniny [19].

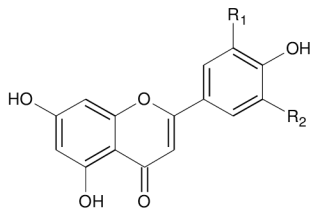
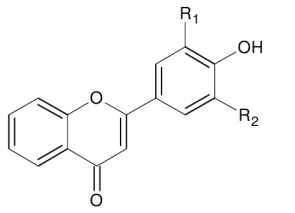
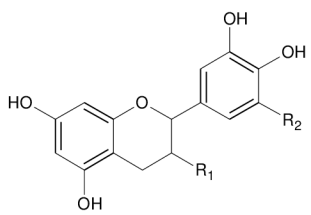
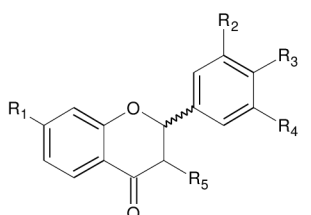
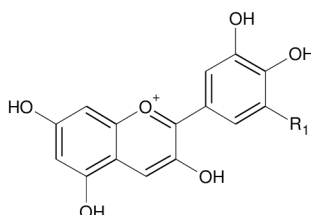
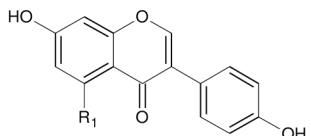
2. 2. 2. 2 Flavonoidy

Flavonoidní látky jsou rostlinné fenoly rozpustné ve vodě. Nalezneme je v ovoci, zelenině, zrninách, listech a v kůře stromů jako barviva. Ty, které vykazují biologickou aktivitu, jsou označovány jako bioflavonoidy. Některé z nich mohou vykazovat až 50krát větší antioxidační aktivitu ve srovnání s vitaminy C a E [20, 21].

Vykazují strukturní rozmanitost, která je způsobena různými stupni hydrogenace, hydroxylace, metylace a sulfonace molekul. Mají běžnou C6–C3–C6 strukturu, skládající se ze dvou aromatických kruhů, spojených tříuhlíkovým řetězcem, navíc mají centrální pyranový kruh. Flavonoidy se dělí na několik dalších podskupin. Nejdůležitější jsou uvedeny v tabulce 2, společně se svými zástupci a jejich výskytem v běžných potravinách [21, 22].

Katechiny patří mezi jejich zástupce, mají schopnost snížit hladinu LDL cholesterolu v krvi. Snižují pravděpodobnost výskytu zubního kazu a krvácení dásní. Najdeme je v zeleném čaji, hroznech a červeném víně. Dalším zástupcem je resveratrol, který také omezuje tvorbu LDL cholesterolu. Nachází se ve slupce a jádrech hroznů, současně červeným hroznům dodává barvu. Protatokyanidiny a antokyanidiny posilují kolagenní vazivo šlach a kloubů. Získávají se z jader hroznů, v malé míře jsou také obsaženy v listech a kůře různých rostlin [20].

Tabulka 2: Základní skupiny flavonoidů, zástupci a zdroje výskytu [22]

Flavonoid	Zástupci	Běžný potravinový zdroj (celkový obsah flavonoidů [mg·kg ⁻¹])
<p>Flavonoly</p> 	<p>Kvercetin Kemferol Myricetin</p>	<p>Ovoce: jablka (34), švestky (12), brusinky (170), jahody (39), hrozny (31) Zelenina: kapusta (35–321), cibule (0,2–1096), brokolice (36–231), rajčata (3–191) Nápoje: červené víno (13 mg·l⁻¹), zelený čaj (39 mg·l⁻¹), černý čaj (30 mg·l⁻¹), hroznová šťáva (4 mg·l⁻¹)</p>
<p>Flavony</p> 	<p>Apigenin Luteolin</p>	<p>Zelenina: celer (130), zelené olivy (142), sladká paprika (11)</p>
<p>Flavan-3-oly</p> 	<p>Katechin Epigallokatechin Epigallokatechin gallát</p>	<p>Ovoce: jablka (84), švestky (23) Nápoje: zelený a černý čaj, červené víno (110), hroznová šťáva (5 mg·l⁻¹)</p>
<p>Flavanony</p> 	<p>Hesperetin Naringetin</p>	<p>Ovoce: pomeranč (577), citron (219) Nápoje: hroznová šťáva (2 mg·l⁻¹)</p>
<p>Anthokyany</p> 	<p>Kyanidin Delfinin</p>	<p>Ovoce: červené hrozny (92) Nápoje: červené víno (2 mg·l⁻¹), hroznová šťáva (2 mg·l⁻¹)</p>
<p>Isoflavony</p> 	<p>Genistein Daidzein</p>	<p>Luštěniny: sója (373–1403), cizrna (11–36)</p>

2. 2. 2. 3 *Stilbeny*

Stilbeny jsou substituované sekundární metabolity rostlin se strukturou C₆-C₂-C₆. Nacházejí se v malých množstvích v několika druzích rostlin. Zástupcem s antioxidačními účinky je *trans-resveratrol*, fungicidně působící látka, kterou produkují některé rostliny jako reakci na biotický a abiotický stres. Můžeme jej nalézt v luštěninách, hroznech (především ve slupkách červených hroznů). Dalším zástupcem je rhapontigenin (hydroxysubstituovaný stilben), je obsažen v reveni čeřitě (příbuzná rebarboře), která se používá pro své homeostatické účinky [21].

2. 2. 2. 4 *Lignany*

Jedná se o dimery typu (C₆-C₃)₂, které vznikají spojením dvou fenylpropanových jednotek. V rostlinách plní funkci ochrany proti patogenům, uplatňují se jako fytoestrogeny, antioxidanty i jako antikarcinogenní látky. Zástupců existuje několik stovek. Z potravin se lignany nacházejí v celozrnných výrobcích, rýži, luštěninách, ořechách a také v zelenině, ovoci a semenech. Například v sezamovém semínku najdeme sesamin, který má jak výborné antioxidační, tak i insekticidní účinky [21].

2. 2. 2. 5 *Taniny*

Termín tanin se používá pro biomolekulu skládající se z polyfenolů, obsahují dostatečné množství hydroxylových skupin a karboxylových skupin pro tvorbu komplexů s makromolekulami. V rostlinách jsou produkovány organelami odvozenými z chloroplastů, nacházejí se ve vakuolách a povrchovém vosku rostlin, kde působí jako ochrana proti predátorům. Dělí se na dvě kategorie, kondenzovatelné a hydrolyzovatelné. Kondenzovatelné taniny mají své využití hlavně v průmyslových výrobcích (koželužství), jako antikorozivní a balící materiál i ve výrobě potravy pro zvířata. Působí proti parazitům gastrointestinálního traktu, jsou také schopny zvýšit produkci mléčných bílkovin u krav. Hydrolyzovatelné taniny mají biologickou aktivitu, jsou u nich potvrzeny pozitivní účinky na lidské zdraví. Mohou se tak používat jako medikace, mají antimutagení, antikarcinogenní a antioxidační účinky [23].

2. 2. 3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou sloučeniny s antioxidačními účinky, které jsou široce rozšířené v přírodě, zvláště v ovoci, zelenině a květinách, jimž dávají červené, oranžové a žluté zbarvení. Jsou podtřídou isoprenoidních metabolitů produkovaných fotosyntetizujícími rostlinami, řasami, cyanobakteriemi, některými houbami a prokaryotními živočichy. Nejsou však produkovány živočichy, až na některé výjimky, ty je musí přijímat potravou [24].

Bylo identifikováno více než 1000 karotenoidů, všechny obsahují ve své struktuře polyenový řetězec s konjugovanými dvojnými vazbami. Tato specifická struktura způsobuje jejich barevnost. Jejich vlastnosti, jako reaktivita s volnými radikály, je učinily nezbytnými složkami lidské stravy. Tyto sloučeniny mají podíl na zmírnění nebo prevenci chronických nemocí u člověka (rakovina prsu, diabetes mellitus, oční choroby a kardiovaskulární onemocnění) [21, 22].

Některé karotenoidy jsou prekurzory vitamínu A (retinolu), jenž ovlivňuje kvalitu vidění, reakce imunitního systému a reprodukci. Nedostatek tohoto vitamínu je jedním ze závažných světových problémů. Postihuje kolem 250 milionů dětí předškolního věku a velký počet těhotných žen. Jako prekurzory vitamínu A fungují ty, které ve své struktuře obsahují β -kruh (α -, β -, γ -karoteny a β -kryptoxantin) [24].

2. 2. 4 Účinky šípku na zdraví

Historie používání plodu šípkové růže ve fytoterapii sahá až do starověku. Hippokrates doporučoval směs růží s olejem na léčení onemocnění dělohy. Ajurvédští lékaři používali plátky růží jako obklady povrchových ran a zánětů, také věřili, že okvětní plátky růží mohou působit jako mírné laxativum. Ve 12. století bylinářka Hildegarda z Bingeny doporučovala šípkový čaj jako počáteční léčbu pro téměř všechny choroby. Ve středověku sloužily k léčení jaterních a plicních onemocnění. Postupem času začaly být čaje ze sušených okvětních lístků růže doporučovány evropskými bylináři proti bolestem hlavy, mdlobám a také oparům. K léčbě se však používaly převážně okvětní lístky. Dužina plodů se používala pouze jako základ k přípravě léků. Vše se však změnilo ve 30. letech 20. století objevem vitamínu C. Pro jeho vysoký obsah jsou tyto plody doporučovány fytoterapeuty při mnoha typech onemocnění, hlavně nachlazení a chřipkách [26].

Používání šípků již v lidovém léčitelství je důkazem jejich příznivých účinků na zdraví. Kvůli jeho bohatému složení našel šípek mnoho uplatnění v prevenci a léčení různých neduhů. Mnoho klinických studií prokázalo jeho antioxidační a protizánětlivé účinky, dále má antibakteriální a antimutagenní efekt, je schopen regulovat množství lipidů a glukosy v krvi. Působí proti běžnému nachlazení, infekčním onemocněním, poruchám gastrointestinálního traktu, nemocem močového ústrojí a zánětlivým onemocněním [10, 27].

2.3 Marmelády a džemy

Podle směrnice rady 2001/113/ES se ovocem rozumí ovoce čerstvé, zdravé a očištěné. Ovocnou pulpou se rozumí jedlá část celého plodu, která byla nakrájena nebo rozdrcena. Ovocnou dření je jedlá část celého plodu, jež byla rozmělněna na dřevň propasírováním. Džemem je podle této směrnice výrobek obsahující směs cukrů, pulpy nebo dřevň jednoho nebo více druhů ovoce a vody o vhodné rosolovité konzistenci. Množství pulpy nebo dřevň použité k výrobě 1000 g džemu nesmí být u šípků menší než 250 g. Džem výběrový šípkový lze vyrábět výlučně ze šípků. Nemůže být smísen s jinými druhy (jablka, hrušky apod.). K výrobě džemu výběrového nesmí být použito méně než 350 g pulpy šípků na 1000 g konečného výrobku. Marmeládou je směs vody, cukrů a výrobku z citrusových plodů (pulpa, dřevň, šťáva, vodný extrakt, nebo kůra), zpracována do vhodné rosolovité konzistence [28].

Ovoce je většinou dostatečně kyselé a obsahuje dostatečné množství pektinu k zajištění požadované konzistence, avšak v některých případech jsou přidávány kyseliny a pektin k dosažení potřebného pH 3,0 a minimálního množství pektinu 1 %. Právě v těchto podmínkách dochází k tvorbě gelovitosti. Dále se gelová síť mezi pektinem a cukry tvoří zahříváním. Tímto procesem však může dojít k degradaci živin obsažených ve výrobku z důvodu termolability bioaktivní látek v ovoci. Ztráta bioaktivních látek může být způsobena dále koncentrací a druhem sladidla, vliv má i obsah pektinu. Pektin stabilizuje vysoce reaktivní sloučeniny, jako jsou antokyany, vodíkem nebo hydrofobní vazbou. Vznik těchto interakcí závisí na množství a stupni esterifikace obsaženého pektinu. Nízký stupeň esterifikace pektinu minimalizuje ztrátu bioaktivních sloučenin. Na stabilitu funkčních sloučenin má také vliv druh ovoce a způsob skladování [29].

Důvodem k výrobě těchto konzervovaných výrobků je omezená trvanlivost čerstvého ovoce. Díky konzervaci se stávají neomezeně dostupné. Džemy a marmelády mohou být vyrobeny ze všech jedlých plodů. Druhy plodů k výrobě se liší v závislosti na geografické poloze. V našich obchodech nejčastěji nalezneme výrobky z plodů u nás dostupných. Těmi bývají jahody, maliny, borůvky, meruňky, černý a červený rybíz, višně a švestky. Zřídka objevíme také výrobky z citrusů, angreštu a broskví. Šípkový džem je ve velkých obchodních řetězcích jen těžko k nalezení, ale mohli bychom jej hledat ve zdravých výživách a obchodech, které prodávají regionální výrobky od malovýrobců. Velkovýrobny se produkcí šípkového džemu nezabývají pravděpodobně z důvodu časově náročného sběru plodů, nízké výtěžnosti a tím způsobeného nižšího profitu.

2. 3. 1 Alternativní sladidla v potravinářství

Cukr je obvyklou surovinou, kterou nalezneme téměř v každé domácnosti. Je to právě sacharosa, která je lehce dostupná a lidmi nejběžněji konzumovaná. V současnosti lidská populace zkonsumuje přibližně 165 milionů tun cukru, což odpovídá 23 kilogramům na osobu za rok. Existují jisté obavy o zdraví, které souvisí s vysokým množstvím přijímaného cukru. Mezi ně patří větší pravděpodobnost výskytu obezity, metabolického syndromu nebo cukrovky. Díky tomu roste zájem o potraviny s redukováným množstvím cukru, proto je snaha vyrábět potravinářské produkty s použitím sladidel jiných než cukr [30, 31].

Právě zdravotní, ale také výživové a ekonomické aspekty vedly k zavedení náhradních sladidel. Jejich fyzikální, chemické i organoleptické vlastnosti jsou odlišné, což vede k problémům při tvorbě nových výrobků. Aby bylo sladidlo schopno úspěšně nahradit sacharosu při výrobě potravin, musí být nejprve stanovena koncentrace sladidla, která bude mít sladkost ekvivalentní se sacharosou. Je též potřeba, aby použití sladidla nebylo v rozporu s legislativními normami, bylo slučitelné s konkrétní potravinou a bylo co nejvíce chuťově podobné původnímu produktu (s použitím sacharosy) [1, 30].

Jako náhradní sladidla se mohou používat pouze látky uvedené v tabulce 3. Tyto sloučeniny neovlivňují hladinu glukosy v krvi, jelikož nejsou zdrojem žádné energie. Jejich výhodou je také to, že nejsou kariogenní. Za náhradní sladidla se nepovažují v potravinách se přirozeně vyskytující sacharidy (glukosa, fruktosa, sacharosa, laktosa a jiné) a včelí med [1, 32].

Nevýživová sladidla jsou ta, která nejsou zdrojem energie a nemají tak výživovou hodnotu. Většina z nich je syntetizována chemicky a jejich sladivost je velmi silná, jsou tedy ekonomicky výhodnější, protože jich stačí menší množství. Patří mezi ně aspartam, sacharin, acesulfam-K, cyklamát, neohesperidin DC, sukralosa, thaumatin, také glykosidy steviolu a přírodní extrakt ze stévie (*Stevia rebaudiana*). Díky své nízké kalorické hodnotě se stala velmi oblíbenými. Paradoxně ale existuje velmi málo důkazů, které by dokázaly, jestli mají pozitivní nebo negativní vliv na obezitu a cukrovku. Jedním z omezení nevýživových sladidel je to, že neposkytují stejnou fyziologickou odezvu jako ta výživová. Předpokládá se, že spouštějí jakýsi nejednoznačný psychobiologický signál, který vede ke zvýšení chuti k jídlu, což může být kontraproduktivní při použití v dietních produktech. Přestože byla schválená sladidla podrobena přísným regulačním předpisům, existují obavy ohledně jejich bezpečnosti při dlouhodobém používání [31].

Výživová sladidla jsou zdrojem energie a mají tak výživovou hodnotu. Patří mezi ně monosacharidy, disacharidy a cukerné alkoholy. Nejběžnějšími sladidly jsou v současnosti kukuřičný sirup (glukosa a fruktosa) a stolní cukr (sacharosa). Patří mezi ně také polyoly, deriváty sacharidů, které se běžně vyskytují v ovoci, zelenině a fermentovaných potravinách, ale dají se také vyrábět chemickou cestou. V porovnání s cukry jsou v lidském těle špatně absorbovány, a tak poskytují méně kalorií a nižší glykemickou odpověď. Tyto vlastnosti je učinily populárními jako sladidla pro lidi trpící cukrovkou [31].

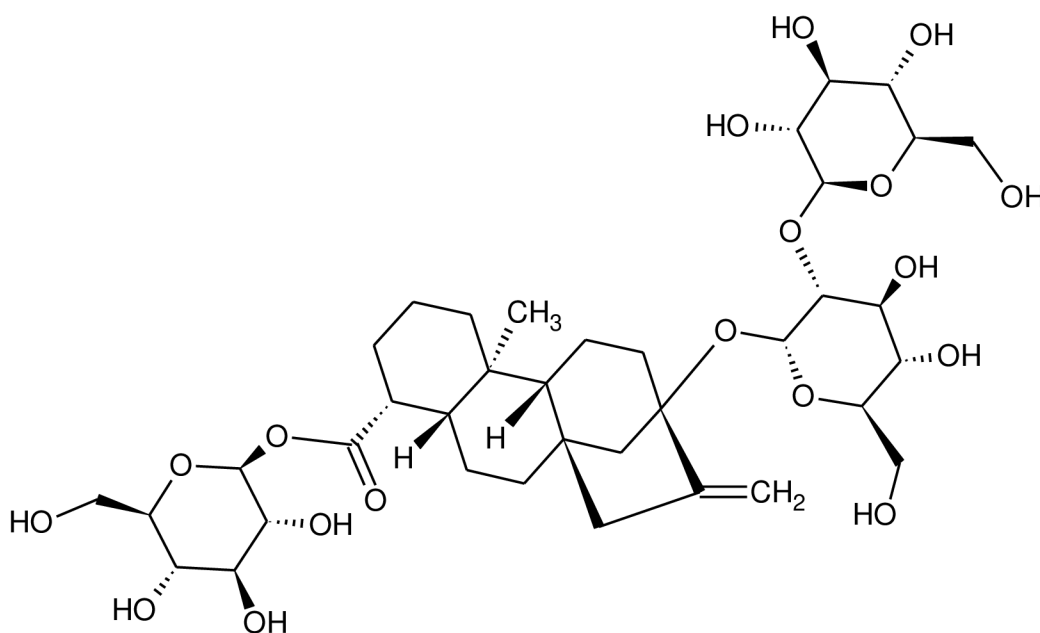
Tabulka 3: Náhradní sladidla povolená v ČR [1]

Číslo E	Název
E420	Sorbitol, (i) sorbitol, (ii) sorbitol sirup
E421	Mannitol
E950	Acesulfam K
E951	Aspartm
E953	Isomalt
E954	Sacharin, jeho sodná, draselná, vápenatá sůl
E957	Thaumatm
E959	Neohesperidindihydrochalkon
E965	Maltitol, (i) maltitol, (ii) maltitol sirup
E966	Laktitol
E967	Xylitol

2. 3. 1. 1 Stévie

V listech stévie sladké (*Stevia rebaudiana*), která pochází z tropů Jižní Ameriky, nalezneme sladkou látku steviosid (Obrázek 1), která je zde zastoupena až 6 %. Sladivost této látky je až 300krát vyšší než u běžného cukru. Jedná se o glykosid, který obsahuje β -D-glukosu a α -soforosu jako cukerné složky. Toto sladidlo není kalorické, je vhodné jak pro diabetiky, tak i pro osoby trpící fenylketonurií [1].

Stévie obsahuje kromě steviosidu celou řadu dalších složek. Velké množství bílkovin, vápníku, fosforu a dalších důležitých živin. Dalšími látkami ve stévii obsaženými jsou steroly, triterpeny, flavonoidy a taniny. Díky tomu bylo navrženo, že extraktivní sladidla z této rostliny mají příznivý účinek na lidské zdraví, působí antihypertenzně, antihyperglykemicky a antikariogenně [33].

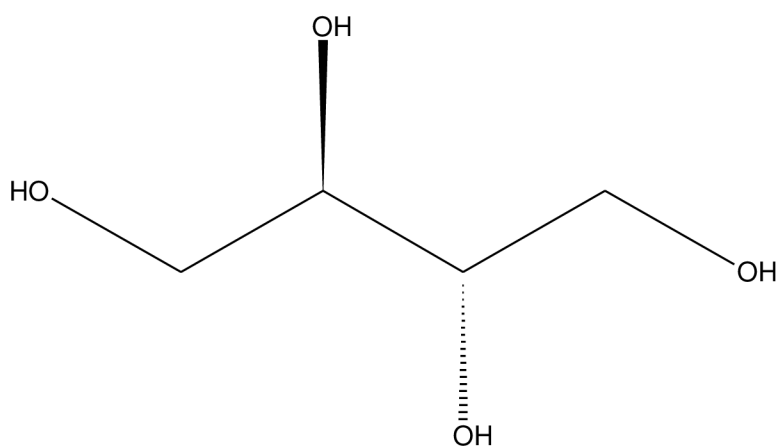


Obrázek 1: Struktura steviosidu

2. 3. 1. 2 Erythritol

Jedná se o alkoholický cukr, který se přirozeně vyskytuje ve fermentovaných potravinách (hroznech, hruškách, melounech). Jeho struktura je vyobrazena na obrázku 2. Komerčně je nejčastěji dostupný pod názvem Truvia. Přestože je zhruba šedesátkrát sladší než sacharosa, ve srovnání s ní obsahuje jen zhruba 6 % kalorií. Těžce se však vstřebává ve střevě, a proto může ve větším množství vyvolávat střevní potíže [32].

Komerčně se erythritol vyrábí mikrobiálními procesy. Hlavními zdroji uhlíku pro mikrobiální syntézu jsou sacharidy (glukosa, fruktosa nebo sacharosa) a glycerol. Tyto zdroje uhlíku se na erythritol přemění za vysokého osmotického tlaku pentosofosfátovým cyklem pomocí hub rodů *Moniliella*, *Pseudozyma*, *Candida* nebo *Yarrowia* [34].



Obrázek 2: Struktura erythritolu

2. 4 Superpotraviny

Koncept funkčních potravin byl poprvé představen v 80. letech minulého století. Existují různé definice tohoto termínu. Obecně jsou to potraviny, které mají v porovnání s běžnými potravinami příznivé fyziologické účinky nebo jsou schopny snižovat riziko rozvoje chorob díky přítomnosti, nebo naopak absenci určitých živin. Postupem času se pro popis potravin se speciálním účinkem na lidské zdraví vyvinul termín superpotraviny. Avšak tento termín je používán jako marketingová strategie a neexistuje žádná obecně akceptovaná definice. O spoustě těchto superpotravin se tvrdí, že mají širokou škálu zdraví prospěšných účinků. Často tato tvrzení bohužel nejsou podpořena vědeckými důkazy. Přesto může konzumace superpotravin stále předcházet vývoji některých chorob díky potenciálnímu obsahu bioaktivních látek [35].

Mezi nejdůležitější bioaktivní látky obsažené v superpotravínách, u nichž byl prokázán pozitivní účinek na lidské zdraví, patří polynenasycené mastné kyseliny (ω -3, ω -6), vitaminy, minerály, antioxidanty, polysacharidy a různé enzymy. V superpotravínách také můžeme nalézt probiotické mikroorganismy. Antioxidační aktivita je základní vlastností, je způsobena hlavně vitaminy A, C a E, flavonoidy, selenem, β -karoteny, zinkem, lykopenem, albuminem, kyselinou močovou, bilirubinem, koenzymem Q10 a polyfenoly [36].

Superpotraviny můžeme brát jako hranici mezi běžnou potravinou a léčivem. Cílem konzumace není choroby léčit, ale spíše jim předcházet. Působí preventivně, jejich účinek tak není okamžitý, ale příznivé účinky se mohou objevit až po desetiletích pravidelné konzumace. Většina nemocí, proti kterým mají superpotraviny člověka ochraňovat, patří mezi tzv. civilizační choroby, tedy nemoci, na jejichž vzniku a rozvoji mají podíl vnější faktory, například výživa [37].

Seznam potravin, které lze označit jako superpotravina je nejednotný, právě díky chybějící definici tohoto pojmu. Můžeme mezi ně zařadit například plody (rakytník, granátové jablko, bobuloviny), řasy (spirulina, chlorela), kořen zázvoru, ginko bilobu, čaj a mnoho dalších [36].

2. 4. 1 Rakytník řešetlákový

Rakytník je keř vysoký asi 0,5 metru, vyskytuje se jak v Evropě, tak v Číně. Plod se konzumuje buď čerstvý, nebo sušený. Studie ukázaly, že rakytník má ve svých listech, kořenech, semenech a plodech obrovský repertoár bioaktivních sloučenin. Těmi jsou flavonoidy, lykopen, karotenoidy, organické kyseliny fytoosteroly, polynenasycené mastné kyseliny a různé esenciální aminokyseliny. Je také bohatý na vitaminy A, B1, B12, C, E a K. Právě flavonoidy obsažené ve všech částech rakytníku jsou odpovědné za antioxidační a protirakovinné účinky, protože chrání buňky před oxidačním poškozením a následnou genetickou mutací. Bylo také zjištěno, že výtažky z rakytníku jsou účinné proti buňkám lidské rakoviny prsu, tlustého střeva a děložního čípku [36, 38].

2. 4. 2 Spirulina

Spirulina také známá jako *Arthrospira*, patří do rodu sinic z řádu *Oscillatoriales* a řadí se k nejstarším organismům na Zemi. Jedná se o vláknitou řasu složenou z buňek o délce 200–500 μm a šířce 5–10 μm . Roste převážně v tropických a subtropických oblastech, alkalických jezerech a extrémních prostředích, jako jsou antarktická ledová jezera. Ve světě bylo nalezeno více než 50 druhů, používají se však jen dva, a to *Spirulina maxima* a *Spirulina platensis* [39].

In vivo a in vitro experimenty bylo zjištěno, že dlouhodobá suplementace spiruliny nemá žádné toxické a vedlejší účinky. Obsah bílkovin ve spirulině dosahuje 60–70 % (v sušině) a je také bohatá na vitamíny, nenasycené mastné kyseliny, pigmenty a další bioaktivní sloučeniny. Díky vysoké nutriční hodnotě je spirulina podle WHO a Organizace pro výživu a zemědělství OSN jedním z nejlepších doplňků stravy a potravin pro lidské zdraví v 21. století. Používá se široce ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu a k výrobě biopaliv. V posledních letech bylo zjištěno, že spirulina a produkty z ní působí antioxidačně, protizánětlivě, proti nádorům a zlepšují imunitu [39].

2. 4. 3 Borůvky

Borůvky jsou plodem keře brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus L.*) nebo brusnice chocholičnaté (*Vaccinium corymbosum*), též známé jako kanadská borůvka, oba keře patří do čeledi vřesovcovitých (*Ericaceae*). Jsou ceněny pro svou chuť a bohatý obsah prospěšných bioaktivních látek. Je prokázáno, že mají přirozeně vysoký obsah antokyanů a dalších fytochemikálií, jako jsou například fenolové kyseliny a quercentin. Lze je tak použít k regulaci hladiny glukosy v krvi, redukci krevního tlaku a v boji proti některým typům rakoviny. Předpokládá se také, že by mohly zlepšit kognitivní vývoj u dětí a regulovat složení střevní mikroflóry. Mají také přímý efekt na některé parametry metabolického syndromu. Ten je charakterizovaný současnou přítomností kardiovaskulárních rizikových faktorů, obezity, arteriální hypertenze a inzulínové rezistence [40, 41].

2. 4. 4 Kustovnice cizí

Kustovnice cizí (*Lycium barbarum L.*) je léčivý keř s červenými jedlými plody. Rostlina je ve světě velmi populární díky zdraví prospěšným účinkům. Plody kustovnice jsou jedním z nejbohatších přírodních zdrojů živin, jako jsou β -karoten, vitamin C, E, B1 a B2, minerály a antioxidanty. Jsou také bohatým zdrojem volných aminokyselin (prolinu a kyseliny glutamové), obsahuje také některé neproteinogenní aminokyseliny jako taurin. Taurin pochází převážně z živočišné potravy, takže jeho zdroje pro vegetariány jsou omezené. Díky svému složení jsou plody benefiční pro lidský organismus. Mnoho studií podpořilo jejich silnou antioxidační ochranu před škodlivými volnými radikály přítomnými v lidském těle. Mohou tak přispívat k prevenci nemocí, jako jsou kardiovaskulární onemocnění a cukrovka [36, 42].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitých přístrojů a vyhodnocovacích programů

Spektrofotometr – UV/VIS SPEKOL 1300 – Analytik Jena, Německo
Analytické váhy – Ohaus, Švýcarsko
Ostatní běžné laboratorní pomůcky
Magnetická míchačka s ohřevem – LAVAT, MM7, Česká republika
Stolní centrifuga (EBA 200) – Hettich, Německo
X-rite II odrazový spektrofotometr, USA
Nicolet iS50, Thermo Fisher Scientific, Inc – FTIR spektrometr
OriginPro2019b software – vyhodnocení a analýza dat
HPLC/PDA (Photo-diode Array Detector)
Reometr Discovery HR-2 – TA instruments, USA
Trios software – TA instruments

3.2 Seznam použitých chemikálií

Destilovaná voda
Ethanol 99,9% p.a., Merck
Hydroxid sodný p.a., Penta
5% Folin-Ciocalteovo činidlo, Penta
Uhličitan sodný bezvodý p.a., Lach-ner
Kyselina gallová monohydrát, Penta
Dusitan sodný, Penta
Chlorid hlinitý bezvodý p.a., Lach-ner
Katechin hydrát p.a., Sigma Aldrich
Kyselina askorbová, Sigma Aldrich
2,6-dichlorfenolindofenol sodná sůl hydrát, Sigma Aldrich
Monohydroxofosforečná kyselina, VWR Prolabo Chemicals
Kyselina chlorovodíková 35%, p.a., Lach-ner
Tetraboritan sodný, Lachema
Kyselina sírová 96% p.a., Lach-ner
m-hydroxydifenyl, Sigma Aldrich
Kyselina sulfamová p.a., Penta
Tetraboritan sodný dekahydrát, Lachema
Hydroxid draselný, Lachema
Pektin jablečný, Sigma Aldrich
ABTS, Sigma Aldrich
Trolox, Sigma Aldrich
Peroxidisíran draselný, Sigma Aldrich
UV-VIS ethanol 96%. Penta

D-glukosa monohydrát p.a., Lach-ner
Hydrogenuhlíčan sodný p.a., Lach-ner
Síran sodný bezvodý p.a., Lach-ner
Vinan sodno-draselný p.a., Lachema
Síran měďnatý pentahydrát p.a., Penta
Molybdenan amonný p.a., Lach-ner
Hydrogenarseničnan sodný heptahydrát – Lachema
Methanol p.a., Penta
Chloroform stabilizovaný v 1% ethanolu, Penta
Ethylacetát 99,7% p.a., Penta
Acetoitril p.a., Penta

3.3 Analyzované vzorky

V této bakalářské práci bylo použito pět vzorků šípkových džemů. Čtyři byly vyrobeny podle níže uvedeného receptu. Každý obsahoval jiný druh sladidla, těmi jsou řepný cukr, třtinový cukr, stévie a erythritol. Pátý vzorek byl zakoupen, jednalo se o bio šípkovou zavařeninu z prodejny dm drogerie markt. Dalšími měřenými vzorky byly čtyři vodné extrakty, způsob jejich přípravy je uveden v kapitole 3.3.2.

3.3.1 Příprava džemů

Na výrobu džemů byly plody sbírány ve dvou oblastech. První várka byla nasbírána koncem září 2020 za slunečného počasí v oblasti Brno-Medlánky. Druhá várka byla sbírána začátkem října téhož roku za deštivého počasí ve vesnici Píšť, okres Opava. Po sběru byly šípky omyty, osušeny a do zpracování na džem byly uchovány v ledničce.

500 g šípků bylo očištěno tak, že jim byly vždy odkrojeny zbytky květu a stopky, popřípadě viditelné vady na plodech. Seschlé, měkké nebo jinak vadné plody byly vyřazeny. Překrájené plody byly vařeny doměkka při teplotě 110 °C zhruba 30 minut a následně rozmixovány tyčovým mixérem. Do přepasírované hmoty bylo přidáno jedno ze sladidel a to buď 60 g třtinového cukru, 60 g řepného cukru, 40 kapek stévie nebo 78 g erythritolu. Množství sladidel bylo přepočítáno dle sladivosti uvedené na obalu výrobku. Džemy byly plněny do vyvařených sklenic a sterilovány 20 minut při 80 °C.

3.3.2 Příprava vodných extraktů

Celkem byly připraveny čtyři extrakty. První z nich z celých sušených šípků, které byly rozdrceny v mixéru. Do 50 ml destilované vody o laboratorní teplotě bylo naváženo 10 g drcených šípků, směs se nechala odstát 24 hodin. Druhý extrakt byl také připraven z 10 g stejných drcených šípků, k nim se přidalo 50 ml destilované vody o teplotě 80 °C, louhovalo se 30 minut.

Po přepasírování na sítku zbyly kousky dužiny a semínka, tato směs se sušila v troubě při teplotě 80 °C do úplného vysušení. Z tohoto odpadního produktu z výroby džemů byly vytvořeny další dva extrakty stejným způsobem, jako je uveden výše.

3.4 Analýzy

3.4.1 Příprava vzorků džemů pro jednotlivá stanovení

Nejprve byla vázkovou metodou stanovena hustota vzorku. Následně bylo naváženo takové množství, aby odpovídalo 2 ml. K tomuto množství vzorku bylo přidáno 9 ml ethanolu a 9 ml destilované vody. Takto naředěný vzorek byl 10 minut vařen a dalších 20 minut zahříván na 60 °C za současného míchání na magnetické míchače. Následovala filtrace za sníženého tlaku na Büchnerově nálevce, aby došlo k odstranění zbylé dužiny šípků. Vzorky byly mezi měřeními skladovány v chladničce, při delším nepoužívání byly uloženy v mrazničce.

3.4.2 Stanovení obsahu sacharidů

Obsah sacharidů byl stanoven metodou podle Somogyi-Nelsona, která je založena na schopnosti redukujících sacharidů oxidovat se. Používá měďnaté ionty k redukci komplexu arsenomolybdenanu, vzniklého reakcí molybdenanu amonného s arzeničnanem sodným, za vzniku molybdenové modři [43].

Pro provedení této metody byly namíchány tři roztoky.

- Roztok 1 se skládal z 24 g bezvodého Na_2CO_3 , 16 g NaHCO_3 , 144 g bezvodého Na_2SO_4 , 12 g tetrahydrátu vinanu sodno-draselného a vše bylo rozpuštěno v 800 ml destilované vody.
- Roztok 2 obsahoval 4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ a 24 g bezvodého Na_2SO_4 , obě soli byly rozpuštěny v 200 ml destilované vody.
- Roztok 3 vznikl rozpuštěním 25 g molybdenanu amonného v 450 ml destilované vody, přidal se roztok vzniklý rozpuštěním 3 g $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ve 25 ml destilované vody a nakonec 21 ml koncentrované kyseliny sírové. Takto vzniklý roztok se nechal odstát 48 hodin při laboratorní teplotě.

Pro zjištění koncentrace sacharidů v analyzovaných vzorcích byl postup následující. K 1 ml vzorku se přidalo 0,5 ml roztoku 1 a 0,5 ml roztoku 2. Zkumavky se vařily 10 minut ve vroucí vodní lázni. Varem se podpoří redukce síranu měďnatého za vzniku oxidu měďného. Po ochlazení se do směsi napipetovalo 0,5 ml roztoku 3, aby se oxid měďný úplně rozpustil. Vzniklý modrý roztok se poté destilovanou vodou naředil na objem 10 ml a následně se měřila absorbance při 720 nm proti slepému vzorku[44].

Kalibrační přímka byla vytvořena na roztok glukosy o koncentraci 0,01–0,06 g·l⁻¹ a má následující rovnici:

$$A = 18,9476 \cdot c \quad (1)$$

3. 4. 3 Stanovení celkových fenolických látek

Metoda používající Folin-Ciocalteovo činidlo je široce používaná pro kvantifikaci celkových fenolických látek v různých extraktech. Tato kolorimetrická metoda umožňuje analýzu organických sloučenin, které mají hydroxylované aromatické kruhy. Aktivita reakce je přímo úměrná koncentraci OH skupin vyskytujících se na aromatickém kruhu, ty ovlivňují redukční potenciál. Fenolické látky reagují s reagentem za vzniku modrého zbarvení [45].

Pracovalo se s 1 ml Folin-Ciocalteova činidla zředěného desetkrát. K němu se přidal 1 ml destilované vody a 0,1 ml vzorku (pro vytvoření kalibrační přímky se použily roztoky kyseliny gallové o koncentracích 0,02–0,2 g·l⁻¹). Po promíchání se vše nechalo 5 minut odstát při laboratorní teplotě. Následně se přidal 1 ml nasyceného roztoku Na₂CO₃ a roztok se promíchal. Po 15 minutách byla měřena absorbance při 750 nm. Vzniklá kalibrační rovnice má následující tvar:

$$A = 4,1357 \cdot c \quad (2)$$

3. 4. 4 Stanovení celkových flavonoidů

Struktura flavonoidů je významná pro jejich antioxidační aktivitu. Díky přítomným karbonylovým a hydroxylovým skupinám mohou vytvářet koordinační vazby s mnoha kovy a tím tvořit barevné komplexy. Po přidání chloridu hlinitého vzniká komplex stabilní v kyselém prostředí [46].

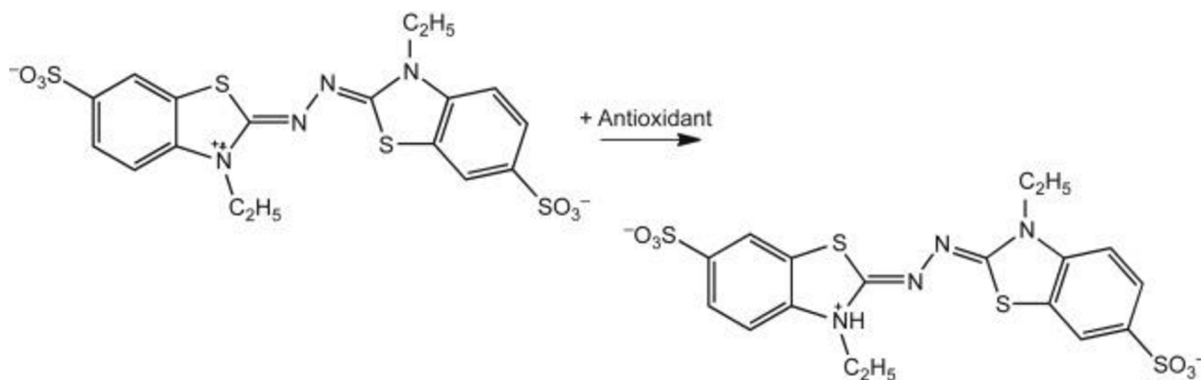
Smíchalo se 0,5 ml vzorku, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml NaNO₂. Pro vytvoření kalibrační přímky se použil roztok katechinu o koncentracích 0,05–0,3 g·l⁻¹. Vše se ponechalo 5 minut při laboratorní teplotě stát a poté se přidal 0,2 ml AlCl₃, promíchalo se a nechalo se odstát dalších 5 minut. Dále se přidal 1,5 ml NaOH a 1 ml destilované vody. Po promíchání a stání po dobu 15 minut se proměřila absorbance při 510 nm [47].

Vzniklá kalibrační rovnice je následující:

$$A = 3,3057 \cdot c \quad (3)$$

3. 4. 5 Stanovení antioxidačních vlastností

Stanovení pomocí ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina)) je považováno za jednu z nejcitlivějších technik ke stanovení antioxidační aktivity, protože kinetika reakce je rychlejší. Na vygenerování ABTS radikálu se použije peroxodisíran draselný za vzniku zelenomodrého chromoforu. Přidáním antioxidantu k takto vygenerovanému radikálu je možno sledovat přenos elektronů, která je viditelná jako změna zbarvení odpovídající redukci ABTS radikálu antioxidantem, tato redukce je znázorněna na obrázku 3 [48].



Obrázek 3: Princip redukce ABTS radikálu

Došlo k rozpuštění ABTS v destilované vodě na koncentraci $7 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Smícháním s $2,45 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ peroxidisíranem draselným se získal radikálový kation $\text{ABTS}^{\cdot+}$. Po minimálně 12 hodinách ve tmě se roztok naředil pomocí ethanolu, aby vykazoval absorbanci $0,70 \pm 0,02$ při 734 nm .

Do zkumavek bylo pipetováno vždy 2 ml roztoku $\text{ATBS}^{\cdot+}$ a 0,02 ml vzorku. Vše se promíchalo, zkumavka se uložila do tmy a byl zaznamenán pokles absorbance v 10. minutě. Hodnota absorbance se odečítá od absorbance substrátu v nulté minutě (2 ml $\text{ABTS}^{\cdot+}$ a 0,02 ml destilované vody). Jako slepý vzorek byl použit ethanol a pro vytvoření kalibrační rovnice roztok troloxu o koncentracích $50\text{--}400 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Kalibrační rovnice je tvaru:

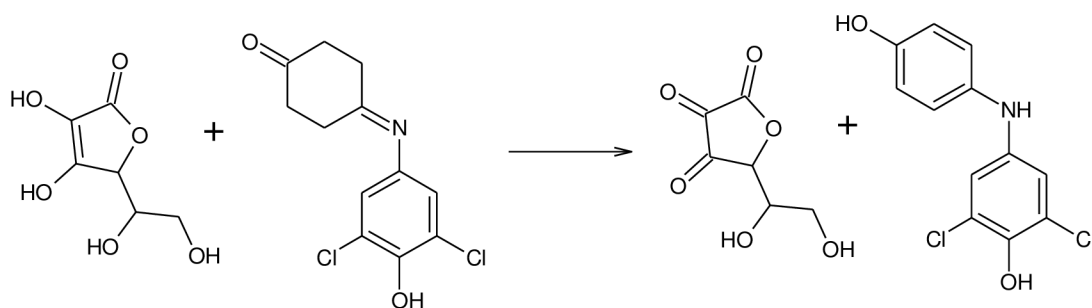
$$A = 0,0013 \cdot c \quad (4)$$

3. 4. 6 Stanovení vitamínu C

3. 4. 6. 1 Titračně s pomocí 2,6-dichlorfenolindofenolem

Vitamin C se v kyselém prostředí oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou 2,6-dichlorfenolindofenolem, reakce uvedena na obrázku 4 [49].

Standardizoval se roztok 2,6-dichlorfenolindofenolu. K 1 ml standardního roztoku kyseliny askorbové (100 mg rozpuštěno v kyselině monohydrogenfosforečné, kterou se také doplnila odměrná baňka na 100 ml) bylo přidáno 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydroxyfosforečné a titrovalo se odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do dosažení růžového zbarvení.



Obrázek 4: Princip stanovení vitamínu C s 2,6-dichlorfenolindofenolem

3. 4. 6. 2 Redoxní titrace pomocí jodičnanu

Po přidání IO_3^- iontů ke kyselému roztoku obsahujícímu I^- ionty dojde k oxidačně-redukční reakci. Jodičnanové ionty se redukují za vzniku jódu i jodidové ionty jsou redukovány za vzniku jódu. Vzniklý jód následně oxiduje kyselinu askorbovou na kyselinu dehydroaskorbovou. Jakmile je veškerá kyselina askorbová oxidována, nadbytek jódu volně reaguje se škrobovým indikátorem za tvorby tmavě modrého komplexu, který indikuje bod ekvivalence titrace [50].

Do 250ml Erlenmayerovy baňky se napipetovalo 20 ml vzorku a přidalo se zhruba 150 ml destilované vody, 5 ml $1\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny chlorovodíkové a 1 ml škrobového indikátoru. Titrovalo se odměrným roztokem $0,002\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ jodičnanu draselného. Koncovým bodem titrace je první trvalá změna zbarvení do tmavě modré barvy.

3. 4. 7 Stanovení pektinu

Pektin je komplexní směs polysacharidů obsahujících jako hlavní sloučeninu jednotky galakturonové kyseliny. Stanovení je obtížné díky interferenci s jinými sacharidy. Metoda s m-hydroxydifenylem se používá hojně díky vyšší citlivosti a specifitě při obsahu neutrálních cukrů a fenolických látek. Kolorimetrická metoda je založena na úplném rozkladu pektinu na kyselinu galakturovovou, pentózy a hexózy, ty pak reagují se sulfamovou kyselinou za vzniku derivátů, které po reakci s m-hydroxydifenylem vytváří barevné komplexy [51].

20 g vzorku džemu se navázilo do 250ml Erlenmayerovy baňky a vzorek se rozpustil ve 100 ml $0,2\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyselině chlorovodíkové. Baňky se následně extrahovaly ve vodní lázni na $80\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 90 minut. Po vytažení z lázně se obsah ještě za horka filtroval přes Büchnerovu nálevku. Filtrační koláč se promyl horkou vodou a filtrát se doplnil na 200 ml v odměrné baňce. Každý extrahovaný vzorek byl ještě dále potřebně naředěn destilovanou vodou.

Na spektrofotometrické stanovení se do každé zkumavky pipetovalo vždy 0,4 ml vzorku. Následně se přidalo 0,04 ml roztoku $4\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny sulfamové. Po promíchání se přidalo 2,4 ml $75\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku tetraboritanu sodného v koncentrované kyselině sírové. Zkumavky se promíchaly a následně zahřívaly ve vroucí lázni 20 minut. Po ochlazení pod tekoucí vodou se přidalo 0,08 ml roztoku m-hydroxydifenyly. Směs se nechala odležet 20 minut a v mezičase byla dvakrát promíchána. Absorbance byla měřena proti slepému vzorku při 525 nm.

Kalibrační rovnice je vytvořena z naředěného roztoku pektinu a má tento tvar:

$$A = 354,1454 \cdot c \quad (5)$$

3. 4. 8 Stanovení celkových karotenoidů pomocí HPLC

Zhruba 15 mg lyofilizovaných džemů bylo naváženo do šroubovacích 2ml Eppendorf zkumavek. Přidal se 1 ml destilované vody, vše se nechalo společně 30 minut hydratovat, po uplynutí této doby se zkumavky zvortexovaly. Následovala centrifugace při 14000 ot·min⁻¹ trvající 2 minuty. Supernatant se slil, přidaly se skleněné kuličky do výšky sedimentu a 1 ml methanolu. Zkumavky se umístily do desintegrátoru na rychlost 3000 ot·min⁻¹ po dobu 30 s.

Vzniklý roztok byl kvantitativně převeden 2 ml chloroformu do centrifugační zkumavky. Směs se vortexovala 15 minut. Přidal se 1 ml dest. vody, směs se protřepala a zkumavky se zcentrifugovaly při 1500 ot·min⁻¹ 1 minutu. Organická fáze se odpipetovala do skleněných zkumavek. Roztok se poté odpařil na odparce v dusíkaté atmosféře při 45 °C. Po odpaření se přidal 1 ml směsi ethylacetátu a acetonitrilu v poměru 2:1. Zkumavky se zvortexovaly a přes PTFE stříkačkový filtr se roztok zfiltroval do vialek.

3. 4. 9 Kolorimetrie

Kolorimetrie je metoda používající se k objektivnímu popisu barev. Abychom mohli barevnost objektů vyhodnocovat, potřebujeme definovat zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatele. Objekt je definován pomocí reflexního spektra $R(\lambda)$, zdroj pomocí spektrální intenzity vyzařování $M_e(\lambda)$ a pozorovatel díky trichromatickým činitelům \bar{x} , \bar{y} a \bar{z} . Díky těmto parametrům se následně mohou vypočítat kolorimetrické parametry [52].

Na zjištění kolorimetrických parametrů se použil odrazový spektrofotometr X-rite II. Na čisté podložní sklíčko se položil těsnící kroužek. Do jeho vnitřního průměru se nanasla vzorek džemu a ten se přikryl fólií tak, aby se přebytečný džem vytlačil. Bylo tak dosaženo stejné tloušťky vrstvy pro všechny vzorky. Na povrch fólie se následně položil přístroj a bylo změřeno reflexní spektrum proti bílé kachličce. Spektrální intenzita vyzařování zdroje byla nastavena na D50, pozorovatel byl použit dvoustupňový. Spektrofotometr změřil také souřadnice barvového prostoru CIE $L^*a^*b^*$. L^* je parametr měrné světlosti (zjistíme z něj, zda se jedná o barvu tmavou, nebo světlou), na ose a^* se nacházejí barvy od zelené po červenou, na ose b^* barvy od modré po žlutou. Z přístroje se také získaly parametry C^* chroma vyjadřující pestrost barvy a odstín h^* , který je určen úhlem. Nakonec byly získány také hodnoty RGB pro jednotlivé druhy džemů [52].

Všem barvám, které může pozorovatel vnímat lze přiřadit souřadnice v prostoru. Pro porovnání barev doma vyrobených džemů s džemem koupěným byla použita barvová odchylka, vzdálenost v tomto prostoru, která se vypočítá podle rovnice [52]:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (6)$$

3. 4. 10 Měření FTIR spekter džemů

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací byla použita k získání informací o přítomnosti, struktuře a povaze jednotlivých funkčních skupin. Jednotlivé vzorky džemů byly měřeny na FTIR spektrometru Nicolet iS50 s diamantovým ATR nástavcem. Na ATR nástavec se rovnoměrně nanasla asi 2mm vrstva zhomogenizovaného vzorku a nechala se vyschnout pro vytvoření filmu. FTIR spektrum bylo měřeno v rozmezí vlnočtů 4000–400 cm^{-1} , spektrální rozlišení bylo 4 cm^{-1} s počtem akumulovaných záznamů 128.

3. 4. 11 Reologická měření

Vzorky džemů byly měřeny na reometru Discovery HR–2 (TA Instruments) v rotačním či oscilačním módu. Naměřená data byla zaznamenávána do softwaru TRIOS (TA Instruments) a následně zpracována v programech Microsoft Excel a OriginPro2019b.

Pro měření byla jako senzor použita ocelová geometrie typu deska/deska, kdy obě desky byly definovaně zdrsny (0,2 mm) o průměru 20 mm. Na spodní desku se nadávkoval vzorek tak, aby deska byla pokryta celá. Horní senzor byl umístěn do měřicí polohy, mezera byla nastavena na 500 μm . Přebytek vzorku byl vytlačen a před měřením bylo okolí senzorů očištěno. Při stlačování vzorku byla použita maximální normálová síla 3 N tak, aby nebyl vzorek před měřením zdeformován. Takto se vzorek nanášel před každým měřením. Každý vzorek byl proměřen dvakrát.

Měřila se závislost smykového napětí na smykové rychlosti (tzv. tokové testy) při teplotě 20 °C. Před spuštěním každého měření byl vzorek ponechán v klidu po dobu 60 s při konstantní teplotě odpovídající měření (20 °C), to slouží k relaxaci vzorku před měřením a také jako temperační krok. Měření tokových křivek probíhalo ve vzestupném trendu smykové rychlosti v intervalu 0,05–200 s^{-1} , v logaritmickém módu, zaznamenávalo se 10 bodů na dekádu.

Z naměřených závislostí byla vyhodnocována mez toku (τ_0). Jedná se o napětí, které je třeba překonat, aby vzorek začal téct. Tokové křivky jednotlivých vzorků byly analyzovány pomocí Herschel-Bulkley modelu:

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (7)$$

kde τ je tečné napětí [Pa], τ_0 je mez toku [Pa], $\dot{\gamma}$ je smyková rychlost [$\text{Pa} \cdot \text{s}^{-1}$], K je index konzistence [$\text{Pa} \cdot \text{s}^n$] a n je index chování toku [–], který označuje odchylku od newtonovského chování kapaliny [53].

3. 4. 12 Statistická analýza

Výsledky byly vyjádřeny jako průměrná hodnota \pm směrodatná odchylka. Rozdíly mezi vzorky byly hodnoceny pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a Tukeyho metody k nalezení statisticky odlišných hodnot ($p < 0,05$).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Vlastnosti džemů

Předmětem zkoumání byly čtyři druhy doma vyrobených šípkových džemů, každý s obsahem jiného druhu sladidla, a jeden zakoupený produkt. Označení džemů bylo následující: KM (kupovaný džem), E (domácí džem slazený erythritolem), ŘC (domácí džem slazený řepným cukrem), S (domácí džem slazený stévií), TC (domácí džem slazený třtinovým cukrem).

Cíle při analýze těchto vzorků byly následující: stanovení obsahu bioaktivních látek, konkrétně polyfenolů a flavonoidů, také obsahu sacharidů a antioxidační aktivity. U džemů navíc stanovení vitamínu C, karotenoidů a pektinu, také reologická a kolorimetrická měření a v neposlední řadě infračervená spektroskopie.

4.1.1 Obsah sacharidů

Obsah sacharidů byl stanoven pomocí metody Somogyi-Nelsona spektrofotometricky při vlnové délce 720 nm. K vytvoření kalibrační přímky byla použita D-glukosa. Extrakt z každého džemu byl připraven pouze jeden, v každém extraktu byla absorbance proměřena třikrát. Koncentrace redukujících sacharidů v analyzovaných extraktech z džemů byla vypočtena podle kalibrační rovnice (1). Průměrná hodnota koncentrace a vypočtená směrodatná odchylka jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Naměřené koncentrace sacharidů v jednotlivých druzích džemů

vzorek	c [mg/ml]			\bar{c} [mg/ml]	\bar{c} [mg/g]	směrodatná odchylka [mg/g]
KM	200,0253	200,0253	199,4976	199,8494	240,0191	0,3660
E	41,9578	37,7356	37,7356	39,1430	41,7656	2,6010
ŘC	121,9152	108,7209	107,1376	112,5912	118,1082	8,5111
S	44,8606	46,7078	46,1800	45,9161	48,3497	1,0019
TC	70,1936	74,9435	71,2491	72,1287	77,9712	2,6962

Koncentrace byly naměřeny v jednotkách mg/ml džemu a na jednotky mg/g džemu byly převedeny pomocí vázkově stanovených hustot. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot jednotlivých koncentrací [mg/g] pomocí programu Origin.

Na obrázku 5 lze vidět grafické porovnání jednotlivých koncentrací sacharidů v džemech. Naměřené hodnoty byly podrobeny statistické analýze ANOVA. Porovnávány byly vždy dva různé džemy a zjistilo se, že všechny se od sebe signifikantně liší. Pouze džem slazený stévií a džem slazený erythritolem jsou porovnatelné.

Také ve sladidlech, stévií a erythritolu, byla metodou SN stanovena koncentrace redukujících sacharidů. Naměřené hodnoty byly velmi malé díky struktuře obou molekul. Pro stévií bylo naměřeno $0,5178 \pm 0,0380$ mg/g džemu a pro erythritol $7,9917 \cdot 10^{-3} \pm 0,0278$ mg/g džemu. Koncentrace redukujících sacharidů pro džemy s erythritolem a stévií nám říkají, že tyto redukující sacharidy pocházejí ze samotného šípku, proto mezi těmito dvěma vzorky (E a S) nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Přesto je zde rozdíl asi 6,0671 mg/g džemu. Ten je

způsoben pravděpodobně tím, že sbírané plody nejsou standardně homogenní, některé mohou obsahovat více semínek a jiné více dužiny. Džem se stévíí tak mohl být připraven z většího množství dužiny, nebo mohl být při přípravě lépe propasírován. Odečteme-li koncentraci těchto dvou sladidel od celkového obsahu sacharidů v příslušných džemech a tyto dvě hodnoty zprůměrujeme, dostaneme, že obsah redukujících sacharidů ze šípků v džemech je $44,7983 \pm 4,2901$ mg/g džemu. Problémem však je, že ne všechny džemy byly připraveny ze stejných plodů, ale ze dvou várek, TC a ŘC z první várky, E a S z várky druhé. Plody byly sbírány v jiné geografické oblasti, za různého počasí a v různou roční dobu, což mohlo mít vliv na obsah sacharidů, proto jsou džemy z těchto dvou várek těžko porovnatelné.

Džemy ŘC a TC byly připraveny z cukru řepného a třtinového. Do každého bylo přidáno 60 g obou cukrů na 400 ml džemu. V jednom gramu džemu bychom tak předpokládali koncentraci redukujících sacharidů 157,35 mg/g džemu v ŘC a 162,15 mg/g džemu v TC. Naměřené hodnoty jsou však menší, navíc musíme vzít v potaz přítomnost redukujících sacharidů ze samotného plodu. Je možné, že se veškerá sacharosa ze sladidel nerozštěpila na redukující cukry, tedy fruktosu a glukosu a tedy výsledné hodnoty jsou nižší než se očekávalo.

Etiketa na kupovaném džemu (KM) udává obsah cukrů v koncentraci 51 g na 100 g džemu, To by odpovídalo 510 mg na 1 g džemu. Jako sladidlo zde byl použit řepný cukr. Nami naměřená hodnota v KM je $240,0191 \pm 0,3660$ mg/g džemu, je tedy 2,12krát menší než hodnota uváděná na obalu výrobku. Vzhledem k tomu, že nevíme, jakou metodou byl obsah sacharidů na etiketě stanoven, nelze tyto hodnoty porovnávat, avšak dá se říct, že metody budou mít odlišnou citlivost. Větší hodnota naměřená pro etiketu džemu by odpovídala použití například metody HPLC, díky níž by se dala stanovit koncentrace nejen redukujících sacharidů, ale i sacharosy.

4. 1. 2 Obsah celkových polyfenolů

Obsah celkových polyfenolů v džemech se stanovil metodou používající Folin-Ciocalteovo činidlo. Metoda je spektrofotometrická a měří se absorbance při 750 nm. Absorbance byla měřena vždy třikrát v jednu extraktu z každého džemu. K vytvoření kalibrační rovnice (2) byla použita kyselina gallová. Vypočtená koncentrace je vztažena na mg kyseliny gallové v 1 g džemu (mg GAE/g). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.

Koncentrace byly naměřeny v jednotkách mg GAE/ml džemu a na jednotky mg GAE/g džemu byly převedeny pomocí vázkově stanovených hustot. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot koncentrací v mg GAE/g džemu pomocí programu Origin.

Tabulka 5: Naměřené koncentrace GAE v jednotlivých druzích džemů

vzorek	c [mg GAE/ml]			\bar{c} [mg GAE/ml]	\bar{c} [mg GAE/g]	směrodatná odchylka [mg GAE/g]
KM	11,6304	11,8239	11,3886	11,6143	13,9488	0,1512
E	9,7444	9,7202	9,1157	9,5268	10,1651	0,2194
ŘC	12,7911	14,3144	14,4353	13,8469	14,5254	0,5550
S	10,2764	10,6149	11,5821	10,8244	11,3981	0,4120
TC	14,7254	15,4750	13,7824	14,6610	15,8485	0,5293

Naměřené hodnoty jsou graficky porovnány na obrázku 5. Výsledky byly podrobeny statistické analýze ANOVA. Z ní vyplývá, že signifikantně odlišné nejsou pouze dvojice ŘC a KM; S a E; TC a ŘC. Dvojice ŘC a TC; S a E byly připraveny každá z jiné várky. To, že se od sebe jednotlivé várky džemů v obsahu polyfenolů liší, může být způsobeno odlišnou dobou sbírání plodů, místem a počasím, za kterého byly sbírány. Odlišnost hodnot v rámci jedné várky by se dala vysvětlit použitým sladidlem, avšak řepný cukr i třtinový cukr mají stejné chemické složení, s polyfenoly by tak měly reagovat stejně. Rozdíly tedy budou spíše způsobeny nehomogenitou plodů, kdy některé mohou obsahovat více semínek a některé více dužiny.

Ve studii [9] z roku 2016 byla mimo analýzu různých druhů extraktů z čerstvých i sušených plodů růže šípkové provedena analýza džemu. Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů byla použita metoda s Folin-Ciocalteovým činidlem, jako standard také použili kyselinu gallovou. Celkový obsah polyfenolů byl vyjádřen jako mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE) na 1 g sušiny (dw). V extraktu z džemu byl obsah polyfenolů stanoven na $11,9 \pm 0,84$ mg GAE/g dw. Tato hodnota je výrazně nižší než hodnoty naměřené v šípkových extraktech. Autoři usuzují, že je to způsobeno teplotní degradací polymerických polyfenolů v průběhu vaření.

Abychom mohly námi naměřené hodnoty porovnat, musíme je nejdříve převést na jednotky mg GAE/g dw. Toho dosáhneme tak, že se zváží šípky před a po vysušení a z jejich podílu se vyjádří převodní vztah. Počítáme také s tím, že 400 ml džemu bylo připraveno z 500 g čerstvých šípků a zjistíme, že 1 ml džemu byl připraven z 2,918 g suchých šípků. Pokud zpřůměrujeme naměřené hodnoty ve všech druzích džemů, po převedení na 1 g sušiny dostaneme hodnotu $4,1449 \pm 0,7289$ mg GA/g dw. Výsledky by se neměly signifikantně odlišovat, protože druh extrakčního činidla použitého autory nemá na obsah polyfenolů výrazný

vliv, ale mezi námi naměřenou hodnotu a hodnotou ze studie, tedy $11,9 \pm 0,84$ mg GAE/g dw, je rozdíl 7,7551 mg GAE/g dw. To by mohlo být způsobeno odlišným způsobem přípravy džemů a znamenalo by to, že v námi připravených džemech došlo k větší teplotní degradaci polyfenolů v průběhu vaření. Další možností je, že čerstvé plody šípků pro přípravu džemů, obsahovaly polyfenolů méně.

4. 1. 3 Obsah celkových flavonoidů

Celkové flavonoidy byly stanoveny spektrofotometricky metodou s použitím $AlCl_3$, kde byl jako standard použit roztok katechinu. K výpočtu koncentrace byla použita rovnice (3), absorbance byla měřena třikrát, vždy v jednom extraktu z každého džemu. Koncentrace byly naměřeny v jednotkách mg/ml džemu a na jednotky mg/g džemu byly převedeny pomocí vázkově stanovených hustot. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot koncentrací v mg/g džemu pomocí programu Origin. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Naměřené koncentrace katechinu v jednotlivých druzích džemů

vzorek	c [mg/ml]			\bar{c} [mg/ml]	\bar{c} [mg/g]	směrodatná odchylka [mg/g]
KM	5,2334	5,9493	5,6065	5,5964	6,7213	0,4301
E	5,4250	5,8989	6,3829	5,9023	6,2977	0,5111
ŘC	6,2518	7,1795	6,8568	6,7627	7,0941	0,4940
S	4,6385	5,3040	5,5157	5,1527	5,4258	0,4820
TC	7,1795	7,9459	8,1677	7,7644	8,3933	0,5605

Naměřené hodnoty byly také podrobeny statistické analýze ANOVA, díky ní bylo zjištěno, že statisticky významný rozdíl je pouze mezi dvojicemi S a ŘC; TC a KM; TC a E; TC a S. Grafické porovnání naměřených hodnot je k vidění na obrázku 5. Porovnáme-li obsah polyfenolů a flavonoidů v jednotlivých vzorcích, zjistíme, že pokud je seřadíme podle množství látek v nich obsažených, pořadí není v obou případech stejné, jak bychom předpokládali. Předpoklad je založen na skutečnosti, že flavonoidy jsou podskupinou polyfenolů. Z výsledků lze zase vyčíst, podobně jako u polyfenolů, že záleží na várce, z jaké byly džemy připraveny. V džemech S a E, vyrobených z várky, která byla sbírána za deštivého počasí a později, se vyskytuje flavonoidů méně.

4. 1. 4 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita v našich vzorcích džemů byla stanovena pomocí ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyseliny)). K vytvoření kalibrační rovnice (4) byl použit roztok troloxu. Koncentrace byly naměřeny v jednotkách mg/ml džemu a na jednotky $\mu\text{mol TE}$ v 1 ml džemu byly převedeny s pomocí molární hmotnosti troloxu, kde TE znamená ekvivalent troloxu. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot koncentrací v $\mu\text{mol TE}$ v 1 ml džemu pomocí programu Origin. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7.

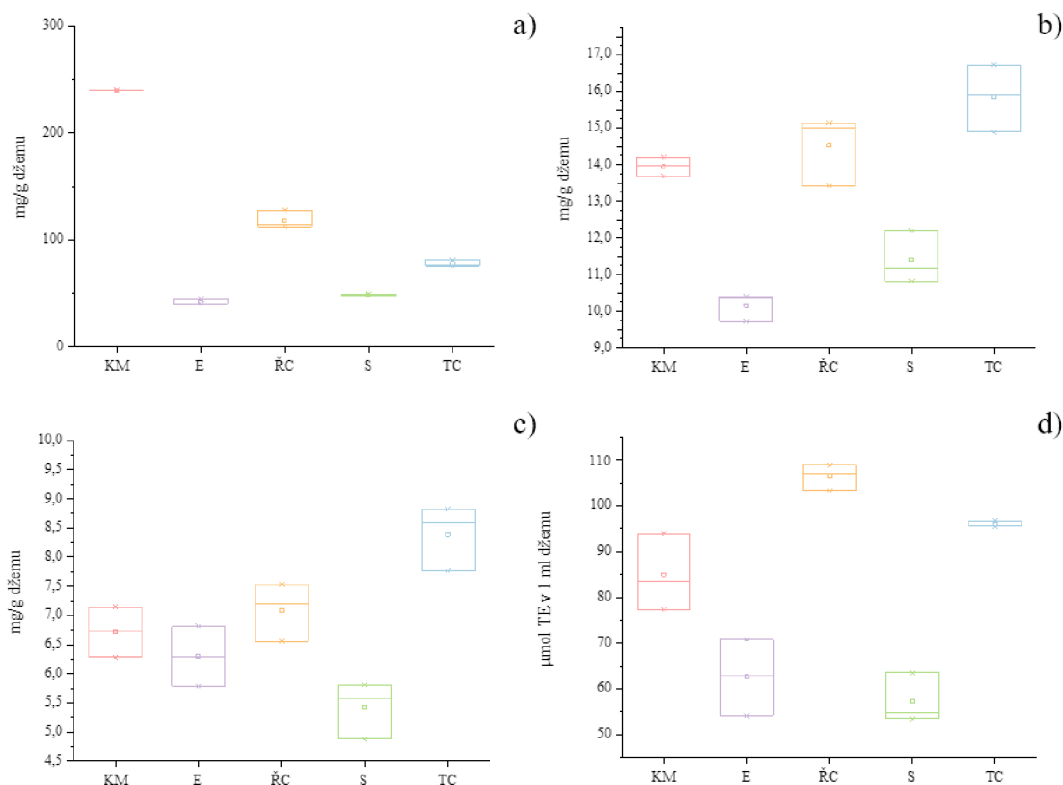
Tabulka 7: Naměřené antioxidační aktivity jednotlivých druhů džemů

vzorek	c [$\mu\text{mol TE/ml}$ džemu]			\bar{c} [$\mu\text{mol TE/ml}$ džemu]	směrodatná odchylka [$\mu\text{mol TE/ml}$ džemu]	\bar{c} [$\mu\text{mol TE/g}$ suchých šípků]	\bar{c} [mg/g džemu]
KM	77,3301	93,9231	83,5916	84,94827	8,37932	29,1120	25,5353
E	70,7554	54,1623	62,9285	62,61543	8,30097	21,4585	16,7220
ŘC	107,0724	103,3155	108,9508	106,44623	2,8694	36,4794	27,9479
S	54,7885	63,5547	53,5362	57,29312	5,45869	19,6345	15,0999
TC	95,4885	95,4885	96,7408	95,90597	0,72302	33,2964	26,2875

Pomocí statistické analýzy ANOVA byly porovnány jednotlivé džemy mezi sebou. Bylo zjištěno, že statisticky významný rozdíl nevykazují pouze dvojice S a E; TC a KM; ŘC a TC. Porovnání výsledků lze pozorovat na obrázku 5. Jsou zde uvedeny hodnoty v $\mu\text{mol TE/ml}$ džemu. Pro porovnání s literaturou jsou v tabulce 7 uvedeny také hodnoty koncentrace v $\mu\text{mol TE/g dw}$ (dry weight = sušiny) a pro porovnání s ostatními měřeními provedenými v této práci jsou uvedeny také hodnoty v mg/g džemu.

Antioxidanty v potravě mohou zabránit nebo zpomalit oxidační stres vyvolaný volnými radikály. Šípky lze považovat za zdroj přírodních antioxidačních látek, protože vykazovaly antioxidační aktivitu. Je uváděno, že existuje korelace mezi obsahem fenolických látek a antioxidační aktivitou. Tento vztah však závisí na mnoha faktorech. Těmi jsou chemická struktura jednotlivých fenolických sloučenin, jejich vzájemné interakce a také analytické podmínky testů antioxidační aktivity. Je také uváděno, že obsah flavonoidů, vitamínu C a dalších bioaktivních sloučenin může mít silný aditivní a synergický účinek. Tento fakt vysvětluje, proč antioxidační aktivita [mg/g džemu] vyšla vyšší, než koncentrace celkových polyfenolů [mg GAE/g džemu] [9].

Autoři Demir a kol. (2014) použili stejnou metodu pro určení antioxidační aktivity, kterou porovnávali mezi více druhy šípků v methanolových extraktech z lyofilizovaných plodů. Pro plod růže šípkové naměřili hodnotu $35,51 \pm 0,00 \mu\text{mol TE/g dw}$. Tato hodnota se příliš neodlišuje od námi naměřených koncentrací v jednotkách $\mu\text{mol TE/g}$ suchých šípků. Od ŘC a TC se liší jen minimálně. Srovnáme-li v této studii naměřenou hodnotu se vzorky S a E, dostaneme větší rozdíl. Ten bude stejně jako u obsahu polyfenolů a flavonoidů způsoben rozdílem ve zralosti plodů, roční dobou a počasím, ve kterém byly sbírány, nacházíme tedy znovu rozdíl mezi dvěma várkami, ze kterých byly džemy připraveny [3].



Obrázek 5: Naměřené koncentrace jednotlivých látek v džemech, a) sacharidy, b) polyfenoly, c) flavonoidy a d) antioxidační vlastnosti

4. 1. 5 Obsah pektinu

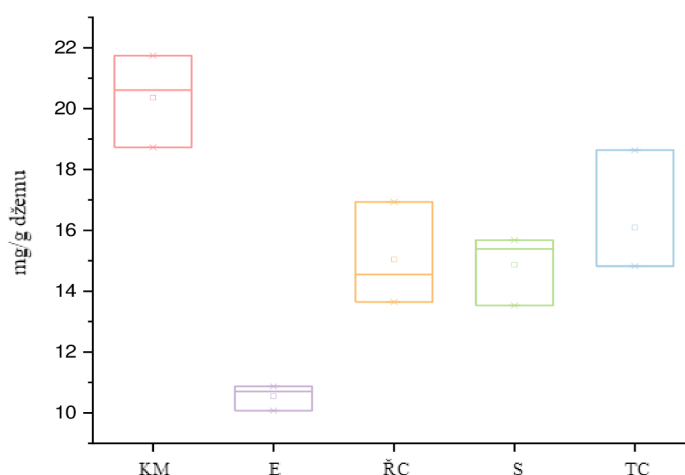
Pektin byl ve vzorcích džemů stanoven pomocí metody s m-hydroxydifenylenem. Jedná se o spektrofotometrickou metodu, k vytvoření kalibrační rovnice (5) se použil roztok jablečného pektinu. Koncentrace byly naměřeny v jednotkách mg/ml džemu a na jednotky mg/g džemu byly převedeny podle hustot zjištěných vázkovou metodou. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot koncentrací v jednotkách mg/g džemu pomocí programu Origin. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8, jejich grafické porovnání je viditelné na obrázku 6.

Tabulka 8: Stanovené koncentrace pektinu v jednotlivých vzorcích džemů

vzorek	c [mg/ml]			\bar{c} [mg/ml]	\bar{c} [mg/g]	směrodatná odchylka [mg/g]
KM	18,1006	17,1603	15,5932	16,9514	20,3586	1,5213
E	10,0298	10,1865	9,4421	9,8861	10,5485	0,4187
ŘC	13,0074	16,1417	13,8693	14,3394	15,0421	1,6985
S	14,8879	14,6137	12,8507	14,1174	14,8657	1,1642
TC	13,7126	13,7126	17,2387	14,8618	16,0939	2,2007

Jednotlivé koncentrace pektinu byly porovnány pomocí statistické analýzy ANOVA. Podle ní jsou porovnatelné pouze dvojice S a ŘC; TC a ŘC; S a TC. Toto jde vidět také na Obrázek 6. U KM jsou koncentrace pektinu vyšší, protože při její přípravě byl použit i aditivní pektin. Do domácích džemů se žádný pektin nepřidával, a tedy jeho naměřená koncentrace odpovídá množství pektinu obsažením v plodech šípkové růže. Nejmenší koncentrace pektinu byla zjištěna v džemu E. Předpokladem bylo, že domácí džemy budou mít všechny stejný obsah pektinu. Vysvětlením nižšího obsahu pektinu v džemu E může být odlišná struktura erythritolu, tedy to, že sloučenina je cukerným alkoholem. Část obsahu uronové kyseliny (stanovovaná metodou s m-hydroxydifenylenem) tedy bude nejspíše reagovat s erythritolem za vzniku neznámé sloučeniny, která nebude touto metodou detekována, proto bude obsah pektinu v džemu E nižší. V potaz bychom mohli vzít také mikrobiální rozklad. V době měření obsahu pektinu byl džem E jako jediný napaden plísní. Okem pozorovaná tuhost džemů nekoreluje s naměřenými hodnotami pektinu. Džem S byl nejvíce tekutý, KM a TC měly podobnou tuhost, následoval ŘC a druhý nejtekutější byl E. To, že džem S vypadal nejvíce tekutě by mohlo být způsobeno tím, že sice obsahoval pektin, jak bylo zjištěno, ale vzhledem ke struktuře steviosidu, by nemusel tvořit s pektinem pevné sítě, které by vytvářeli tuhost vzorku.

Ognyanov a kol. ve své studii (2016) izolovali a objasnili strukturu pektinu v šípkách. Pektin získali extrakcí plodů s 1% kyselinou citronovou. Zjistili, že polysacharidová frakce se skládala převážně z kyseliny galakturonové (45,5 %), galaktózy (5,5 %) a arabinózy (4,7 %). Pektin v šípku má relativně vysoký stupeň methylesterifikace (62 %) a acetylace (10 %) a skládá se z molekul o molekulové hmotnosti v rozmezí 10 – 100 kDa. Množství pektinu závisí převážně na extrakčních podmínkách (teplotě, pH, době a poměru extrahované látky a extrahovadla) [54].



Obrázek 6: Naměřené koncentrace pektinu v jednotlivých vzorcích džemů

4. 1. 6 Reologické vlastnosti

Byly změřeny tokové testy jednotlivých džemů (závislost smykové rychlosti na tečném napětí). Podle Herschel-Bulkley modelu, rovnice (7), byla vyjádřena mez toku (τ_0). Její porovnání je uvedeno v tabulce 9. Vyjádřená mez toku má souvislost se sensorickými vlastnostmi džemů, jedná se o napětí, které je třeba překonat, aby vzorek začal téct. Dá se říct, že čím větší je toto napětí, tím hůře se bude marmeláda žvýkat. Menší meze toku tedy souvisejí s lepší požitelností džemu.

Porovnáme-li naměřené hodnoty, zjistíme, že KM a TC mají pro mez toku hodnoty blízké nule, to je způsobeno tím, že hodnoty jsou přístrojem nedetekovatelné. Po zahrnutí úvahy, že KM a TC mají mez toku blízké nule bude, mez toku stoupá v řadě následovně: KM a TC < E < ŘC < S. Lze tedy usuzovat, že džem se stévii bude nejhůře požitelný, nejlepší sensorické vlastnosti bude mít džem KM a TC.






Tabulka 9: Meze toku jednotlivých džemů, tučně jsou označeny průměrné hodnoty (daným přístrojem nedetekovatelné hodnoty)

vzorek	mez toku [Pa]	směrodatná odchylka [Pa]
KM	n	n
E	32,2495	0,4786
E	25,8286	0,7944
E	29,0391	0,6365
ŘC	42,4519	0,8065
ŘC	39,6717	0,9635
ŘC	41,0618	0,8850
S	57,1659	2,3930
S	61,3201	1,8215
S	59,2430	2,1072
TC	n	n

4. 1. 7 Barva

Kalorimetrické parametry určené odrazovým spektrofotometrem X-rite II i vypočtená barvová odchylka doma připravených džemů od kupovaného džemu (KM) jsou uvedeny v tabulce 10.

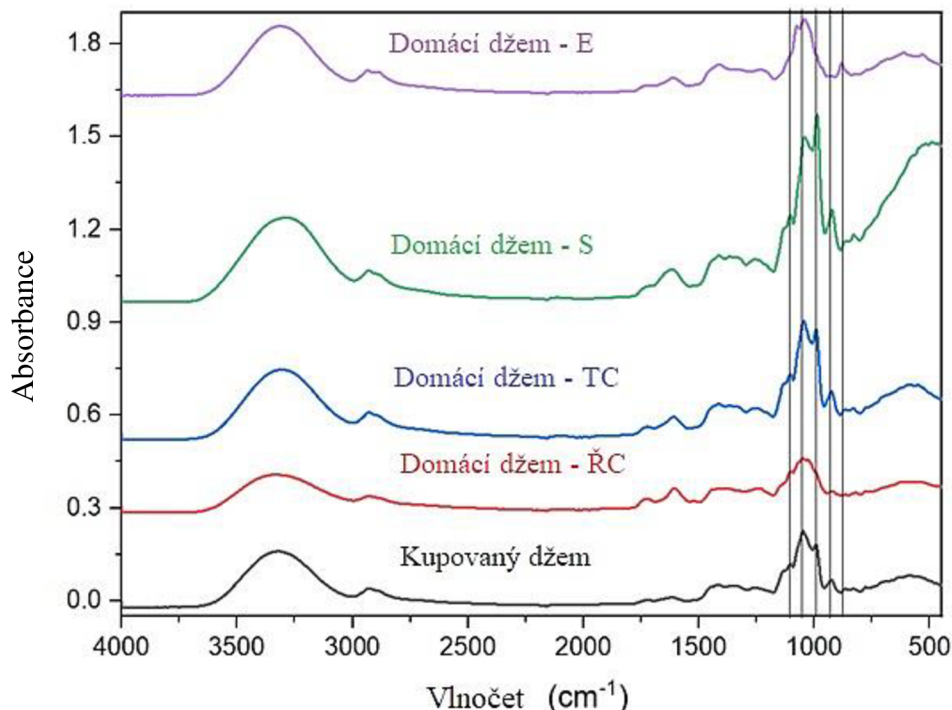
Tabulka 10: Naměřené a vypočtené hodnoty pro kolorimetrické stanovení

vzorek	L*	a*	b*	C*	h* [°]	R	G	B	barva	ΔE^*_{ab}
KM	25,5733	22,7400	24,4833	33,4167	47,1167	102	50	28		-
E	27,5767	20,0900	23,1533	49,0500	30,6533	99	52	30		3,5784
ŘC	33,4900	22,2200	27,9967	51,5633	35,7400	116	63	34		8,6768
S	31,5167	20,4400	27,9400	53,7267	34,6267	110	61	31		7,2499
TC	28,3933	19,2867	23,3067	50,3933	30,2500	100	54	32		4,6111

Barvová odchylka slouží k porovnávání barev mezi sebou, řekne nám, jak jsou mezi sebou jednotlivé barvy vzdáleny v prostoru. To, jestli jsou světlejší nebo tmavší nám řekne odstín h^* . Byly porovnávány domácí džemy s kupovaným a bylo zjištěno, že všechny doma vyrobené džemy jsou světlejší než kupovaný. Barvou nejpodobnější je E, následuje TC, S a nakonec ŘC. Rozdíl může být způsoben druhem použitého sladidla i původní barvou plodů. Bylo předpokládáno, že džem z TC bude nejtmaší, z důvodu obsahu třtinového cukru, který je zabarvený do hněda, tato teorie však výsledky nebyla potvrzena. Barva džemů pozorovatelná okem byla spíše oranžová, barevný odstín určený pomocí RGB proti bílému podkladu se jeví spíše hnědý.

4. 1. 8 Chemické složení

Pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací byly získány informace o přítomnosti, struktuře a povaze jednotlivých funkčních skupin. FTIR spektra džemů jsou zobrazena na obrázku 7. Tabulka 11 zobrazuje vlnočet píků FTIR spekter džemů.



Obrázek 7: Infračervená spektra džemů

V závislosti na použitém sladidlu se spektra džemů liší v určitých píkách. Pík 1616 cm^{-1} je ukoupeného džemu méně výrazný, což může souviset s povahou a koncentrací použitých plodů. Rozdíly mezi sladidly jsou detekovatelné ve více píkách. Nejvíce se podobají džemy koupený a domácí s třtinovým cukrem, obsahují stejné charakteristické píky, v některých případech s rozdílnou intenzitou. S těmito dvěma džemy je porovnatelný ten s řepným cukrem, oproti nim mu ale chybí pík 1364 cm^{-1} a 997 cm^{-1} . Džem slazený stévií se liší u píků 1042 a 997 cm^{-1} , které jsou sice shodné s džemem koupeným a tím slazeným řepným nebo třtinovým cukrem, ale odlišují se intenzitou. Nejvíce se odlišuje džem s erythritolem, kterému chybí píky 1105 a 928 cm^{-1} , všechny ostatní džemy je obsahují. Stejně jako u džemu s řepným cukrem postrádá ten s erythritolem píky 1364 a 997 cm^{-1} , oproti ostatním má navíc píky 1232 , 1076 a 886 cm^{-1} . Z těchto rozdílů vyplývá předpoklad, že džemy budou díky obsahu různých sladidel vytvářet odlišné struktury a tím pádem mohou vykazovat různé reologické vlastnosti. Z reologických vlastností byly zkoumány pouze tokové testy uvedené v kapitole 4. 1. 6.

Tabulka 11: Vlnčet piků zaznamenaný pro džemy s různými sladidly

Vlnčet piků [cm ⁻¹]	Charakteristická skupina	Kupovaný džem	Domácí džem - ŘC	Domácí džem - TC	Domácí džem - S	Domácí džem - E
3332 cm ⁻¹	-OH stretching vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
2930 cm ⁻¹	CH ₂ stretching asymetrická vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
2887 cm ⁻¹	CH ₂ stretching symetrická vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
1724 cm ⁻¹	C=O stretching vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
1616 cm ⁻¹	C=C vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
1425 cm ⁻¹	C-H stretching vibrace	✓	✓	✓	✓	✓
1364 cm ⁻¹	C-H symetrická vibrace	✓	×	✓	✓	×
1332 cm ⁻¹	C-O stretching vibrace	✓	×	✓	✓	×
1251 cm ⁻¹	C-O stretching vibrace	✓	✓	✓	✓	×
1232 cm ⁻¹	C-O stretching vibrace	×	×	×	×	✓
1105 cm ⁻¹	Vibrace typická pro laktóny	✓	✓	✓	✓	×
1076 cm ⁻¹	stretching vibrace C–O skupiny - erythritol	×	×	×	×	✓
1042 cm ⁻¹	stretching vibrace C–O skupiny	✓	✓	✓	✓	✓
997 cm ⁻¹	rocking vibrace C–H ₂ skupiny	✓	×	✓	✓	×
928 cm ⁻¹	C-H deformační vibrace (karbohydráty)	✓	✓	✓	✓	×
886 cm ⁻¹	C-H vibrace	×	×	×	×	✓

4.2 Vlastnosti vodných extraktů

Mimo džemů byly v této práci zkoumány také výluhy neboli vodné extrakty, proto, aby se maximálně využil materiál. Během přípravy džemů zůstávaly po pasírování na sítku zbytky semínek a také dužiny. Ty byly vysušeny v troubě na 80 °C. Snahou bylo zjistit, zdali extrakt připravený z těchto zbytků a extrakt připraven ze sušených šípků mají porovnatelný obsah bioaktivních látek. V extraktech, jejichž příprava je popsána v kapitole 3. 3. 2, byl tedy stanoven obsah sacharidů, polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivita.

Byl připraven vždy jen jeden extrakt z každého druhu, v každém byla absorbance proměřena třikrát. Koncentrace byly vypočteny podle příslušných kalibračních rovnic. Koncentrace jsou uvedeny v jednotkách mg/ml výluhu, kdy každý extrakt byl připraven z 10 g šípků ve 100 ml vody. Směrodatná odchylka byla určena z hodnot jednotlivých koncentrací pomocí programu Origin. Následně byly pomocí statistické analýzy ANOVA porovnány jednotlivé extrakty v rámci každého stanovení mezi sebou, aby se určily signifikantní rozdíly ($p > 0,05$). Grafické porovnání všech stanovení je uvedeno na obrázku 8.

4.2.1 Obsah sacharidů

Obsah sacharidů byl stejně jako u džemů stanoven pomocí metody Somogyi-Nelsona spektrofotometricky při vlnové délce 720 nm. Průměrná hodnota koncentrace a vypočtená směrodatná odchylka jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: Naměřené koncentrace sacharidů v jednotlivých extraktech

vzorek	popis vzorku	c [mg/ml]			\bar{c} [mg/ml]	směrodatná odchylka [mg/ml]
LT-ZŠ	odpad z džemů při LT	12,2179	12,2707	12,4554	12,3147	0,1247
80-ZŠ	odpad džemů při 80 °C	9,6846	9,6318	9,6582	9,6582	0,0264
LT-DŠ	drcené sušené šípky při LT	6,4916	6,6763	6,4916	6,5532	0,1067
80-DŠ	drcené sušené šípky při 80 °C	15,2526	14,2498	14,1179	14,5401	0,6206

Podle ANOVY se od sebe všechny hodnoty signifikantně liší. U extraktu ze zbytků z džemů vidíme opačný trend než u výluhu z drcených sušených šípků. U ZŠ výluh obsahuje při laboratorní teplotě více sacharidů než výluh připravený při 80 °C, očekávali bychom ale opačný výsledek, protože při vyšší teplotě dochází ke štěpení oligo a polysacharidů a do vzorku se tak dostává více redukujících sacharidů, které je možné stanovit SN metodou. Tomuto předpokladu odpovídají extrakty připraveny z drcených sušených šípků. Výluh při LT obsahuje $6,5532 \pm 0,1067$ mg/ml extraktu redukujících sacharidů a výluh při 80 °C obsahuje $14,5401 \pm 0,6206$ mg/ml extraktu redukujících sacharidů, což je zhruba 2,22krát více.

Rozdíl v obsahu sacharidů mezi extrakty je tedy obtížně porovnatelný právě kvůli tomu, že oba druhy vykazují jiný trend v obsahu sacharidů při různých teplotách. Rozdíl byl způsoben tím, že k přípravě extraktu ZŠ bylo naváženo 10 g šípků (vzorek ZŠ vypadal jako shluk semínek a dužiny, které od sebe byly těžce oddělitelné), ale nebral se zřetel na homogenitu v LT–ZŠ tak bylo nejspíše více dužiny a v 80–ZŠ více semínek, protože semínka obsahují sacharidů méně (proto menší koncentrace redukujících sacharidů). Drcené sušené šípky byly více homogenní proto, že byly v práškové formě.

4. 2. 2 Obsah celkových polyfenolů

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven stejně jako u džemů metodou používající Folin-Ciocalteovo činidlo spektrofotometricky. Průměrná hodnota koncentrace a vypočtená směrodatná odchylka jsou uvedeny v tabulce 13.

Tabulka 13: Naměřené koncentrace polyfenolů v jednotlivých extraktech

vzorek	c [mg GAE/ml]			\bar{c} [mg GAE/ml]	směrodatná odchylka [mg GAE/ml]
LT–ZŠ	2,5727	2,7662	2,8145	2,7178	0,1280
80–ZŠ	1,7845	1,8715	1,7893	1,8151	0,0489
LT–DŠ	2,6453	2,6308	2,8871	2,7210	0,1440
80–DŠ	2,3406	2,6598	2,4953	2,4986	0,1596

Podle statistické analýzy ANOVA se od sebe signifikantně neodlišují vzorky LT–ZŠ, LT–DŠ a 80–DŠ. Odlišný je tak pouze vzorek 80–ZŠ. V naměřených datech lze pozorovat termolabilitu polyfenolů, u extraktů připravených při vyšší teplotě nalezneme polyfenolů menší množství než u těch připravených při LT. Mezi LT–ZŠ a 80–ZŠ však pozorujeme větší rozdíl než u LT–DŠ a 80–DŠ. To by mohlo být způsobeno charakterem šípků, ze kterých byly výluhy připraveny. Jak bylo zmíněno v předchozí kapitole, mohl by mít vliv poměr dužiny a semínek.

Porovnáme-li obsah polyfenolů mezi jednotlivými dvojicemi ZŠ a DŠ, zjistíme, že při LT obsahovaly oba výluhy polyfenolů velmi podobné množství. U extraktů připravených při 80 °C pozorujeme rozdíl v obsahu polyfenolů zhruba 0,6835 mg/ml extraktu. Z toho se dá usuzovat, že pokud připravujeme extrakt při LT, dají se oba druhy šípků porovnávat. Pokud ale připravujeme horký extrakt, v DŠ nalezneme polyfenolů více.

Ve studii [9] naměřili autoři, metodou také používající Folin-Ciocalteovo činidlo s mírnými modifikacemi, celkový obsah polyfenolů ve vodných extraktech ze sušených šípků v koncentraci $61,0 \pm 3,37$ mg GAE/g dw. Ve vodném extraktu z čerstvých šípků v koncentraci $74,6 \pm 3,37$ mg GAE/g dw. Tyto hodnoty byly vyšší než koncentrace naměřené v methanolových extraktech, lze tedy pozorovat, že tepelná úprava šípků i druh extrakčního činidla mají na obsah polyfenolů výrazný vliv. Vodné extrakty v této studii byly připraveny macerací šípků ve vařící vodě. Přepočteme-li námi naměřené koncentrace na gram dw, dostaneme rozptyl koncentrací od 9,0755 do 13,6051 mg GAE/g dw. V námi připravených extraktech tedy byla koncentrace značně nižší, což mohlo být způsobeno tím, že extrakty použité ve studii [9] byly při přípravě nepřetržitě promíchávány.

4. 2. 3 Obsah celkových flavonoidů

Koncentrace flavonoidů v extraktech byla stanovena stejně jako v případě džemů. Průměrné hodnoty naměřených koncentrací a vypočtená směrodatná odchylka jsou uvedeny v tabulce 14.

Tabulka 14: Naměřené koncentrace flavonoidů v jednotlivých extraktech

vzorek	c [mg/ml]			\bar{c} [mg/ml]	směrodatná odchylka [mg/ml]
LT-ZŠ	0,8724	0,9156	0,9156	0,9012	0,0250
80-ZŠ	0,5747	0,5683	0,5731	0,5720	0,0033
LT-DŠ	0,8628	0,8708	0,8948	0,8762	0,0167
80-DŠ	0,7107	0,7187	0,7235	0,7177	0,0065

Statistickou analýzou ANOVA byly porovnány všechny dvojice vzorků mezi sebou. Bylo zjištěno, že se podobají pouze vzorky LT-ZŠ a LT-DŠ. U ostatních dvojic byl zjištěn signifikantní rozdíl. Stejně jako v případě polyfenolů můžeme pozorovat teplotní degradaci flavonoidů v porovnání se vzorky připravenými při LT, teplotní degradace bude ale na rozdíl od polyfenolů větší. Na grafickém porovnání na obrázku 8 lze u flavonoidů mezi vzorky LT-ZŠ a 80-ZŠ a mezi vzorky LT-DŠ a 80-DŠ pozorovat větší propad než u polyfenolů

Při porovnávání obsahu flavonoidů mezi jednotlivými druhy použitých šípků přijdeme na to, že stejně jako v případě polyfenolů neexistuje výrazný rozdíl mezi extrakty připravenými při LT, to nám potvrzuje také ANOVA. Na rozdíl od polyfenolů je koncentrace flavonoidů ve výluzích v případě drcených dušených šípků menší. Stejně jako u polyfenolů je rozdíl mezi výluhy připravenými za horka, tento rozdíl je signifikantní.

Autoři studie [9] studovali také obsah flavonoidů ve výluzích z plodů růže šípkové. Použitá metoda stanovení byla založena na stejném principu jako námi použitá, s mírnými modifikacemi. Ve vodném výluhu připraveném ze sušených šípků naměřili množství celkových flavonoidů v koncentraci $1,14 \pm 0,04$ mg QE/g dw, ve vodném výluhu z celých šípků zjistili koncentraci $1,22 \pm 0,02$ mg QE/g dw. Koncentrace flavonoidů v methanolvých extraktech byly opět nižší než v těch vodných. Po přepočtení námi naměřených koncentrací flavonoidů ve výluzích na gram dw dostaneme rozptyl od 2,86005 do 4,5052 mg/g dw. Flavonoidů tedy bylo v našich výluzích naměřeno více než ve zmiňované studii. To ale bude způsobeno tím, že oni jako standard použili kvercentin, kdežto v této práci byl použit katechin.

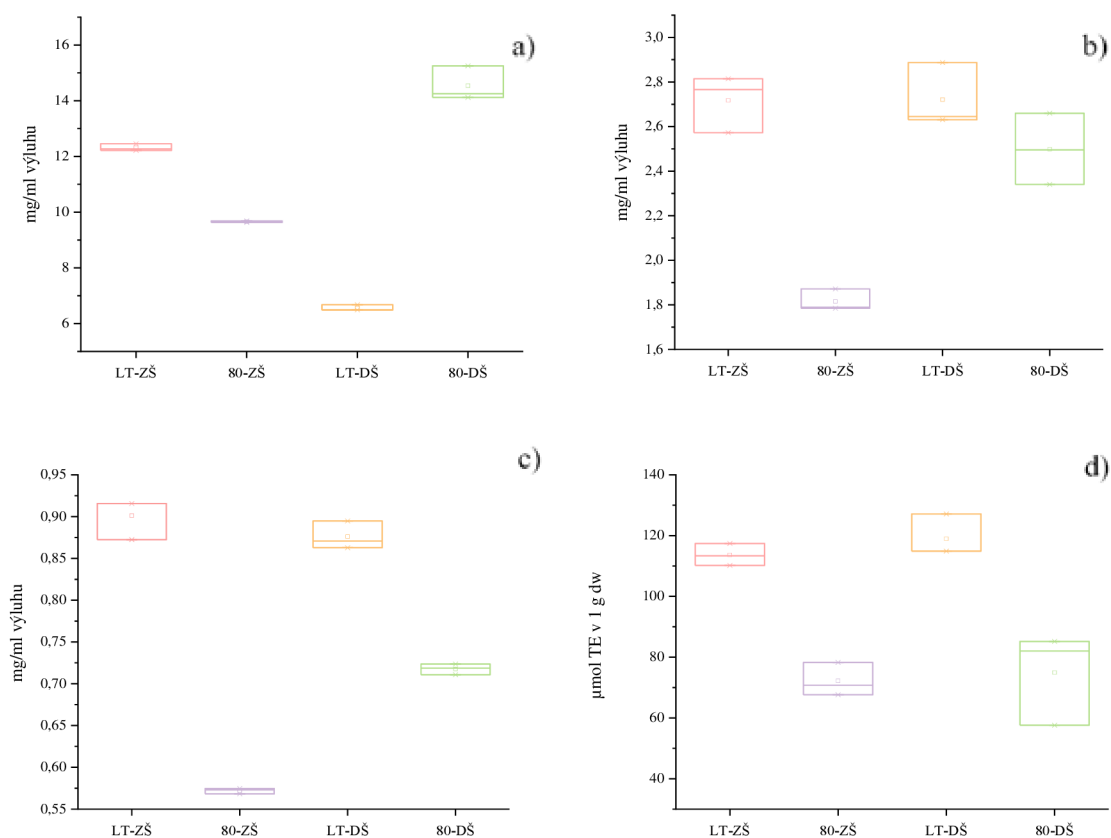
4. 2. 4 Antioxidační aktivita

Stanovení antioxidační aktivity bylo stejně jako u vzorků džemů provedeno pomocí ABTS. Koncentrace naměřeny v jednotkách mg/ml extraktu byly převedeny na jednotky $\mu\text{mol TE v 1 g dw}$. Průměrné hodnoty naměřených koncentrací a vypočtená směrodatná odchylka jsou uvedeny v tabulce 15 společně s koncentrací v mg/ml extraktu pro porovnání s ostatními stanoveními.

Tabulka 15: Naměřené antioxidační aktivity jednotlivých extraktů

vzorek	c [$\mu\text{mol TE v 1 g dw}$]			\bar{c} [$\mu\text{mol TE v 1 g dw}$]	směrodatná odchylka [$\mu\text{mol TE v 1 g dw}$]	\bar{c} [mg/ml]
LT-ZŠ	110,2032	117,4039	113,3339	113,6470	3,6106	5,6889
80-ZŠ	67,6247	70,7554	78,2693	72,2165	5,4706	3,6150
LT-DŠ	114,8993	114,8993	127,1093	118,9693	7,0495	5,9554
80-DŠ	82,0262	85,1570	57,6062	74,9298	15,0841	3,7508

Pomocí statistické analýzy ANOVA byly porovnány vždy dvojice extraktů, zjistilo se, že dvojice LT-ZŠ a LT-DŠ; 80-ZŠ a 80-DŠ nevykazují signifikantní rozdíl. Ani v případě antioxidační aktivity neexistuje velký rozdíl mezi druhem použitého šípku na přípravu extraktu. Pozorujeme také snížení antioxidační aktivity po záhřívání, což souvisí s termolabilitou látek antioxidační aktivitu způsobujících.



Obrázek 8: Naměřené koncentrace jednotlivých látek ve extraktech a) sacharidy, b) polyfenoly, c) flavonoidy a d) antioxidační vlastnosti

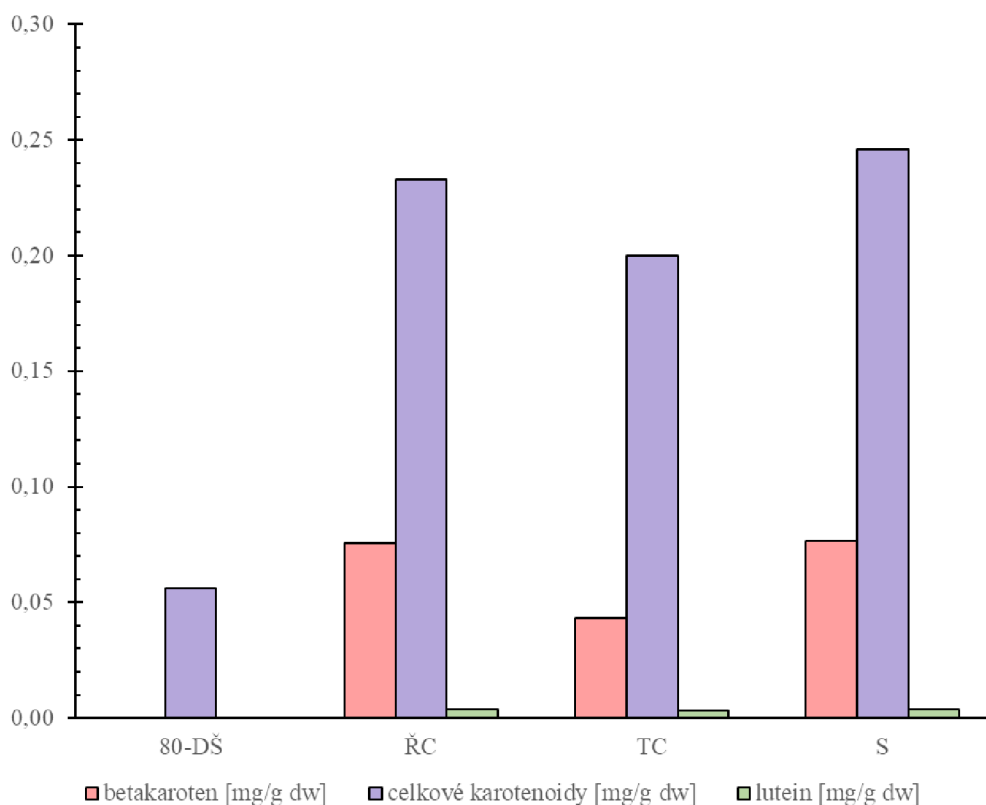
4.3 Obsah karotenoidů v džemech a vodném extraktu

Karotenoidy ve vybraných vzorcích byly stanoveny pomocí HPLC metody. Ke stanovení pouze ve čtyřech vzorcích došlo díky časové náročnosti přípravy vzorků a tím způsobené nemožnosti měření opakovat. Pro lepší přehlednost byl obsah karotenoidů v džemech sloučen se vzorkem vodního extraktu připraveného za tepla. Stanovené koncentrace betakarotenu, luteinu a celkových karotenoidů jsou uvedeny v tabulce 16, grafické porovnání lze vidět na obrázku 9.

Tabulka 16: Koncentrace betakarotenu, luteinu a celkových karotenoidů ve vybraných vzorcích

vzorek	betakaroten [mg/g dw]	lutein [mg/g dw]	celkové karotenoidy [mg/g dw]
80-DŠ	-	-	0,0560
ŘC	0,0757	0,0039	0,2331
TC	0,0432	0,0032	0,2000
S	0,0765	0,0036	0,2458

Porovnáme-li naměřené druhy karotenoidů v extraktu a v džemech, zjistíme, že v extraktu bylo naměřeno celkových karotenoidů nejméně, betakaroten ani lutein nebyly vůbec zaznamenány. Mezi džemy obsahoval nejvíce karotenoidů džem slazený stévií, nejméně džem slazený třtinovým cukrem. TC a ŘC byly vyrobeny ze stejné várky šípků, ve S ale bylo nalezeno karotenoidů více, na rozdíl od bioaktivních látek. To nám říká, že v případě této práce neměl na obsah karotenoidů v džemech vliv stav plodů (počasí, doba, místo, kde byly sbírány). Obsah karotenoidů bude spíše souviset s množstvím dužiny, která se při pasírování do džemu dostala. Nižší obsah karotenoidů v extraktu se dá vysvětlit krátkou dobou luhování (30 minut).

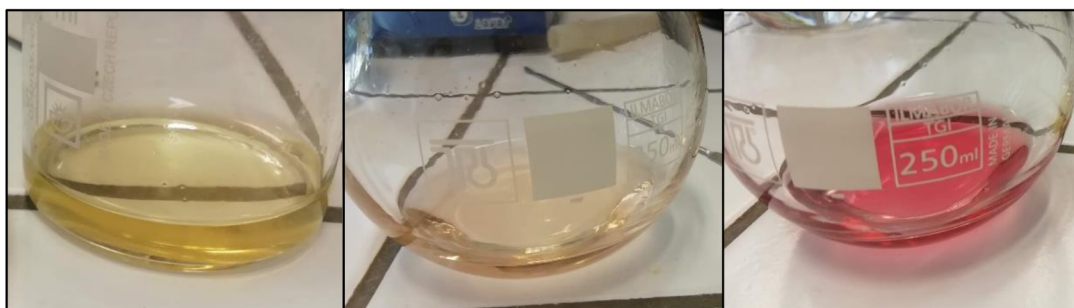


Obrázek 9: Koncentrace betakarotenu, luteinu a celkových karotenoidů ve vybraných vzorcích

4. 4 Obsah vitaminů v džemech a vodných extraktech

4. 4. 1 Obsah vitaminu C

Obsah vitaminu C byl ve vzorcích stanovován pomocí dvou metod. První metodou byla titrace s kyselinou monohydroxyfosforečnou a odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu. Problém při tomto stanovování nastal při určování bodu ekvivalence, ten nastává při barevném přechodu do růžova. Analyzované vzorky však nebyly čiré, měly oranžové zabarvení. Určení bodu ekvivalence tak nebylo přesné z důvodu nejasného barevného přechodu, ten lze vidět na obrázku 10. Tato metoda nakonec pro stanovení vitaminu C použita nebyla. Aby bylo vyhodnocení koncentrace vitaminu C ve vzorku přesné, muselo by probíhat například pomocí potenciometrie.



Obrázek 10: Fáze titrace s 2,6-dichlorfenolindofenolem, vlevo barva vzorku před titrací, uprostřed pravděpodobný bod ekvivalence, vpravo barva po přetitrování

Druhou použitou metodou byla titrace pomocí jodičnanu. Bod ekvivalence měl být indikován prvním zbarvením vzorku do modra. Vzhledem k výše zmíněnému zabarvení vzorku, však byl bod ekvivalence opět nejasný (obrázek 11) a k jeho přesnému určení by pomohla potenciometrická titrace. Tato metoda bez potenciometrické indikace nebyla také použita.



Obrázek 11: Fáze titrace s jodičnanem, vlevo barva vzorku před titrací, uprostřed první změna zbarvení, pravděpodobný bod ekvivalence, vpravo barva po přetitrování

Byla snaha stanovit koncentraci vitamínu C také pomocí HPLC. Ve spektrech džemů byly identifikovány vitamin C i vitaminy skupiny B. Avšak matrice obsahovala velké množství sacharidů i proteinů, proto nebylo možné tyto vitaminy identifikovat kvantitativně. Při kvantifikaci by vznikla velké chyba. Vzorky by bylo možno předupravit a odstranit sacharidy a proteiny ze vzorku, to by však bylo časově náročné a nebylo to předmětem této práce. Využila by se série SPE kolonek pro extrakci výše zmíněných polutantů a následná vícenásobná extrakce polárními rozpouštědly (ethanol, methanol, IPA atd.). Díky této technice je možné ve vzorku zachovat maximální koncentraci aktivních forem vitamínů.

Nojavan a kol (2008) zjistili, že růže šípková obsahuje nejvíce vitamínu C v plně zralém stavu, koncentrace byla šestkrát vyšší než u šípků oranžových. Předpokládali bychom tedy, že obsah vitamínu C v jednotlivých džemech se bude lišit, protože byly vařeny ze dvou várek a šípky nebyly sbírány ve stejnou dobu [55].

4. 4. 2 Obsah cholekalciferolu

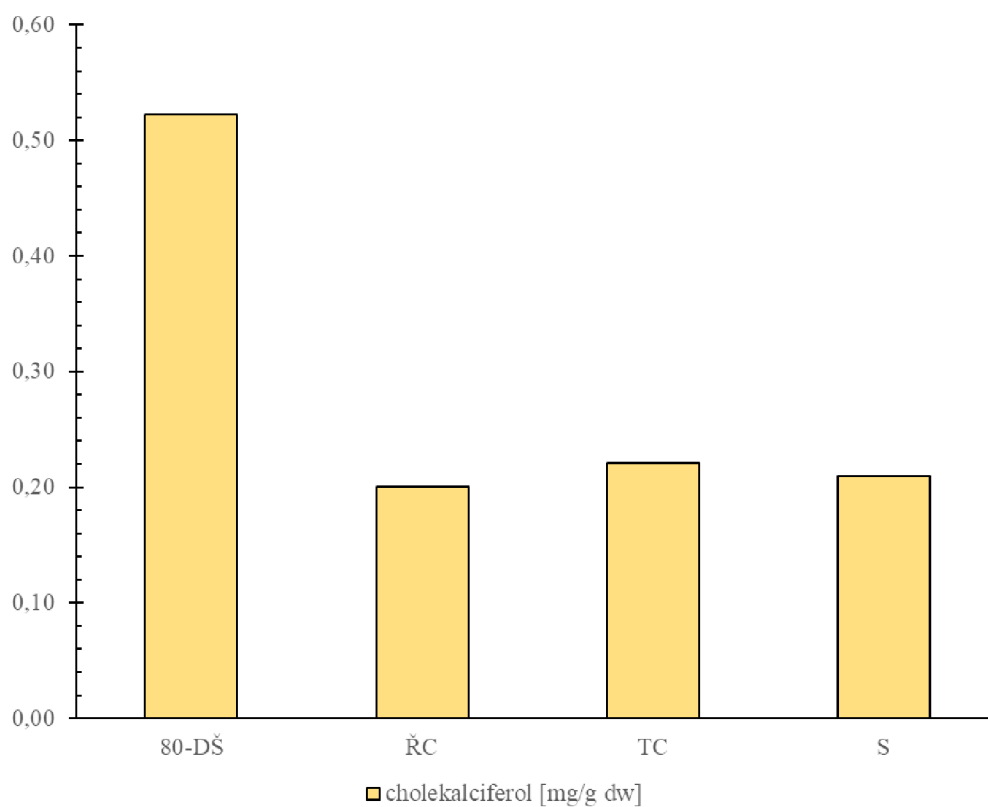
Společně s karotenoidy byl pomocí HPLC ve vybraných vzorcích stanoven také cholekalciferol. Byla snaha jej stanovit ve všech vzorcích, zjištěn byl však pouze ve čtyřech a díky časové náročnosti extrakce se měření nepovedlo zopakovat. Koncentrace cholekalciferolu zjištěná ve vzorcích je uvedena v tabulce 17. Výsledky jsou uvedeny v jednotkách mg/g dw. Grafické porovnání je k vidění na obrázku 12.

Cholekalciferol (jedna z forem vitamínu D3) je lipofilní vitamin nezbytný pro lidské zdraví. Působí jako hormon, řídí homeostázu vápníku, hraje klíčovou roli při tvorbě kostí a hojení zlomenin [56].

Tabulka 17: Koncentrace cholekalciferolu ve vybraných vzorcích

vzorek	cholekalciferol [mg/g dw]
80–DŠ	0,5223
ŘC	0,2003
TC	0,2211
S	0,2098

Z výsledků je viditelné, že nejvyšší obsah cholekalciferolu měl výluh, džemy měly obsah cholekalciferolu podobný s rozdílem nejvíce 0,0208 mg/g dw. Nejvyšší obsah cholekalciferolu ve výluhu souvisí s tím, že šípky na jeho přípravu neprošly při úpravě tolika teplotními zákroky jako džemy.



Obrázek 12: Koncentrace cholekalciferolu v jednotlivých vzorcích

4. 4. 3 Obsah ostatních vitamínů

Plody šípkové růže obsahuje dále ještě rutin (vitamin P), vitaminy skupiny B (převážně thiamin, riboflavin), vitaminy A, E a K. Pro jejich stanovení by bylo třeba vyvinout metodu extrakce a purifikace vzorků pro HPLC, což nebylo předmětem této práce [57].

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo porovnat obsah studovaných látek v pěti druzích šípkových džemů. Čtyři džemy byly vyrobeny doma, každý s použitím jiného druhu sladidla, pátý džem byl koupený. Úplné vynechání cukru při přípravě džemů je omezené z hlediska konzervace a sensorických vlastností. Snahou bylo nahradit obvykle používaná sladidla (řepný a třtinový cukr), sladidly nekalorickými a také vhodnými pro diabetiky (erythritol a stévie) a zjistit, zdali má druh použitého sladidla vliv na obsah studovaných látek, barvu a reologické vlastnosti. Snahou také bylo využít odpad z přípravy džemů (zbytky šípků) k přípravě vodného extraktu (čaje), proto byl obsah studovaných látek z tohoto výluhu porovnán s obsahem látek ve výluhu z šípků celých drcených.

U džemů byl stanovován obsah sacharidů, polyfenolů, flavonoidů a antioxidační vlastnosti. Těmito stanoveními bylo zjištěno, že na obsah bioaktivních látek v džemech má druh sladidla zanedbatelný vliv. Obsah těchto látek ovlivňuje převážně stav plodů, ze kterých byly džemy připraveny. Domácí džemy byly připravovány ze dvou várek a ve várce, která byla sbírána za slunečného počasí a dříve byl obsah bioaktivních látek signifikantně vyšší. Dále byl stanoven obsah pektinu, kde už druh sladidla ovlivňoval jeho koncentraci. V džemu, ve kterém byl jako sladidlo použit erythritol, byl obsah pektinu nejnižší, to bylo způsobeno nejspíše chemickou strukturou tohoto sladidla. V kupovaném džemu byl obsah pektinu naopak nejvyšší, to díky tomu, že při jeho výrobě byl přidáván pektin navíc. V rámci reologie byly měřeny tokové testy s cílem získat informace o sensorických vlastnostech potravin. Bylo zjištěno, nejlépe požitelný by byl kupovaný džem a džem s třtinovým cukrem, nejméně naopak ten se stévií. Kolorimetrickým stanovením byl porovnán kupovaný džem s domácími. Barva kupovaného džemu byla tmavší než barva domácích. Barvy všech džemů se pomocí RGB jevíly hnědé, při pozorování okem vypadali oranžově. Pomocí FTIR byly získány informace o přítomnosti, struktuře a povaze jednotlivých funkčních skupin. Největší odlišnosti ve chemické struktuře byly zjištěny u džemu s erythritolem.

Ve vodných extraktech byly provedeny následující stanovení. Obsah sacharidů byl nejvíce ovlivněn homogenitou vzorku. Protože polyfenoly jsou termolabilní, jejich obsah byl ve výluzích připravených za tepla menší, stejně tak v případě flavonoidů a antioxidačních vlastností. Extrakty připraveny z odpadu při přípravě džemů se od druhého typu výluhu v obsahu studovaných látek lišily jen minimálně. Obsah těchto látek v nich byl sice nižší, ale porovnatelný. Odpad z plodu šípkové růže při výrobě marmelád je tedy dobře využitelný na přípravu vodných extraktů s antioxidačními vlastnostmi.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ, 2009. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [2] PATEL, Seema a Pavuluri Srinivasa RAO, 2017. Rose hip as an underutilized functional food: Evidence-based review. 63, 29-38. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.001>
- [3] DEMIR, N., O. YILDIZ, M. ALPASLAN a A.A. HAYALOGLU, 2014. Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa L.*) fruits in Turkey: Evidence-based review. *LWT - Food Science and Technology*. 57(1), 126-133. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.038>
- [4] ALBERTS, Andreas, Peter MULLEN a Margot SPOHN. *Léčivé stromy a keře: jednotlivé druhy a jejich léčebné účinky*. Praha: Beta-Dobrovský, 2006. Kapesní průvodce přírodou. ISBN 80-729-1144-9.
- [5] AHMAD, Naveed, Farooq ANWAR a Anwar-ul-Hassan GILANI, 2016. Rose Hip (*Rosa canina L.*) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, 2016, 667-675. ISBN 9780124166417. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00076-6>
- [6] KORBELÁŘ, Jaroslav a Zdeněk ENDRIS, 1990. *Naše rostliny v lékařství*. 7. vyd. Praha: Avicenum.
- [7] JINDROVÁ, Jana, 2010. *Léčivé rostliny*. Praha: Ottovo nakladatelství. Ottův průvodce přírodou. ISBN 978-80-7360-588-9.
- [8] JANČA, Jiří a Josef Antonín ZENTRICH, 1996. *Herbář léčivých rostlin*. 4. Praha: Eminent. ISBN 80-7281-000-67.
- [9] NAĐPAL, Jelena D., Marija M. LESJAK, Filip S. ŠIBUL, Goran T. ANAČKOV, Dragana D. ČETOJEVIĆ-SIMIN, Neda M. MIMICA-DUKIĆ a Ivana N. BEARA, 2016. Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina L.* and *Rosa arvensis Huds.* *Food Chemistry*. 192(7), 907-914. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.089>
- [10] TABASZEWSKA, Małgorzata a Dorota NAJGEBAUER-LEJKO, 2020. The content of selected phytochemicals and in vitro antioxidant properties of rose hip (*Rosa canina L.*) tinctures. *NFS Journal*. 21, 50-56. ISSN 23523646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2020.09.003>
- [11] ROMAN, Ioana, Andreea STĂNILĂ a Sorin STĂNILĂ, 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina L.* biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal*. 7(1). ISSN 1752-153X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-73>
- [12] KOPEC, Karel, 1998. *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací. ISBN 80-861-5364-9.
- [13] BULKOVÁ, Věra, 2011. *Rostlinné potraviny*. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. ISBN 978-80-7013-532-7.

- [14] FETNI, Samira, Nabil BERTELLA a Ammar OUAHAB, 2020. LC–DAD/ESI–MS/MS characterization of phenolic constituents in *Rosa canina* L. and its protective effect in cells. *Biomedical Chromatography*. 34(12). ISSN 0269-3879. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bmc.4961>
- [15] KOPŘIVA, Vladimír. *Vybrané kapitoly z biochemie potravin*. Brno. ISBN 978-80-7305-677-3.
- [16] FETNI, Samira, Nabil BERTELLA, Ammar OUAHAB, Jose Miguel MARTINEZ ZAPATER a Sonia DE PASCUAL-TERESA FERNANDEZ, 2020. Composition and biological activity of the Algerian plant *Rosa canina* L. by HPLC-UV-MS. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(1), 1105-1119. ISSN 18785352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.09.013>
- [17] CÖMERT, Ezgi Doğan a Vural GÖKMEN, 2018. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Research International*. 105, 76-93. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
- [18] ASADI, Sakine, Saeed NOJAVAN, Majid BEHPOUR a Parisa MAHDAVI, 2020. Electromembrane extraction based on agarose gel for the extraction of phenolic acids from fruit juices. *Journal of Chromatography B*. 1159. ISSN 15700232. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122401>
- [19] SLANINA, Jiří a Eva TÁBORSKÁ. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy*, Praha: Česká společnost chemická, 2004, roč. 98, č. 5, s. 239-245. ISSN 0009-2770.
- [20] MINDELL, Earl, 2000. *Vitaminová bible pro 21. století: vše o vitamínech, které budete v tomto století potřebovat*. Vyd. 2. upr. Praha: Knižní klub. ISBN 80-242-0406-1.
- [21] VELÍŠEK, Jan, 2002. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS. ISBN 80-866-5903-8.
- [22] DUTHIE, Garry G., Peter T. GARDNER a Janet A. M. KYLE, 2003. Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*. 62(3), 599-603. ISSN 0029-6651. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/14BCC2E15A7C60AF840A1E2C24CB5162/S002966510300082Xa.pdf/plant_polyphenols_are_they_the_new_magic_bullet.pdf
- [23] DAS, Atanu Kumar, Md. Nazrul ISLAM, Md Omar FARUK, Md ASHADUZZAMAN a Rudi DUNGANI, 2020. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*. 135, 58-70. ISSN 02546299. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>
- [24] HERMANNNS, Anna S., Xuesong ZHOU, Qiang XU, Yaakov TADMOR a Li LI, 2020. Carotenoid Pigment Accumulation in Horticultural Plants. *Horticultural Plant Journal*. ISSN 24680141. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.10.002>
- [25] SHILPA, Shivaprasad, Hulikere Jagdish SHWETHA, Marisiddaiah RAJU a LAKSHMINARAYANA, 2020. Factors affecting bioaccessibility and bio-efficacy of carotenoids. *Carotenoids: Properties, Processing and Applications*. Elsevier, 41-73. ISBN 9780128170670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817067-0.00002-6>

- [26] CASTLEMAN, Michael, 2004. Velká kniha léčivých rostlin: klasický průvodce nejlepšími přírodními léčivy představující ty nejlepší - časem i vědou prověřené - léčivé rostliny. Praha: Columbus. ISBN 80-724-9177-6.
- [27] ILYASOĞLU, Huri, 2014. Characterization of Rosehip (*Rosa canina* L .) Seed and Seed Oil. *International Journal of Food Properties*. 17(7), 1591-1598. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2013.777075>
- [28] Směrnice Rady 2001/113/ES: ze dne 20. prosince 2001 o ovocných džemech, rosolech a marmeládách a kaštanovém krému určených k lidské spotřebě. In: Úřední věstník L 010, 12. 1. 2002, s. 67—72. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32001L0113>
- [29] SHINWARI, Kaunsar Jabeen a Pavuluri Srinivasa RAO, 2018. Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. 75, 181-193. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.002>
- [30] DE SOUZA, Vanessa R., Patrícia A. P. PEREIRA, Ana Carla M. PINHEIRO, Helena M. A. BOLINI, Soraia V. BORGES a Fabiana QUEIROZ, 2013. Analysis of various sweeteners in low-sugar mixed fruit jam: equivalent sweetness, time-intensity analysis and acceptance test. 48(7), 1541-1548. ISSN 09505423. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12123>
- [31] ABDUL RAZAK, Fathilah, Baizatul Amirah BAHARUDDIN, Elisya Farha Mohd. AKBAR, Amira Hanim NORIZAN, Nur Fazilah IBRAHIM a Md. Yusoff MUSA, 2017. Alternative sweeteners influence the biomass of oral biofilm. *Archives of Oral Biology*. 80, 180-184. ISSN 00039969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.04.014>
- [32] ŠOLCOVÁ, Olga a Martina MATĚJKOVÁ, 2017. Není éčko jako éčko. Praha: Středisko společných činností AV ČR, v.v.i., pro Kancelář Akademie věd ČR. ISBN 978-80-200-2718-4.
- [33] SIDDIQUE, A.B., S.M. MIZANUR RAHMAN a M. Amzad HOSSAIN, 2016. Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *Arabian Journal of Chemistry*. 9, S1185-S1189. ISSN 18785352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.01.004>
- [34] HIJOSA-VALSERO, María, Jerson GARITA-CAMBRONERO, Ana I. PANIAGUA-GARCÍA a Rebeca DÍEZ-ANTOLÍNEZ, 2021. By-products of sugar factories and wineries as feedstocks for erythritol generation. *Food and Bioproducts Processing*. 126, 345-355. ISSN 09603085. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.001>
- [35] VAN DEN DRIESSCHE, José J., Jogchum PLAT a Ronald P. MENSINK, 2018. Effects of superfoods on risk factors of metabolic syndrome: a systematic review of human intervention trials. 9(4), 1944-1966. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/FO/C7FO01792H#!divAbstract>
- [36] PROESTOS, CHARALAMPOS, 2018. Superfoods: Recent Data on their Role in the Prevention of Diseases. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 6(3), 576-593. ISSN 2347467X. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.3.02>
- [37] KALAČ, Pavel, 2003. Funkční potraviny: kroky ke zdraví. České Budějovice: Dona. ISBN 80-732-2029-6.

- [38] MASOODI, Khalid Z., Wasia WANI, Zahoor A. DAR, et al., 2020. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) inhibits cellular proliferation, wound healing and decreases expression of prostate specific antigen in prostate cancer cells in vitro: Recent Data on their Role in the Prevention of Diseases. *Journal of Functional Foods*. 73(3), 576-593. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104102>
- [39] HAN, Pei, Jingjing LI, Huiqi ZHONG, et al., 2021. Anti-oxidation properties and therapeutic potentials of spirulina. *Algal Research*. 55. ISSN 22119264. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102240>
- [40] CARVALHO, Marina Fernandes, Ana Beatriz Araújo LUCCA, Vítor Rodrigues RIBEIRO E SILVA, Leandro Roberto de MACEDO a Máisa SILVA, 2021. Blueberry intervention improves metabolic syndrome risk factors: systematic review and meta-analysis. *Nutrition Research*. 91, 67-80. ISSN 02715317. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2021.04.006>
- [41] CHAI, Zhi, Daniela D. HERRERA-BALANDRANO, Hong YU, et al., 2021. A comparative analysis on the anthocyanin composition of 74 blueberry cultivars from China: systematic review and meta-analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*. 102, 67-80. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104051>
- [42] WANG, Jinjin, Liyang WEI, Ling YAN, et al., 2022. Effects of postharvest cysteine treatment on sensory quality and contents of bioactive compounds in goji fruit: systematic review and meta-analysis. *Food Chemistry*. 366, 67-80. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130546>
- [43] SHAO, Yijing a Amy Hui-Mei LIN, 2018. Improvement in the quantification of reducing sugars by miniaturizing the Somogyi-Nelson assay using a microtiter plate. *Food Chemistry*. 240, 898-903. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.083>
- [44] SOMOGYI, Michael a Amy Hui-Mei LIN. NOTES ON SUGAR DETERMINATION. *Journal of Biological Chemistry*. 1952, 195(1), 19-23. ISSN 00219258. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50870-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50870-5)
- [45] VÁZQUEZ, Cecilia Velázquez, María Guadalupe Villa ROJAS, Carolina Alvarez RAMÍREZ, et al., 2015. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method. *Food Chemistry*. 176, 480-486. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.050>
- [46] ZHANG, Liangliang, Yuchen LIU, Yongmei WANG, et al., 2018. UV–Vis spectroscopy combined with chemometric study on the interactions of three dietary flavonoids with copper ions. *Food Chemistry*. 263, 208-215. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.009>
- [47] AL-FARSI, Mohamed, Abeer AL-AMRI, Ahlam AL-HADHRAMI, et al., 2018. Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*. 4(10), 208-215. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00874>

- [48] HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Patricia, Ludy Pabón BAQUERO, Harold Rodríguez LARROTA, et al., 2019. Flavonoids. *Bioactive Compounds*. Elsevier, 2019, 4(10), 265-288. ISBN 9780128147740. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00014-1>
- [49] DAVIDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1981
- [50] Determination of Vitamin C Concentration by Titration [online]. Christchurch: University of Canterbury, 2017 [cit. 2021-7-9]. Dostupné z: https://www.canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/vitaminc_iodine.pdf
- [51] IBARZ, Albert, Axel PAGÁN, Francesc TRIBALDO, et al., 2006. Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods. *Food Control*. Elsevier, 2019, 17(11), 890-893. ISBN 9780128147740. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.06.007>
- [52] PANÁK, Ondrej. Měření barevnosti. Katedra polygrafie a fotofyziky, Fakulta chemicko-technologická: Univerzita Pardubice. Dostupné také z: https://www.upce.cz/sites/default/binary_www_old/fcht/kpf/studenti-kpf/merenibarevnosti.pdf
- [53] BASU, Santanu, U.S. SHIVHARE a T.V. SINGH, 2013. Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam. *Journal of Food Engineering*. 114(4), 465-476. ISSN 02608774. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.035>
- [54] OGNJANOV, Manol, Connie REMOROZA, Henk A. SCHOLS, Yordan GEORGIEV, Maria KRATCHANOVA a Christo KRATCHANOV, 2016. Isolation and structure elucidation of pectic polysaccharide from rose hip fruits (*Rosa canina* L.). *Carbohydrate Polymers*. 151, 803-811. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.038>
- [55] NOJAVAN, Saeed, Faezeh KHALILIAN, Fatemeh Momen KIAIE, Atyeh RAHIMI, Armin ARABANIAN a Soheila CHALAVI, 2008. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21(4), 300-305. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.11.007>
- [56] LEE, Min Hyeock, Tae-Eun KIM, Hae Won JANG, Yong Gi CHUN a Bum-Keun KIM, 2021. Physical and turbidimetric properties of cholecalciferol- and menaquinone-loaded lipid nanocarriers emulsified with polysorbate 80 and soy lecithin. *Food Chemistry*. 348. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129099>
- [57] KADAKAL, Çetin, Tolga DUMAN, Raci EKINCI, et al. Thermal degradation kinetics of ascorbic acid, thiamine and riboflavin in rosehip (*Rosa canina* L) nectar. *Food Science and Technology*. 2018, 38(4), 667-673. ISSN 1678-457X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11417>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
PDA	detektor s diodovým polem
p.a.	pro analysi (lat.), chemikálie analytickým účelům
ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina)
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
PTFE	polytetrafluorethylen
GAE	ekvivalent kyseliny gallové
dw	sušina (dry weight)
TE	ekvivalent troloxu
LT	laboratorní teplota
QE	ekvivalent kvercentinu