

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici

ANTIOXIDANTY V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce

Ing. Ivo Sural, Ph.D.

Vypracovala

Monika Tomková

Lednice 2017



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Monika Tomková**
Studijní program: Zahradnictví
Obor: Jakost rostlinných potravinových zdrojů
Název tématu: **Antioxidanty v potravinářském průmyslu**
Rozsah práce: 30-40 stran textu, 5-8 obrázků případně tabulek

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte odbornou literaturu pojednávající o antioxidantech, dále uveďte jejich rozdělení.
2. Rozdělte vybrané oxidační mechanismy složek potravin, tvorbu prvotních a následných oxidačních produktů a jejich redoxní reaktivitu s dalšími složkami potravin.
3. Popište různé fyzikálně-chemické mechanismy účinků antioxidantů včetně reakcí a interakcí s katalyzátory oxidace.
4. Popište možnosti analýz současných potravinových antioxidantů pomocí instrumentálních analýz.



Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. : 1. 2. vyd.* Tábor: OSSIS, 2002. 331 s. ISBN 80-86659-00-3.
2. SANTOS-BUELGA, C. – WILLIAMSON, G. *Methods in polyphenol analysis.* Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003. 383 s. ISBN 0-85404-580-5.
3. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. : 2. 2. vyd.* Tábor: OSSIS, 2002. 303 s. ISBN 80-86659-01-1.
4. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin. : 3. 2. vyd.* Tábor: OSSIS, 2002. 343 s. ISBN 80-86659-03-8.

Datum zadání bakalářské práce: prosinec 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: květen 2017

L. S.



Monika Tomková
Autorka práce


Ing. Ivo Soural, Ph.D.
Vedoucí práce


doc. Ing. Josef Balík, Ph.D.
Vedoucí ústavu




prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Antioxidanty v potravinářském průmyslu** vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněným zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to ž do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

.....

podpis

Poděkování

Velké díky si zaslouží vedoucí práce Ing. Ivo Soral, Ph.D. za poskytnutí užitečných rad a připomínek po celou dobu zpracovávání bakalářské práce.

OBSAH

1. Úvod	7
2. Cíl práce.....	8
3. Současný stav řešené problematiky.....	9
3.1 Oxidační stres a volné radikály.....	10
3.2 Látky bránící oxidaci a jejich mechanismy	12
3.2.1 Antioxidanty primární.....	12
3.2.1 Antioxidanty sekundární.....	13
3.2.2 Další látky s protioxidačními vlastnostmi	13
3.3 Rozdělení antioxidantů	15
3.4 Vybrané antioxidanty.....	17
3.5 Oxidační mechanismy hlavních živin.....	26
3.5.1 Lipidy.....	26
3.5.1.1 Autooxidace.....	26
3.5.1.2 Oxidace hydroperoxydu či peroxidem vodíku	29
3.5.1.3 Oxidace singletovým kyslíkem	30
3.5.1.4 Oxidace katalyzovaná enzymy	30
3.5.1.5 Oxidace kovy.....	31
3.5.2 Bílkoviny	32
3.5.3 Sacharidy	34
3.6 Metody stanovení antioxidantů.....	35
3.7 Legislativa.....	37
4. Vlastní komentář k řešené problematice	38
5. Závěr.....	39
6. Souhrn a Resume, Klíčová slova.....	40
7. Použitá literatura a zdroje.....	41
8. Přílohy	45

1. Úvod

Antioxidanty vykazují hlavní úlohu při zabrání anebo zpomalení rozvoje oxidační degradace potravin. Antioxidant můžeme definovat jako látku, která je schopná chránit potravinu proti oxidaci, a to již při nízkých koncentracích. Většina potravin patří ke komplexním systémům, tím naneštěstí představují potravinovou hmotu s nízkou odolností vůči oxidaci a tím i spjaté kažení potravin. Náchylnými látkami k oxidaci v potravinách jsou molekuly lipidů a vitamíny, ale také proteiny a molekuly DNA. Jen některé poživatiny jsou odolné vůči oxidaci, patří mezi ně např. cukr, alkohol a voda (SCHMIDT, 2011).

Schopnost antioxidantů chránit potravinu je závislá na mnoha faktorech jako je koncentrace vlastních antioxidantů, teplota, přítomnost kyslíku, přítomnost dalších složek potravin, dále v případě tuků je ovlivněna i vlastním složením mastných kyselin.

První použití antioxidantů na konzervaci potravin se datuje k 2. světové válce. Tyto „rané“ antioxidanty byly napřed přírodního původu, nicméně byly brzy nahrazeny syntetickými sloučeninami, které byly levnější (o dostatečné čistotě) a vyznačovaly se uniformními (jednotnými) antioxidačními vlastnostmi. Byly testovány na toxicitu ve škále koncentrací 100–200krát výše než pro případné aplikování těchto aditiv. S nárůstem používání rozmanitých syntetických aditiv přidávaných do potravin se začala ozývat spotřebitelská skupina. Spotřebitelé žádali nahrazení syntetických aditiv přírodními, které působí i jako výživové látky (kdy už se nehledí jen na dobu expirace ale i na výživový aspekt). V současnosti se průmysloví výrobci snaží vyhovět spotřebitelům a navýšit používání přírodních antioxidantů. Většina přírodních antioxidantů jsou běžnými složkami potravin, které se používají ve výživě již po staletí a lidé se již přizpůsobili jejich zvýšené konzumaci (POKORNÝ a kol., 2001).

2. Cíl práce

Cílem bakalářské práce je zpracovat informace pojednávající o antioxidantech. Uvést rozdělení antioxidantů a popsat vybrané mechanismy jejich působení. Dále popsat tvorbu oxidačních produktů a jejich redoxní reaktivitu s dalšími složkami potravin. Objasnit účinky antioxidantů a charakterizovat možnosti analýz současných potravinových antioxidantů.

3. Současný stav řešené problematiky

Antioxidanty jsou látky, které napomáhají prodloužit expiraci (údržnost) potravin tak, že je chrání před znehodnocením způsobeným právě oxidačními procesy, jejichž projevem je např. žluknutí tuků či degradace dalších, snadno oxidujících složek potravin. Oxidace lipidů vyvolává změny v potravinách, které většinou negativně ovlivňují jejich výživovou, hygienicko-toxikologickou a sensorickou hodnotu (vůni, chuť, barvu). Výjimečně vede oxidace ke vzniku naopak žádoucích aromat u některých potravin (ovoce, zeleniny, hub) (VELÍŠEK a kol., 2009).

Antioxidanty lze různě definovat, první definice obecně popisuje antioxidanty jako látky, jejichž molekuly omezují aktivitu volných radikálů a jejich dalších radikálových produktů, které převádí do méně reaktivních nebo nereaktivních forem (KOPŘIVA et. al., 2014). Jiná definice je charakterizuje spíše z hlediska působení v organismu, kdy jako sloučeniny regulují oxidační pochody v organismu a zabraňující tak nežádoucím reakcím a zároveň poskytují ochranu buněčným strukturám proti negativnímu působení volných radikálů (KOPŘIVA a kol., 2014).

Vlastní antioxidanty, respektive látky s antioxidačními účinky mají značný význam z hlediska eliminace tzv. volných radikálů, především různých forem kyslíku a dusíku a jejich funkčních skupin. Antioxidační působení se tak týká ochrany buněk a jejich struktur před nežádoucím působením těchto volných radikálů a podílejí se současně na eliminaci účinků tzv. oxidačního stresu v živočišných a rostlinných buňkách (KOPŘIVA a kl., 2014).

Antioxidanty se mohou přidávat záměrně do výrobků, případně vznikají v průběhu zpracování potravin. I když není jejich úkolem zvyšovat sensoricky či výživově kvalitu potravin, svým působením však mohou ovlivnit jak sensorické, tak i výživové aspekty potraviny. Svým působením pomáhají udržovat a prodlužovat dobu skladovatelnosti takto obohacených potravin. Potravinářské antioxidanty by měly splňovat jisté požadavky: netoxičnost, účinnost již při nízké koncentraci, zachovatelnost při technologickém zpracování a měly by mít zároveň nízkou pořizovací cenu. Dále by neměly ovlivňovat barvu a chuť či jiné organoleptické (čili sensorické) vlastnosti. Kromě efektu prodloužení skladovatelnosti pomáhají zachovat původní nutriční hodnoty potravin. Rozšiřují použitelné spektrum tuků a olejů při výrobě potravin o ty,

kteře by snadno podléhaly oxidaci, kvůli své chemické struktuře. Tím antioxidanty umožňují výrobcům flexibilně měnit skladbu rostlinných a živočišných tuků a olejů v závislosti na dostupnosti, cenách a biologických hodnotách (SCHMIDT, 2011).

Antioxidanty obsahující fenolové či polyfenolové struktury hrají hlavní roli v ochraně potravin. I když je jejich nejdůležitější funkcí „vychytání“ volných radikálů, můžou se také podílet na redukci vzniklých hydroperoxidů na hydroxysloučeniny, čímž také napomáhají zpomalovat oxidační pochody v potravinách (BELIZT a kol., 2009).

Nejdůležitější antioxidanty lipidů jsou tokoferoly, kyselina askorbová, galláty, BHA (butylhydroxyanisol) a BHT (butylhydroxytoluen). Vzhledem k tomu, že tuky jsou široce distribuovány v jídle a jejich oxidace vede vedle vlastní degradace také ke změně původního aromatu dané potraviny, je působení antioxidantů spjato se zachováním původních sensorických vlastností. Neboť oxidací zpravidla dochází ke zhoršení organoleptických vlastností jídla, kdy se začne objevovat nežádoucí aroma. Oxidace tuků může být zpomalena odstraněním kyslíku nebo přidáním antioxidantu jako aditiva, či kombinací obou faktorů. (BELIZT a kol., 2009).

3.1 Oxidační stres a volné radikály

Oxidační stres je proces, při kterém dochází ke zvýšení koncentrace volných radikálů, důsledkem toho je vyšší poškození různých struktur biologických systémů nebo potravin vlivem těchto radikálů a jiných reaktivních meziproductů. Oxidační stres vzniká nárůstem množství volných radikálů v rámci nevhodných (resp. stresových) podmínek, nebo naopak eliminací či snížením původní antioxidační obrany organismu (KOPŘIVA a kol., 2014).

Volné radikály jsou obecně definovány jako atomy, nebo molekuly s nepárovými elektrony ve valenční sféře, které mohou být buď bez náboje anebo s nábojem (kladným či záporným). Radikály nejčastěji vznikají rozštěpením molekuly na 2 části, kdy vznikají 2 nenabitě částice s nepárovými elektrony, a přestože se jedná o látky zpravidla vysoce reaktivní, jsou schopné samotné existence (běžně se nerozpadají na nižší struktury). Obecně pro radikály jsou charakteristické „radikálové řetězové reakce“, které mají vždy tři fáze: iniciaci, propagaci a terminaci. V (1) iniciační fázi vznikají volné radikály, v (2) propagační fázi dochází k reakci radikálů s jinými molekulami za

vzniku nových radikálů, ty opět mohou dále reagovat na původní či jiné radikály – propagační fáze se tak běžně mnohokrát opakuje a nakonec v (3) terminační fázi dochází k zániku volných radikálů vzájemnou rekombinací dvou volných radikálů (KOPŘIVA a kol., 2014).

Chemicky stabilní struktura látek vyžaduje párové seskupení elektronů, a proto volné radikály (s nepárovým elektronem) reagují tak, aby se do orbitalů doplnily chybějící elektrony. Díky tomu je většina volných radikálů vysoce reaktivních s okolními látkami v prostředí jejich výskytu. Volný radikál získá chybějící elektron při kontaktu s jiným radikálem (v ideálním případě), častější je ale vytržení elektronu spolu s částí jiné molekuly z tzv. „zdravé“ molekuly. Z této molekuly se tak stane nový radikál, který může napadnout jinou sloučeninu a přeměnit ji na další nový radikál atd. Přičemž vždy původní radikál přešel na neradikálovou formu. To vede ke vzniku řetězové reakce (propagační fáze) a poškození řady molekul, a to následkem i pouze jen jednoho prvotního radikálu, natož v případě přítomnosti hned několika prvotních radikálů. Ukončení řetězové reakce nastane při rekombinaci dvou radikálů (terminační fáze), anebo v častějších případech reakcí radikálu s látkou, jejíž radikál je stabilní, a tak může delší dobu přetrvávat vedle dalších složek potravin, aniž by docházelo k dalším reakcím (tím se značně zpomalí či dokonce až zastaví propagační fáze radikálové reakce). Z hlediska toho oxidačního aspektu je v potravinách nejčastější výskyt volných radikálů kyslíku. Nejběžnější superoxidový radikál ($\bullet\text{O}_2^-$), vznikající jednoelektronovou reakcí molekuly kyslíku. V následujících reakcích je transformován na množství vysoce reaktivních sloučenin – nové radikály. Nejnebezpečnějším radikálem je hydroxylový ($\bullet\text{OH}$), který má vysokou reaktivitu, kdy zaniká reakcí s jinou molekulou prakticky přímo v místě jeho vzniku. Látky spojené s metabolismem kyslíkových radikálů bez nepárového elektronu (např. peroxid vodíku – H_2O_2 , kyselina chlorná HClO aj.), se spolu s volnými radikály integrují pod název „reaktivní formy kyslíku“ (ROS – reactive oxygen species) (RACEK, 2003).

3.2 Látky bránící oxidaci a jejich mechanismy

3.2.1 Antioxidanty primární

Primární antioxidanty jsou považované za akceptory volných radikálů, inhibují nebo oddalují radikálovou oxidaci v iniciační fázi a přerušují v propagační fázi odevzdáním vodíku volným radikálům za vzniku neradikálových produktů.

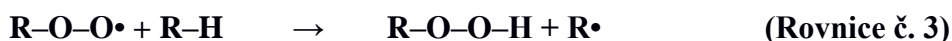
Samotný antioxidant tak přejde sice na radikál, který je ale velice stabilní, a tak se neúčastní radikálových reakcí. K iniciaci oxidace dochází, když se odštěpí alfa vodík (první v řetězci) metylenové skupiny nenasycených lipidů, a tak vzniká lipidový (alkylový) radikál $R\cdot$, viz rovnice č. 1.



Tento vysoce reaktivní lipidový radikál může reagovat v propagační fázi s kyslíkem za vzniku peroxylového radikálu $ROO\cdot$, dle následující rovnice.

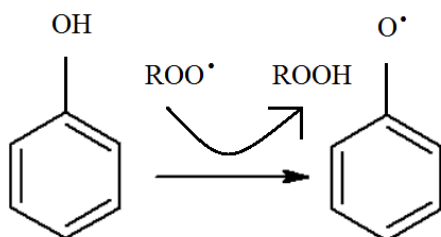
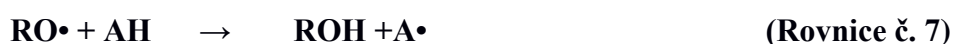


V průběhu propagace reagují peroxylové radikály s dalšími řetězci lipidů a vzniká hydroperoxid a nový nestabilní lipidový radikál $R\cdot$. Ten dále reaguje znovu s kyslíkem a z vzniku dalšího reaktivního peroxylového radikálu – reakční mechanismus se takto mnohokrát opakuje, a tak dochází k intenzivní oxidaci (dokud je v systému kyslík a pochopitelně lipidy), viz rovnice č. 3 až 5.



Primární antioxidanty reagují s lipidovými a peroxylovými radikály a přetvářejí je na stabilnější neradikálové produkty. Kdy antioxidanty odevzdávají atom vodíku původnímu radikálu, tak obnovují lipidické molekuly (v případě $R\cdot$ anebo tvoří hydroperoxydy v případě $ROO\cdot$). Jelikož jsou primární antioxidanty donory vodíku, mají větší reaktivitu s peroxylovými radikály než s lipidy. Poté co antioxidant zreaguje s volným radikálem, sám antioxidant přechází na radikálovou formu. Vzniklý radikál antioxidantu má ale velmi malou (možná i žádnou) schopnost napadat molekuly lipidů, důvodem je, že radikál antioxidantu je poměrně velmi stabilní, a tak se prakticky

neúčastní dalších reakcí. Tato nízká reaktivita radikálu antioxidantu snižuje celkovou rychlost oxidace lipidů. Důvodem nízké reaktivity radikálu antioxidantu je jeho stabilizace pomocí delokalizace nesprávného elektronu (např. v aromatickém jádře). Proto radikál antioxidantu nepředstavuje riziko oproti zmíněným původním volným radikálům (SCHMIDT, 2011). Viz rovnice č. 6 až 9.



(Rovnice č. 9 - BRADY; 2013)

3.2.1 Antioxidanty sekundární

Sekundární antioxidanty zpomalují rychlost oxidace, ale nepřeměňují volné radikály na stabilnější produkty (tedy neradikálové formy). K sekundárním antioxidantům se řadí cystein, tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty, methionin, lipoová kyselina, ze syntetických sloučenin se používá dilaurylester 3, 3'-thiodipropionové kyseliny (VELÍŠEK a kol., 2009).

3.2.2 Další látky s protioxidačními vlastnostmi

Vyznačují se multispektrálními účinky a mohou působit synergistickým účinkem v kombinaci s primárními antioxidanty. Např. chelatační činidla mají vliv na prooxidačně působící kovy (kdy kovy katalyzují oxidaci), tímto způsobem je převedou na

nekatalyzující či méně katalyzující formu, nebo dodávají vodík do primárních antioxidantů, které již zreagovaly, a tak je obnovují, nebo dále rozkládají hyperperoxydy (např. kyselina askorbová) na neradikálové formy, či deaktivují singletový kyslík, absorbují ultrafialové záření, či reagují s kyslíkem a jeho aktivní formy (SCHMIDT, 2011).

- **Synergisty**

Synergisty jsou látky, které podporují antioxidační aktivitu vlastního antioxidantu. Jsou to látky, které se samy o sobě nevyznačují antioxidačními aktivitou, ale zvyšují účinnost antioxidantů. Synergické účinky fosfolipidů jsou rozdílné. Přidáním dipalmitoyl fosfatidylethanolaminu (fosfolipid) do sádla se zvyšuje antioxidační aktivita α -tokoferolu, BHA, BHT ale naopak u propyl gallátu nepůsobí synergicky. Také reakce kyseliny askorbové s tokoferoly je synergicky efektivní. (BELIZT a kol., 2009)

- **Chelatační činidla**

Chelatační činidla neboli komplexotvorné látky, jsou látky tvořící komplexní sloučeniny s ionty kovů. Tyto kovové ionty jsou díky tvorbě nerozpustných a nedisociovaných solí inaktivovány. Hlavními příklady jsou kyselina citronová, aminokyseliny a kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) (SCHMIDT, 2011; VELÍŠEK, 2002).

3.3 Rozdělení antioxidantů

Přírodní potravinářské produkty (ovoce, zelenina, cereálie, ořechy, olejniny a jiné olej obsahující semena) mají přirozený multikomponentní antioxidační systém, který je chrání před oxidací, jak ve vodné, tak i v tukové fázi. Při zpracování takových produktů se často přírodní ochranný systém poruší, a proto je nutné výrobky stabilizovat.

Potravinářské antioxidanty se všeobecně klasifikují podle mechanismu účinku na primární antioxidanty a sekundární antioxidanty. Některé antioxidanty vykazují více než jeden mechanismus antioxidační aktivity, a proto se označují jako tzv. multifunkční antioxidanty (SCHMIDT, 2011).

Antioxidanty klasifikovat podle původu na syntetické a přírodní:

- **Syntetické antioxidanty**

Syntetické antioxidanty se vyznačují mnoha výhodami, jako je účinnost, nízká cena, stabilita, čistota a konstantní složení, ale o jejich využívání v potravinářství klesá zájem. Povolené syntetické antioxidanty ve většině zemích jsou: BHT (butylhydroxytoluen), BHA (butylhydroxyanisol), TBHQ (2-*tert*-butylhydrochinon, z anglického názvu „*tert*-butylhydroquinone), galláty (propylgallát, oktylgallát a dodecylgallát) a etoxyquin (6-etoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimetylchinolín, kyselina erythorbová a askorbylpalmitát. S vývojem nových antioxidantů jsou spojené vysoké náklady na výzkum, dále náklady na posouzení bezpečnosti a čas potřebný k získání legislativního schválení. Kvůli těmto omezením a vedle toho zvyšující se poptávce po přírodních antioxidantech je potravinářský průmysl více nakloněn přírodním antioxidantům (SCHMIDT, 2011).

- **Přírodní antioxidanty**

Mnohé rostliny se vyznačují antioxidačními vlastnostmi, obzvláště koření a byliny, které se po staletí používají k prodlužování trvanlivosti potravin. Vysokou účinností je znám rozmarýn a šalvěj, ale také oregano, tymián, kurkuma, hřebíček, ovesná mouka aj. Přírodní antioxidanty, které se často získávají z rostlin jako extrakty, avšak jejich

použití může být omezeno senzorickým aspektem. Získané extrakty totiž vedle antioxidantů mají vlastní vůni či chuť z použitých rostlin pro jejich výrobu. Mezi nevýhody přírodních antioxidantů patří vyšší cena, nepostačující stabilita a nižší antioxidační účinnost a rozdílnost šarží, vzhledem k různým podmínkám růstu rostlin (VELÍŠK a kol., 2009).

Nejdůležitějšími komerčními přírodními antioxidanty jsou tokoferoly a kyselina askorbová (získávají se i syntetickou cestou). I přírodní antioxidanty lze získat ve vysoké chemické čistotě, nicméně je to ekonomicky nevýhodné, proto se spíše připravují právě syntetickou cestou. Hlavní výhodou běžných koncentrací přírodních antioxidantů je jejich ověření člověkem dlouholetou praxí, díky čemuž je legislativní proces důkazu neškodnosti těchto látek krátkodobý, v porovnání s antioxidanty čistě syntetického původu (SCHMIDT, 2011). Přírodní antioxidanty vedle konkrétních látek se mohou vyskytovat i jako komplex látek různě reagující (primárním i sekundárním mechanismem spolu s jinými vlastnostmi) – příkladem je pozorování vyšší antioxidační kapacity a snížení ROS u broskví pomocí tepelného ošetření (teplou vodou a teplým vzduchem (HUAN a kol.,2017).

Přírodní antioxidanty lze dále dělit na rostlinné (např. karotenoidy) / živočišné (např. fosfolipidy). Dalším dělení antioxidantů je podle rozpustnosti na vodorozpustné (např. vitamín C) / olejorozpustné (např. vitamín E). Vedle těchto způsobů dělení se antioxidanty rozdělují dle již zmíněného mechanismu na primární (např. oxid siřičitý a siřičitany) / sekundární (např. galláty).

3.4 Vybrané antioxidanty

- **BHT**

Butylhydroxytoluen je účinný jako antioxidant živočišných tuků. Významnými produkty biologické přeměny BHT, které se dále vyznačují také antioxidačními účinky, jsou 3,5-bis(1,1-dimethylethyl) -4-hydroxybenzaldehyd a 3,5,3'5'-tetra-terc-butyl-4,4'-dihydroxy-1,2-difelyethan, také mohou vznikat nové další fenoly, chinony a stilbeny (VELÍŠEK, 2002).

Strukturou se řadí k monohydroxylovým fenolům. Patří mezi nejčastěji používanější syntetický antioxidant, spolu s BHA. Jedná se o bílou krystalickou látku, dobře rozpustnou v tucích a olejích. Kvůli své tepelné nestálosti je nevhodný při fritování a pražení potravin, je však termicky stabilnější než BHA (SCHMIDT, 2011).

- **BHA**

Butylhydroxyanisol je směsí dvou isomerů – převážná většina (zhruba 90%) představuje 3-terc-butyl-4-hydroxyanisol (3-BHA) a menší část (10%) zaujímá jeho isomer 2-terc-butyl-4-hydroxyanisol (2-BHA).

BHA se využívá pro ochranu tuků rostlinných olejů, arómat a silic. Dále se současně s BHT používá v obalových materiálech, odkud z povrchu může migrovat do objemu potravin. Avšak nevýhodou je jejich zápach připomínající fenoly.

Při antioxidačním účinku BHA přechází na dimery, bifenyly a jejich ethery (VELÍŠEK, 2002).

BHA je voskovitá látka, v tucích a olejích rozpustná o něco více než BHT. Využívá se převážně u rostlinných olejů s vyššími obsahy nenasycených mastných kyselin, kdy mastné kyseliny chrání před oxidačními změnami. Rovněž se využívá v pekařství a při výrobě cukrovinek (SCHMIDT, 2011).

- **TBHQ**

Terc-Butylhydroxychinon má dvě hydroxylové skupiny na benzenovém jádře. Z těchto syntetických antioxidantů (TBHQ, BHA a BHT) je nejvíce termicky stabilní, a proto je

vhodný pro potraviny určené ke smažení či jiným tepelným operacím. (VELÍŠEK, 2002).

TBHQ je béžový prášek a v rostlinných olejích se vyznačuje větší účinností než BHT a BHA. Lze ho využívat samostatně nebo synergicky s BHT a BHA. Je povolený pouze v USA (kde se nesmí mísit s propylgallátem), ale v Evropě a Kanadě se do potravin přidávat nesmí (SCHMIDT, 2011).

- **Galláty**

Galláty jsou estery kyseliny gallové, která má ve své struktuře 3 hydroxylové skupiny. Galláty oproti výše zmíněným (BHT, BHA, TBHQ) jsou přírodního původu, kdy se vyskytují v malém množství v potravinách rostlinného původu. Vzhledem ale k malému obsahu se vyrábí syntetickou cestou, proto je řadíme do skupiny syntetických antioxidantů.

Ze syntetických gallátů je nejvýznamnější propylgallát – bílý krystalický prášek, který se používá ve směsi s jinými antioxidanty kvůli synergickým účinkům. Používá se v tukových emulzích (u potravin s nižším obsahem tuků) kvůli jeho částečné rozpustnosti ve vodě. Je nestabilní při vyšších teplotách, a proto není vhodný na pražení a fritování. Oxidací propylgallátu vzniká kyselina ellagová (dimer kys. gallové), která sama o sobě je přírodním antioxidantem.

Oktylgallát a dodecylgallát jsou v lipidech více rozpustné a tepelně stabilnější než propylgallát (SCHMIDT, 2011).

- **Oxid siřičitý a siřičitany**

Tyto látky se řadí mezi aditiva, které používáme hlavně na inhibici růstu bakterií, plísní a kvasinek. Jedná se o redukující látky s bělicími vlastnostmi. Jejich antioxidační účinnost spočívá v prevenci před enzymovým a neenzymovým hnědnutím (což je oxidační proces), a proto je řadíme mezi antioxidanty, byť slabými. Využívají se k zabránění chuťových, aromatických a barevných nežádoucích změn v nápojích a ovoci (SCHMIDT, 2011).

- **Etoxyquin**

Etoxyquin je antioxidant, který je vhodný ke stabilizaci karotenoidů a kořeninových pigmentů (hodící se pro sušení a skladování mleté papriky a čili). Lze jej využít i ke stabilizaci potravin živočišného původu – krmné směsi, vedlejší produkty drůbežářského průmyslu a rybích výrobků. Používá se i na stabilizaci rybího oleje, brambor a hrášku při skladování. Jeho výhodou je nízká cena a dostupnost, ale v Evropské unii je zakázán (SCHMIDT, 2011).

- **Kyselina erytorbová (kyselina D-askorbová)**

Kyselina erytorbová má časté využití při uzení masa, kde funguje jako stabilizátor barvy, vůně, chuti a aroma nebo i jako antioxidant ovoce. Je to látka rozpustná ve vodě, podobná kyselině askorbové, má však menší aktivitu, než vitamínu C. Nevyznačuje se žádnými škodlivými účinky (SCHMIDT, 2011).

- **Askorbypalmitát**

Askorbypalmitát je syntetický derivát kyseliny askorbové s řetězcem palmitové kyseliny. Je to látka rozpustná v tucích, která zpomaluje žluknutí tuků v uzeninách, předchází oxidaci olejů na vaření při vysokých teplotách, zabraňuje hnědnutí ovoce na řezu a prodlužuje trvanlivost zpracovaných ořechů. Askorbypalmitát se v těle přeměňuje na kyselinu palmitovou a askorbovou, tedy látky, které jsou běžnou součástí potravy, proto se jedná o bezpečný antioxidant (WWW.ZDRAVAPOTRAVINA.CZ, 2017).

- **Vitamín E**

Tokoferoly a tokotrienoly se řadí do skupiny vitamínu E. Tokoferoly se běžně vyskytují v ořechách (mandle) a rostlinných olejích (slunečnicový, olej z obilných klíčků). Tokotrienoly s chemickou strukturou odpovídající nenasyceným tokoferolům se vyskytují v cereáliích (oves, žito, ječmen) a v některých rostlinných olejích (palmový, rýžový). Vitamin E se vyznačuje silnou antioxidační aktivitou a chrání proti

kardiovaskulárním onemocněním, ateroskleróze a některým druhům rakoviny. (CHARLES, 2012).

Vitamín E se skládá z 8 izomerů tokoferolu, avšak nejvyšší biologickou aktivitu vykazuje α -tokoferol (KOPŘIVA a kol., 2014).

Antioxidační účinky tokoferolů jsou závislé na teplotě, koncentraci, přítomnosti synergistů, světla a také na vlastním chemickém složení samotné potraviny, kterou chrání před oxidací. Tokoferoly se projevují jako primární antioxidanty, ale v menší míře zhasí i singletový kyslík, a tak vykazují charakteristiku i sekundárních antioxidantů (SCHMIDT, 2011).

- **Kyselina askorbová (vitamín C)**

Kyselina askorbová je slabá organická kyselina, která se vyskytuje v přírodě jako součást rostlinného tkániva, ale vyrábí se ve velkém množství synteticky (proto ji zařazujeme do syntetických antioxidantů). V některých potravinových výrobcích zastává také funkci dochucující a jako regulátor kyselosti. Jedná se jak o primární, tak i sekundární antioxidant. V potravinách se především uplatňuje jako sekundární antioxidant. Dále působí synergeticky s komplexotvornými látkami a regeneruje primární antioxidanty. Kyselina askorbová a její soli jsou rozpustné ve vodě, a proto se nedají účinně využít v potravinách bohatých na tuk, tam je nutné kyselinu askorbovou přidávat na lipofilním řetězci např. ve formě již zmíněného askorbylpalmitátu.

Soli kyseliny askorbové se využívají při stabilizaci nápojů kvůli antioxidačním schopnostem a jako konzervační činidlo (SCHMIDT, 2011).

- **Karotenoidy**

Karotenoidy jsou v tucích rozpustné žluté, oranžové nebo červené pigmenty syntetizované v rostlinách, řasách, houbách, bakteriích a kvasinkách. U lidí se účastní antioxidační ochrany organismu. Lykopen, β -karoten, lutein, zeaxanthin a astaxantin jsou příklady z více než 600 vyskytujících se přírodních karotenoidů, které jsou rozpustné v lipidech a nacházejí se v červeném, žlutém a oranžovém ovoci a zelenině a v zelených částech rostlin. Studie dokazují, že strava bohatá na karotenoidy nás chrání

před kardiovaskulárními nemocemi a určitými druhy rakoviny (prsou, plic, tlustého střeva a prostaty) (CHARLES, 2012).

Uplatňují se převážně jako sekundární antioxidanty, ale při nepřítomnosti kyslíku nebo za nízkého parciálního tlaku kyslíku se mohou projevit jako primární antioxidanty. Protioxidační účinky se projevují třemi možnými mechanismy: (1) lapače radikálů; (2) zhášecí excitovaných forem fotosenzibilizátorů; (3) zhášecí singletového kyslíku. Mezi nevýhody karotenoidů se řadí jejich nízká stabilita a potenciální riziko, že by rozkladné produkty některých karotenoidů mohly urychlovat rozklad hydroperoxidů a projevovat se tak naopak jako prooxidanty. Kvůli své chemické a fyzikální nestálosti se do potravin musí přidávat vhodným způsobem (SCHMIDT, 2011).

- **Flavonoidy**

Flavonoidy jsou sekundární produkty rostlinného metabolismu. Tato skupina rostlinných fenolů se především nachází v ovoci a zelenině a vyznačuje se antioxidačními a biologickými aktivitami (např. pozitivní účinek na cévy – stávají se pružnější). Dalšími významnými zdroji flavonoidů jsou černý a zelený čaj. Projevují se jako zhášecí hydroxylových, hydroperoxylových, perxylových a superoxidových radikálů. Flavonoidy projevují své antioxidační vlastnosti ve schopnosti poskytnout vodíkový atom jiným molekulám (jedná se tedy o primární antioxidant), vázat kovy do komplexů, redukovat α -tokoferoxylové radikály a tak regenerovat původní α -tokoferol, což vede k opětovné zhášecí funkci singletového kyslíku. Obsah flavonoidů v rostlinách je velmi nízký, a proto je jejich využití omezené. Některé flavonoidy mohou být naopak toxické nebo mutagenní, kvůli schopnosti fungovat jako prooxidanty (SCHMIDT, 2011; CANEDAS a kol., 2002).

- **Fenolové kyseliny**

Fenolové kyseliny se často vyskytují v rostlinách a semenech olejnin. Tyto kyseliny a jejich deriváty fungují jako primární antioxidanty. Antioxidační aktivita je založena na udělení atomu vodíku z molekuly antioxidantu alkylperoxylovému radikálu a hydroperoxidu a na vzájemné reakci alkoxylového radikálu a radikálu antioxidantu při vzniku neradikálového produktu (SCHMIDT, 2011).

Příkladem výskytu fenolů je malinový „odpad“, ve kterém byly identifikovány některé fenolové kyseliny a kvalifikovány HPLC. Závěr studie naznačuje použít malinovou výplň jako nutraceutický prostředek a funkční složku potravin (CANADANOVIC-BRUNET a kol., 2017).

Studie zabývající se výskytem fenolových kyselin v chia semínkách (*Salvia hispanica* L.) vyhodnotila jako hlavní fenolové sloučeniny kyselinu kafenovou, danshensu a její deriváty. Výsledky podávají nové informace o hlavních fenolových sloučeninách vyskytujících se v chia semínkách, které se vyznačují antioxidantními účinky (OLIVEIRA-ALVES a kol., 2017).

Ve studii, která se zabývala využitím extraktu ze stonku stévie (*Stevia rebaudiana*) byly zjištěny znatelně vyšší účinky proti oxidaci rybího oleje než u extraktu z listů stévie. K určení jednotlivých antioxidantů byl použit kapalný chromatograf. Bylo zjištěno 5 fenolových kyselin (popisujete kyseliny fenolové, nemluvte tedy jen obecně o fenolech), které mají funkci jako primární antioxidanty. Výsledky ukazují na možné využití stonku stévie jako přírodního materiálu se silnými antioxidantními schopnostmi v potravinářském průmyslu (YU a kol., 2017)

- Fenolové diterpeny

Fenolové diterpeny se nacházejí hlavně v rostlinách čeledi *Labiatae*. Nejvyužívanějším zdrojem diterpenů je rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*) a šalvěj (*Salvia officinalis*). V současnosti je na trhu hojné množství extraktů z rozmarýnu, šalvěje a obdobných rostlin s obsahy těchto diterpenů. Fenolové diterpeny nacházející se v šalvěji a rozmarýnu dokáží inaktivovat volné radikály, které vznikají autooxidací nenasycených lipidů (SCHMIDT, 2011).

- Taniny

Taniny jsou polyfenolové látky s vysokou molekulární hmotností. Na základě odolnosti vůči kyselé hydrolyze se dělí na hydrolyzovatelné taniny a kondenzované taniny. Vysokou antioxidantní aktivitou se vykazuje zelený čaj, ve kterém jsou taniny přítomny. Projevují se hned několika mechanismy: zhasením hydroxylových a superoxidových radikálů, inhibicí tvorby lipidových hydroperoxidů, inhibicí vzniku sekundárních

oxidačních produktů a dále se podílí na vázání kovových iontů do neaktivních komplexů (SCHMIDT, 2011).

- **Lignany**

Potravinářsky významnými lignany jsou cyklolignany (deriváty tetrahydronaftalenu a naftalenu) a bisepoxylygnany – deriváty 3,7–dioxabicyklo– (3,3,0)–oktanu. Které jsou izolovatelné ze stěn rostlinných buněk a vyznačují se dobrými antioxidačními účinky. Např. vysokou antioxidační aktivitou se vyznačují oleje ze sezamových semen nebo semen lnu (SCHMIDT, 2011).

• **Aminokyseliny a peptidy**

Mezi látky vykazující antioxidační kapacitu se také řadí proteiny (jiným názvem bílkoviny) a jim příbuzné látky. Řadí se mezi ně např. aminokyseliny, peptidy a proteinové hydrolyzáty, mléčné proteiny a další. Aby bylo působení proteinů účinné, je zapotřebí dostatečná koncentrace účinného peptidu a pH prostředí kolem hodnoty 5, které podporuje disociaci karboxylových skupin a odštěpení vodíkových iontů z volných aminoskupin aminokyselin. Dále se aminokyseliny (i některé bílkoviny) se vyznačují také chelatačními účinky (SCHMIDT, 2011).

- **Enzymové antioxidanty**

Enzymy glukooxidáza, superoxid dismutáza, kataláza a glutathion peroxidáza a jiné působí jako antioxidanty odstraňováním kyslíku a jeho aktivních forem z lipidického prostředí. Tyto enzymy eliminují volné radikály v buňkách, snižují koncentraci reaktivních forem kyslíku (ROS) a katalyzují rozklad samovolně vznikajícího peroxidu vodíku (SCHMIDT, 2011).

Mezi enzymové antioxidanty patří superoxid dismutasa, glutathionperoxidasa, glutathionrektasa, kataláza a peroxidáza (KOPŘIVA a kol., 2014).

- **Fosfolipidy**

Literatura uvádí (KOAMN a kol., 1989), že fosfolipidy samotné nemají antioxidační účinky, ale působí jako synergisty. Naopak ale jiní autoři tvrdí, že fosfolipidy samotné, ale i v kombinaci s tokoferoly, zvyšují oxidační stabilitu sójového oleje (SCHMIDT, 2011). Nepříliš používaný je v dnešní době komerční sójový lecitin, který je jako antioxidant málo účinný a tepelně nestabilní. Fosfolipidy reagují s volnými radikály, a tím odstraňují katalyzátory oxidace (SCHMIDT, 2011).

- **Steroly**

Steroly mohou oxidovat na povrchu olejů a zamezovat tak propagační fázi radikálové reakce olejů, kdy působí jako dárci vodíku. Mají dobré antioxidační schopnosti při vyšších teplotách, pražení a fritování (AKOH a kol, 2002).

Tabulka č. 1: Rozdělení antioxidantů dle původu, rozpustnosti a mechanismu

Antioxidant	Původ	Rozpustnost	Mechanismus
	přírodní (P) / syntetický (S)	vodorozpustný (V) / olejorozpustné (O)	primární (P) / sekundární (S)
Aminokyseliny a peptidy	P	V	P
Askorbypalmitát	S	O	S
BHA	S	O	P
BHT	S	O	P
Enzymové antioxidanty	P	O	S
Etoxyqin	S	O	P
Fenolové diterpeny	P	O	P
Flavonoidy	P	O	P
Fosfolipidy	P	O	S
Galláty	S	O	P
Karotenoidy	P	O	P, S
Kyselina askorbová	P	V	P, S
Kyselina erytorbová	S	V	S
Lignany	P	V	P
Oxid siřičitý a siřičitany	S	V	P
Steroly	P	O	P
Taniny	P	V	S
TBHQ	S	O	P
Vitamín E	P	O	P

3.5 Oxidační mechanismy hlavních živin

3.5.1 Lipidy

Jednou z nejvýznamnějších reakcí lipidů potravin je oxidace nenasycených vazeb (přítomných hlavně na řetězcích mastných kyselin) za vzniku hydroperoxidů (R–OOH) a jejich rozkladných produktů. Tato reakce je základem žluknutí tuků a olejů. Dvojitě vazby nenasycených mastných kyselin jsou více nestabilní a tím pádem citlivé k destrukci oxidací (Důvodem je vyšší reaktivita v místech molekuly, kde se vyskytuje dvojná vazba) (BRADY, 2013).

V potravinách může proběhnout několik typů oxidací lipidů, příkladem jsou:

- autooxidace (oxidace tripletovým kyslíkem $^3\text{O}_2$)
- oxidace hydroperoxy (R–OOH) či peroxy vodíku (H_2O_2)
- oxidace singletovým kyslíkem ($^1\text{O}_2$)
- oxidace katalyzovaná enzymy
- oxidace těžkými kovy (Me)

(VELÍŠEK, 2002)

3.5.1.1 Autooxidace

Autooxidace lipidů za vzniku hydroperoxidů a jejich následná degradace můžeme být rozdělena do tří fází v rámci radikálových řetězových reakcí:

1. Iniclace
2. Propagace
3. Terminace

Tyto fáze popisují posloupnost tvorby volných radikálů tuků ($\bullet\text{R}$), jejich reakce s kyslíkem ve formě řetězové reakce za tvorby jiných alkylových radikálů ($\bullet\text{R}$), zatímco dochází k rozkladu prvotních mastných kyselin a k možné terminaci jako sledu reakcí podle kombinací s dalšími radikály.

Iniciace

Autooxidace je iniciována tvorbou volných radikálů tuků jako výsledkem jednoho z několika procesů. Příkladem je aktivace pohlcením viditelným nebo UV zářením a teplem.

Methylenová skupina ($-\text{CH}_2-$) vedle dvojné vazby (o struktuře $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$) je lépe disociovatelná v rámci odštěpení atomu vodíku než další skupiny v řetězci mastných kyselin, a to v důsledku nižší disociační energie C-H vazby (322 kJ/mol) oproti methylenovým skupinám sousedící s jednoduchými vazbami (422 kJ/mol). Následkem působení např. UV záření je tak disociace molekuly za vzniku alkylového radikálu ($\text{R}\cdot$) a vodíkového ($\text{H}\cdot$).



Propagace

V propagační fázi reagují alkylové volné radikály ($\text{R}\cdot$) generované v iniciační fázi s tripletovým kyslíkem za vzniku alkyperoxylových radikálů ($\text{R-OO}\cdot$), které mohou vymanit atom vodíku z jiného alkylového řetězce mastných kyselin a vytvořit hydroperoxidový ($\text{HO}_2\cdot$) nebo jiný alkylový radikál ($\text{R}\cdot$).

Volný alkylový radikál ($\text{R}\cdot$) získaný z molekuly lipidu, může snadno reagovat s tripletovým kyslíkem za produkci alkyperoxylových radikálů ($\text{R-OO}\cdot$) viz rovnice č. 3.

Tvorba peroxylového radikálu:



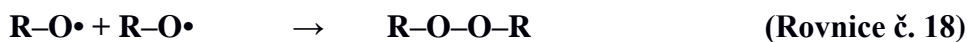
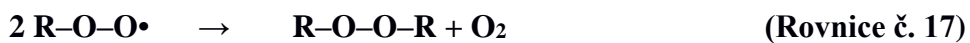
Tvorba hydroperoxidu:

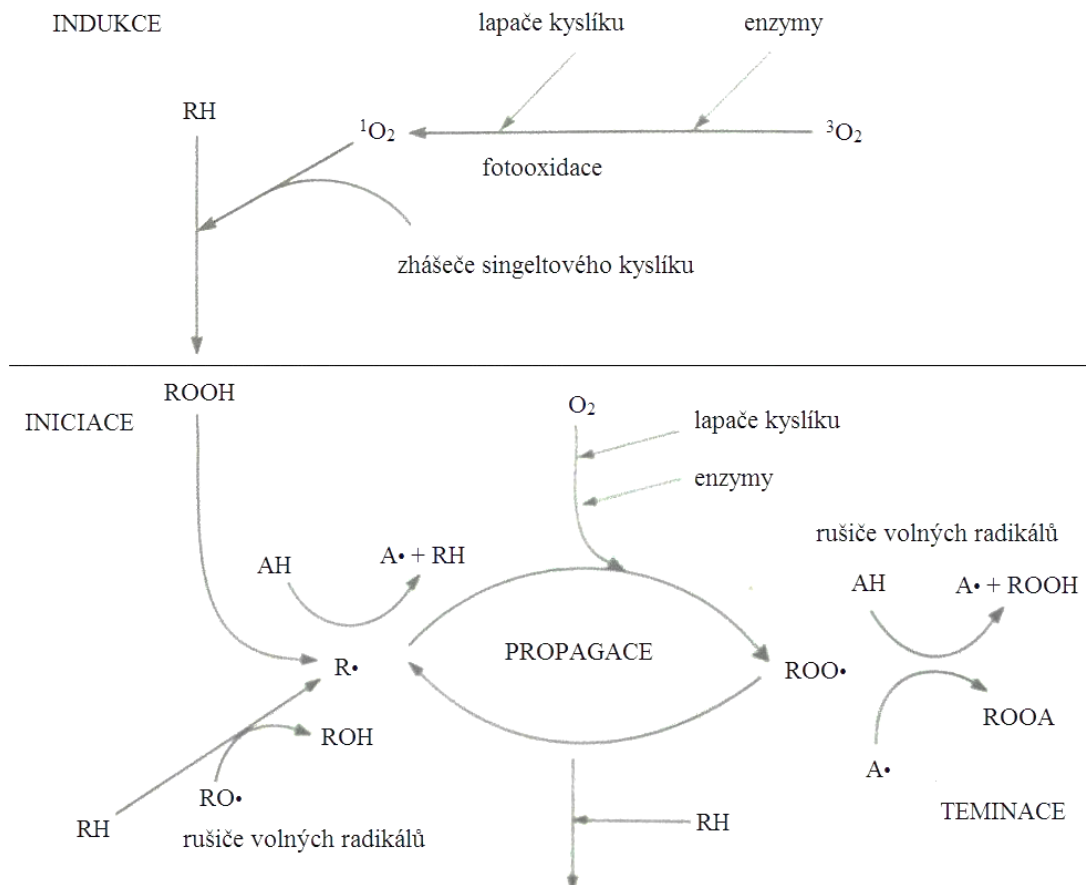


Tato reakce (spadající do propagační fáze) urychluje rozpad hydroperoxidu (rovnice č. 14). Rozkladnou fázi hydroperoxidu můžeme rozdělit do dvou fází. Prvním krokem je rozdělení kyslíkové vazby hydroperoxidu (R-OOH) za vzniku hydroxylového ($\cdot\text{OH}$) a alkoxy lipidového ($\text{R-O}\cdot$) radikálu. Ve druhém kroku alkoxylové radikály štěpí jednu z uhlíkových vazeb (C-C) opět za vzniku radikálu (BRADY, 2013).

Terminace

K terminaci dochází při dostatečně vysoké koncentraci volných radikálů, kdy je vysoká pravděpodobnost reakce dvou volných radikálů ($R\bullet$), kdy nastává tzv. rekombinace. Reakční řetězec začínající iniciací a majoritně pokračující přes propagaci končí až vznikem nového neradikálového produktu ($R-R$) ze dvou radikálů (VELÍŠEK a kol., 2009). Významnými terminačními reakcemi jsou:

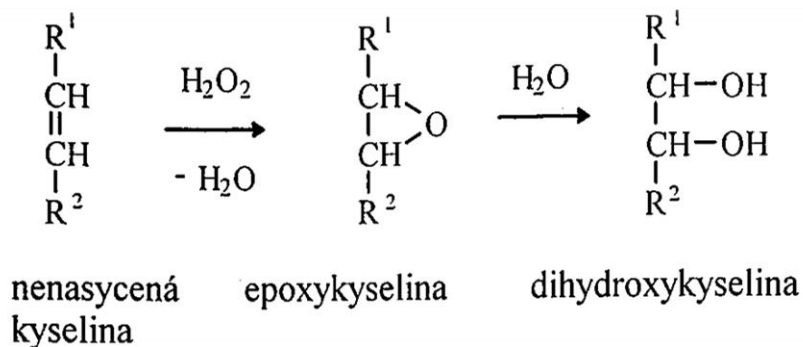




Obrázek č. 1: Reakční schéma oxidace lipidů v potravinách a funkčnost antioxidantů (SCHMIDT, 2011)

3.5.1.2 Oxidace hydroperoxydy či peroxidem vodíku

Hydroperoxydy lipidů se snadno rozkládají za vzniku volných radikálů urychlujících autooxidační reakci. Peroxid vodíku se vyznačuje možností oxidovat nenasycené mastné kyseliny neradikálovým mechanismem. Který vzniká v potravinách přirozenými způsoby. Primárním produktem oxidace je epoxid, který se okamžitě hydrolyzuje a vzniká dihydroxyderivát, respektive diol $[-(\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-)]$. (VELÍŠEK a kol., 2009).



Obrázek č. 2: Oxidace nenasyčených mastných kyselin peroxidem vodíku (VELÍŠEK; 2002)

3.5.1.3 Oxidace singletovým kyslíkem

Hlavní úlohu při tvorbě těkavých sloučenin tvoří autooxidace, kterou singletový kyslík ($^1\text{O}_2$) velice iniciuje, a je tak je považován za jednoho z hlavních iniciátorů tohoto procesu. V potravinách vzniká fotosenzibilizovanou reakcí tripletového kyslíku ($^3\text{O}_2$) s excitovanou molekulou barviva (chlorofylu, riboflavinu, feofytinu atd.). Barviva, která jsou schopna působit senzibilicky, tzn. citlivě, totiž absorbují viditelné světlo nebo jiné záření, a tak se excitují do vyššího energetického stavu. Následně existují 2 typy reakcí excitovaného stavu senzibilizátoru. Při prvním způsobu je vodík abstrahován z mastné kyseliny lipidu a vzniká lipidový radikál. Aby k této reakci došlo, musí mít excitovaný senzibilizátor dostatečnou energii na přerušeni C–H vazby, tuto energii mají jen některé látky (např. ketony: aceton, acetofenon, xanton). Tento způsob je dominantní jen při nízké koncentraci tripletového kyslíku. Barviva v potravinách ale využívají hlavně druhý způsob reakce, protože nemají dostatečnou excitační energii na přerušeni vazby C–H. Při této reakci vzniká singletový kyslík a senzibilizátor v základním stavu (dojde zde k předání excitační energie) nebo vzniká superoxid či oxidované formy senzibilizátoru. Tento druhý způsob reakce převládá v systému s vyšší koncentrací kyslíku a je prioritou v rámci působení senzibilizátorů rozpustných v tucích (např. u chlorofylu) (SCHMIDT, 2011).

3.5.1.4 Oxidace katalyzovaná enzymy

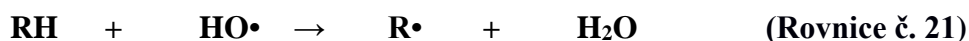
Ve většině potravinářských surovin a ve výrobcích, které nebyly zahřívány, jsou přítomny enzymy lipoxygenázy v nativní formě. Tyto enzymy zahřevem denaturují a ztrácejí svou účinnost. V rámci své struktury obsahují navázané železo podílející se

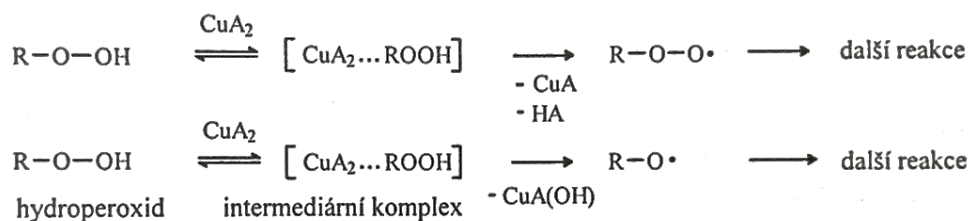
právě na katalýze oxidace lipidů. Je známo více druhů lipoxygenáz, které mají jiné účinky na různé substráty. Lipoxygenázy působí pouze na esenciální mastné kyseliny, které katalyzují na hydroperoxydy, ale na jiné nenasycené mastné kyseliny nemají katalytické účinky. Hydroperoxydy vzniklé katalýzou lipoxygenázy se liší od hydroperoxidů vzniklých autooxidací. Lipoxygenázy totiž podporují tvorbu hydroperoxidových skupin na určitých atomech uhlíku mastných kyselin a jsou regioselektivní (katalyzují oxidaci na určitém atomu uhlíku v řetězci) a zároveň stereoselektivní (produkují jen jeden typ optického izomeru hydroperoxidu – tedy pouze určitý typ enantiomeru). Při těchto reakcích se uplatňují i další doprovodné enzymy, díky kterým vznikají např. aroma hub, aroma čaje nebo i také různé příchutě (VELÍŠEK, 2002).

3.5.1.5 Oxidace kovy

Na oxidačních reakcích potravin se mohou podílet prakticky všechny kovy s proměnlivým mocenstvím. V rámci potravin jsou ale významnými jen sloučeniny železa a mědi. Důvodem je, že sloučeniny jiných kovů jsou přítomny v potravinách jen v zanedbatelném množství (DAVÍDEK, 1983).

Železitý kation (Fe^{3+}) může zahájit autooxidaci přímým napadením mastných kyselin za vzniku alkylových volných radikálů. Železnatý kation (Fe^{2+}) může také přímo zahájit autooxidaci za vzniku hydroxylových radikálů ($\cdot\text{OH}$) cestou Fentonové reakce (chemická reakce, kdy v přítomnosti tranzitních kovů Fe^{2+} , Cu^+ a jiných se peroxid vodíku redukuje a vzniká vysoce reaktivní a toxický hydroxylový radikál) (BRADY, 2013).





CuA_2 = měďnatá sůl, CuA = měďná sůl, HA = mastná kyselina, CuA(OH) = hydratovaná měďná sůl

Obrázek č. 3: Katalytické působení měďnatých sloučenin v reakcích (VELÍŠEK, 2002)

Oxidační reakce jsou ale také součástí komplexních procesů, probíhajících při skladování (žluknutí tuků) a technologických operacích (smažení tuků). Příkladem může být oxidační žluknutí, kdy při oxidaci tuků vznikají hydroperoxydy (které samy o sobě nemají vliv na senzickou kvalitu), ale jsou zdrojem následných látek s charakteristickými pachutěmi. Některé z těchto oxidací jsou žádané (např. u ovoce a zeleniny). U vybraných technologických operací dochází například k rychlé oxidaci, při smažení, což je způsobeno jednak zvýšenou teplotou a zvýšenou koncentrací kyslíku z atmosféry. Difúze se stává rychlejší při pění tuku, kdy se styčná plocha mezi tukem a vzduchem zvětšuje (VELÍŠEK, 2002).

3.5.2 Bílkoviny

V rámci oxidace bílkovin je důležitá jejich struktura, která je primárně tvořena typem a sekvencí aminokyselin. Oxidaci bílkovin lze proto dobře ilustrovat na oxidaci volných skupin samotných aminokyselin a jejich vzájemné reaktivitě. Nejvíce oxylabilními aminokyselinami jsou sirmé aminokyseliny (cystein a methionin), tryptofan a tyrosin, které jsou následně popsány.

- **Cystein**

K oxidaci cysteinu (thiolová skupina $-\text{SH}$) na cystin (disulfidová skupina $-\text{S}-\text{S}-$) dochází pomocí autooxidace. Tato reakce je vratná a štěpení disulfidové vazby cysteinu probíhá homolytickým nebo heterolytickým mechanismem. V prvním stupni

autooxidace vzniká alkylthiolát (aniont RS^-) reakcí thiolu ($R-SH$) s hydroxylovým iontem (OH^-). Výsledkem je vznik thiolového radikálu $R-S\cdot$.

Cystein se oxiduje nejen vzdušným kyslíkem, ale i hydroperoxydy mastných kyselin a peroxidem vodíku. Při oxidaci hydroperoxydy mastných kyselin vnikají kromě cystinu kyselina cysteinsulfenová, kyselina cysteinsulfinová a kyselina cysteinsulfanová ($-SO_3H$).

- **Methionin**

U methioninu probíhá oxidace působením hydroperoxidů mastných kyselin, oxidovanými polyfenoly, fotooxidací za katalýzy riboflavinem aj. Produktem oxidace bývá methioninsulfoxid, který je častou složkou různých potravin a jako zdroj methioninu je plně využitelný. Výsledným produktem při následné oxidaci je neupotřebitelný methioninsulfon.

- **Tryptofan**

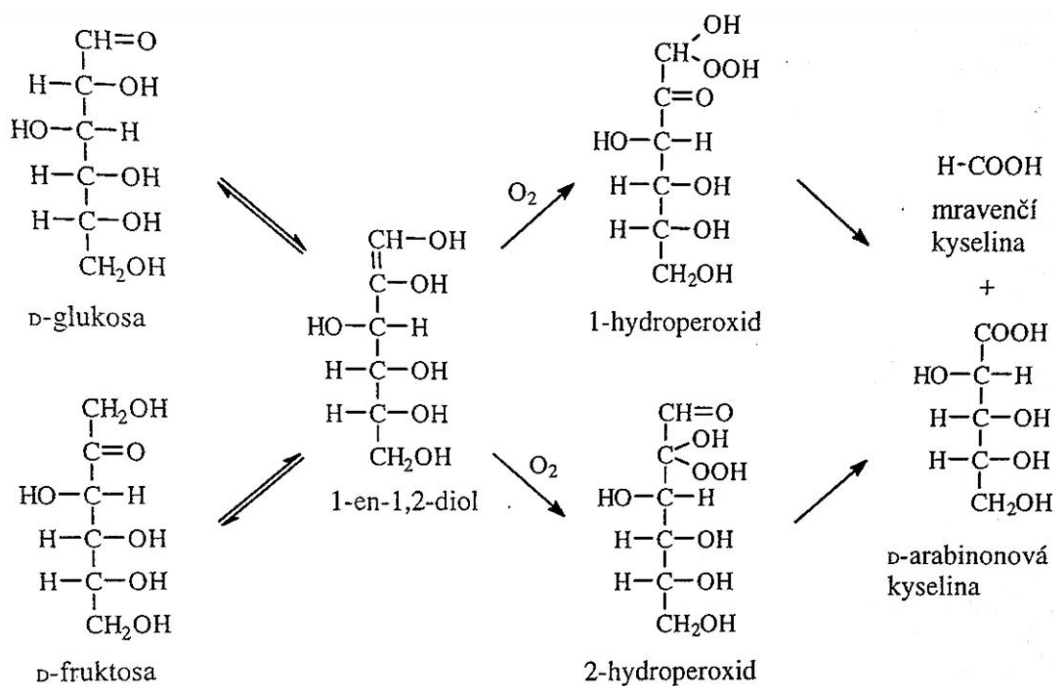
Tryptofan je látka, která je velmi oxylabilní především v kyselém prostředí. Oxidaci hlavně způsobují sulfoxidy, peroxykyseliny, peroxid vodíku nebo hydroperoxydy mastných kyselin. Dochází zde ke sledu reakcí jako při autooxidaci mastných kyselin a rozkladem hydroperoxidu tryptofanu vznikají kyslíkaté sloučeniny. Příkladem je kynurenin, který je nevyužitelný, mutagenní a potencionálně karcinogenní.

- **Tyrosin**

Tyrosin má význam jako substrát oxidoreduktáz při enzymovém hnědnutí potravin (VELÍŠEK, 2002).

3.5.3 Sacharidy

Ve struktuře sacharidů se vyskytují hydroxylové (–OH) a aldehydicke skupiny (–CHO). Z hlediska oxidace je významná hlavně tato aldehydicke skupina, která je oxidována v bazickém i kyselém prostředí na karboxylovou skupinu (–COOH). Autooxidace (oxidace vzdušným kyslíkem) probíhá nejrychleji v zásaditém prostředí. Během autooxidace vznikají nestálé hydroperoxydy z D–glukózy a D–fruktózy a jejich rozkladem vzniká kyselina mravenčí a D–arabinová kyselina. Působením ultrafialového záření dochází k radikálovému rozkladu cukrů. D–glukosa je oxidována na D–glukonovou kyselinu a zároveň při rozkladu vzniká D–arabinsa, oxid uhličitý a další degradační produkty. Příkladem významného degradačního produktu je glykolová kyselina (VELÍŠEK, 2002).



Obrázek č. 4: Reakční schéma autooxidace D–glukózy a D–fruktózy (VELÍŠEK, 2002).

Oxidačním změnám nepodléhají pouze hlavní živiny (lipidy, bílkoviny a sacharidy), ale i další látky, jako např. vitamíny, ale z hlediska výskytu v potravinách jim nebude věnována pozornost.

3.6 Metody stanovení antioxidantů

- **Stanovení celkové antioxidační kapacity**

Celkové stanovení antioxidační kapacity TAC (z angl. Total Antioxidant Capacity) je využíváno k charakteristice antioxidační účinnosti potraviny. Antioxidační kapacita se stanovuje pomocí chemických technik, které využívají činidla reagující s volnými kyslíkovými radikály za vzniku barevných produktů, přičemž jejich vzniku brání antioxidanty obsažené ve vzorku. Mezi tyto metody patří např. techniky eliminující syntetické stabilní radikály jako jsou DPPH a ABTS, dalším způsobem jsou metody založené na eliminaci kyslíkových radikálů ORAC (z angl. Oxygen Radical Absorbance Capacity), jiné metody využívají redukci železitých komplexů, např. FRAP (z angl. Ferric Reducing Antioxidant Power). Celková antioxidační kapacita se vyjadřuje na vlastnost odpovídající jedné látky o konkrétním množství, příkladem je vyjádření na trolox, kdy antioxidační kapacitu vyjadřujeme jako tzv. hodnotu TEAC (z angl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity – antioxidační kapacitu ekvivalentu Troloxu) (KOPŘIVA a kol., 2014).

- **FRAP**

Je spektrofotometrickou metodou využívanou ke stanovení TAC na principu redoxní reakce FRAP (z angl. Ferric Reducing Antioxidant Power). Je to technika založená na redukci železitých komplexů, které jsou bezbarvé. Redukcí na železnaté komplexy dochází k tvorbě fialového zbarvení, které je spektrofotometricky změřeno. Vzorek se měří na spektrofotometru při vlnové délce 593 nm.

- **ORAC**

Ke stanovení TAC je možné využít fluorescenční metodu ORAC. Je to metoda založená na vychytávání peroxylového radikálu antioxidanty obsaženými ve vzorku. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence. Radikál se hodnotí rychlostí úbytku signálu po přidání testovaného vzorku.

(KOPŘIVA a kol., 2014; MÁROVÁ, 2013; MUNI.CZ, 2017)

- DPPH

Tato metoda funguje na principu v reakce testované látky se stabilním radikálem difenylpicrylhydrazylem. DPPH se používá hlavně u barevných vzorků a nejčastěji je sledována spektrofotometricky (PAULOVÁ a kol.; 2004).

- **Stanovení specifických antioxidantů ve vzorcích potravin**

Při určování specifických antioxidantů se ve vzorku zjišťuje obsah vitamínu C a E, celkový obsah karotenoidů nebo jednotlivě β -karoten, celkový obsah fenolických látek nebo flavonoidů. Často se k analýze využívá separace na principu HPLC (z angl. High Performance Liquid Chromatography) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

- HPLC

Kapalinová chromatografie HPLC je separační analytická metoda, která funguje na principu mobilní a stacionární fáze (v HPLC je mobilní fází kapalina). Vzorek je dávkován do proudu mobilní fáze a v koloně je separován na jednotlivé složky vstupující do detektoru. Záznam z detektoru umožňuje následné vyhodnocení jak kvality i kvantity konkrétního analytu, tedy i konkrétního antioxidantu.

(KOPŘIVA a kol., 2014; APACH, 2017)

3.7 Legislativa

Antioxidanty povolené při výrobě potravin, které jsou přidávány v nezbytném množství, jsou estery mastných kyselin s askorbovou kyselinou (palmitát, stearát), přírodní přípravky obsahující tokoferoly a syntetické tokoferoly, které jsou přírodně identické.

Antioxidanty povolené v omezené míře jsou syntetické estery kyseliny gallové (propylgallát, oktylgallát, dodecylgallát) a fenolové antioxidanty BHA (butylhydroxyanisol) a BHT (butylhydroxytoluen). Pokud jsou tyto antioxidanty použity v kombinaci, musí být dávkováno jen takové množství látky, aby v součtu nepřeskočilo nejvyšší povolené množství pro danou potravinu.

Mezi další povolené antioxidanty patří kyselina erythorbová (isoaskorbová) a její soli a erythorbanu sodného (pro mastné výrobky a rybí výrobky, včetně polokonzerv a konzerv).

Látkou vyznačující se prospěšnými antioxidačními účinky, která se však řadí mezi konzervanty, je oxid siřičitý a jeho sloučeniny. Oxid siřičitý se řadí mezi alergenní složky. Vyhláška č. 113/2005 Sb. uvádí, že alergenní složka neb jakákoliv látka z ní pocházející, která byla použita při výrobě potraviny a je v konečném výrobku stále obsažena, a to i ve změněné formě, se zřetelně označí názvem alergenní složky ve složení potraviny. Toto označení není povinné, pokud název, pod kterým je potravina prodávána, jednoznačně odkazuje na alergenní složku.

Další povolenou látkou je TBHQ (terc-butylhydroxychinon), která se používá do tuků, olejů, polévek, omáček, žvýkaček a jiných potravin (VELÍŠEK, 2002).

4. Vlastní komentář k řešené problematice

V posledních letech se lidé více začali zajímat o výrobu či složení potravin, co se do nich přidává za aditiva a zda je možné nahradit syntetické za přírodní. Díky širšímu zájmu je i snadnější dohledat informace o přídatných látkách. Bakalářská práce byla zaměřena na antioxidanty využívané v potravinářském průmyslu. Zajímavostí je, že některé syntetické antioxidanty jsou povoleny v jedné zemi a v druhé zakázány. Je to dáno legislativou, která je např. v USA mírnější. Příkladem může být antioxidant BHT (E 321), který se vyrábí z vedlejší produktů vznikajících při výrobě ropy. Tento antioxidant může způsobit alergické reakce a jeho stopové množství se ukládá v tukových tkáních. Podle organizace IARC (z angl. International Agency for Research on Cancer) byla tato látka označena jako zvířecí karcinogen. Jeho užívání se však liší normami jednotlivých zemí, například v Japonsku a ve Spojeném království je používání zakázáno, zatímco v Německu a České republice je povoleno. Dalším příkladem látky lišící se normami používání je antioxidant BHA (E 320), který se vyrábí stejným způsobem jako BHT a byl vyhodnocen organizací IARC za zvířecí karcinogen. Jeho užívání je v USA povoleno, v celé EU povoleno v omezeném množství, ale v Kalifornii je považován za karcinogen. Další antioxidant, který je v České republice a celé Evropské unii zakázán, v USA povolen, je Ethoxyquin. Zbytkové množství této látky může setrvávat v játrech a zažívacím traktu. V rámci testování na zvířatech bylo dokázáno poškození jejich vnitřních orgánů.

Celkově vyplývá, že USA je daleko otevřenější k používání syntetických antioxidantů a má mírnější legislativu. Otázkou zůstává, zda se tento krok v budoucnosti potvrdí jako správný nebo naopak, kdy toto rozhodnutí může stát za zvýšením zdravotních potíží spotřebitelů.

V dnešní době je ale větší snaha spotřebitelů o navrácení se k přírodním aditivům celkově, a proto je možné, že se v budoucnosti užívání syntetických antioxidantů více omezí nebo se budou používat jen výjimečně.

5. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo sepsat literární rešerši o antioxidantech používaných v potravinářském průmyslu. V první části jsem uvedla definice antioxidantu a s ním související oxidační stres a volné radikály, na které antioxidant působí obranyschopně.

V další části práce jsem se zabývala rozdělením antioxidantů, které jsem klasifikovala podle účinku mechanismu na primární, které vychytávají volné radikály a přetvářejí je na neradikálové produkty, a sekundární, které zpomalují průběh oxidace a volné radikály přeměňují na stabilnější produkty. V práci se zabývám i látky s protioxidačními účinky jako jsou synergisty, chelatační činidla a sekvestranty. Dále se zabývám rozdělením antioxidantů na syntetické a přírodní, přičemž některé mohou být i přírodně identické. V této části práce jsem se zabývala také popisem jednotlivých antioxidantů.

V rámci oxidačních mechanismů jsem popsala hlavní složky potravin (lipidy, bílkoviny a sacharidy), přičemž největší část jsem věnovala lipidům, které z uvedených živin podléhají oxidaci nejvíce.

V oblasti instrumentální analýzy antioxidantů jsou 2 způsoby stanovení. Prvním způsobem je stanovení celkové antioxidační kapacity (TAC). TAC se dá stanovit pomocí více technik – FRAP, DPPH, ORAC. Druhým způsobem je stanovení jednotlivých antioxidantů ve vzorcích potravin, ke kterému se nejčastěji používá kapalinový chromatograf HPLC.

V poslední kapitole jsem se zabývala legislativou, kde jsem objasnila povolené dávkování antioxidantů podle právních předpisů České republiky a Evropské unie.

6. Souhrn a Resume, Klíčová slova

Souhrn

Antioxidanty v potravinářském průmyslu

Tato bakalářská práce je zaměřena na antioxidanty používané v potravinářském průmyslu. Obsahem je obecný popis antioxidantů v rámci jejich mechanismu (primární, sekundární) a jejich původu (přírodní, syntetické). Další kapitola pojednává o samotných antioxidantech. V rámci objasnění problematiky týkající se oxidace jsou v práci popsány oxidační mechanismy hlavních živin potravin (lipidy, bílkoviny, sacharidy). V praxi je běžně stanovována celková antioxidační kapacita či jednotlivé antioxidanty obsažené v potravinách. K tomuto účelu jsou využívány různé metody, kterým je v práci věnována samostatná kapitola.

Klíčová slova

Antioxidant, volný radikál, lipid

Resume

Antioxidants in the Food Industry

This bachelor thesis is focused on antioxidants used in the food industry. The content is general description of antioxidants within their mechanical effect (primary, secondary) and their origin (natural, synthetic). Next part is about antioxidants themselves. Within clarification of problematics about oxidation are described oxidation mechanisms of main food nutrients (lipids, proteins, carbohydrates). Ordinarily is determined total antioxidant capacity or individual antioxidants contains of food in practice. For this purpose are used different methods described in separate chapter in this thesis.

Key words

Antioxidant, free radical, lipid

7. Použitá literatura a zdroje

AKOH, C.C.; MIN; B.D.: *Food lipids: chemistry, nutrition, and biochemistry*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: M. Dekker, c2002. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 117. ISBN 0824707494.

APACH. [online]. Copyright © [cit. 24.04.2017]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/files/apach-1a-hplc.pdf>

BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P.: *Food chemistry*. 4th rev. and extended ed. Berlin: Springer, c2009. ISBN 978-3-540-69933-0.

BRADY, J. W.: *Introductory food chemistry*. Ithaca: Comstock Publishing Associates, 2013. ISBN 978-0-8014-5075-4.

CADENAS, E.; PACKER, L.: *Handbook of antioxidants*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, c2002. ISBN 0824705475.

CANADANOVIC-BRUNET, J.; VULI, J.; CEBOVIC, T.; CETKOVIC, G.; CANADANOVIC, V.; DIJILAS, S.; SAPONJAC, VT.: Phenolic Profile, Antiradical and Antitumour Evaluation of Raspberries Pomace Extract from Serbia. *Iranian journal of pharmaceutical research* 16, 142–152, 2017, ISSN: 1735-0328.

DAVÍDEK, J.; JANÍČEK, G.; POKORNÝ, J.: *Chemie potravin: učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983.

HUAN, C.; HAN, S.; JIANG, L.; AN, X.; YU, M.; XU, Y.; MA, R.; YU, Z.: Postharvest hot air and hot water treatments affect the antioxidant system in peach fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and technology* 126, 1–14, 2017, ISSN 0925-5214. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2016.11.018.

CHARLES, D. J.: *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. New York: Springer, 2012. ISBN 9781461443094.

KOPŘIVA, V.: *Vybrané kapitoly z biochemie potravin*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-677-3.

MÁROVÁ, I.; OBRUČA, S.: *Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. ISBN 978-80-214-4788-2.

OLICEIRA-ALVES, S.C.; VENDRAMINI-COSTA, D.B.; BETIM CAZARIM, C.B.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; BORGES FERREIRA, J.P.; SILVA, A.B.; PRADO, M.A.; BRONZE, M.R.: Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry* 232, 295-305, 2017. ISSN: 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.002

PAULOVÁ, H.; BOCHOŘÁKOVÁ, H.; TÁBORSKÁ, E.: Redirect [online]. Copyright © [cit. 01.05.2017]. Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf

POKORNÝ, J., YANISHLIEVA, N., GORDON, M.: *Antioxidants in food, Practical applications*. Abington: Woodhead Publishing Ltd, 2001. ISBN 0-8493-1222-1.

RACEK, J.: *Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění*. Praha: Galén, 2003. Repetitorium, sv. 6. ISBN 80-7262-231-5.

SCHMIDT, Š.: *Antioxidanty a oxidačné zmeny tukov v potravinách*. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011. Edícia monografií. ISBN 978-80-227-3491-2.

VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.

VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 1*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.

VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.

VYHLÁŠKA č. 4/2008 Sb. *Zákony pro lidi - Sbírka zákonů ČR v aktuálním konsolidovaném znění* [online]. Copyright © [cit. 24.04.2017]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-4>

VYHLÁŠKA č. 113/2005 Sb. *Vyhláška o způsobu označování potravin a tabákových výrobků. Zákony pro lidi - Sbírka zákonů ČR v aktuálním konsolidovaném znění* [online]. Copyright © [cit. 03.05.2017]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2005-113>

WWW.IS.MUNI.CZ z: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2015/Bi5220c/um/9_Metody_stanoveni_antioxidantu.pdf?lang=en [cit. 24. 4. 2017]

WWW.ZDAVAPOTRAVINA.CZ. *Zdravá potravina* [online]. Dostupné z: <http://www.zdravapotravina.cz/seznam-ecek/E304>. [cit. 24.04.2017].

YU, H.; YANG, G.; SATO, M.; YAMAGUCHI, T.; NAKANO, T.; XI, Y.: Antioxidant activities of aqueous extract from *Stevia rebaudiana* stem waste to inhibit fish oil oxidation and identification of its phenolic compounds. *Food Chemistry* 232, 379-386, 2017. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.004

8. Přílohy

Příloha č. 1: Seznam antioxidantů povolených při výrobě potravin a podmínky jejich použití – 1. část

E kód	Antioxidant	Potravina nebo skupina potravin	NPM mg . kg ⁻¹
E310	Propylgallát	Tuky a oleje pro výrobu tepelně opracovaných potravin	200* (galláty, TBHQ a BHA jednotlivě nebo v kombinaci) 100* (BHA) obojí vyjádřeno na tuk
E311	Oktylgallát	Oleje a tuky na smažení, kromě oleje z olivových výlisků	
E312	Dodecylgallát	Sádlo, rybí tuk, hovězí lůj, drůbeží tuk a skopový lůj	
E319	Terciální butylhydrochinon (TBHQ)		
E320	Butylhydroxyanisol (BHA)		
E321	Butylhydroxytoluen (BHT)	Směsi pro přípravu moučnicků	200 (galláty, TBHQ a BHA jednotlivě nebo v kombinaci) vyjádřeno na tuk
		Snacky na bázi bílkovin	
		Sušené mléko pro prodejní automaty	
		Omáčky	
		Sušené maso	
		Zpracovaná ořechová jádra	
		Předvařené obiloviny	
		Koření a ochucovací přípravky	20 (galláty, a BHA jednotlivě nebo v kombinaci) vyjádřeno na tuk
		Sušené brambory	25 (galláty, TBHQ a BHA jednotlivě nebo v kombinaci)
		Žvýkačky	400 (galláty, TBHQ a BHA jednotlivě nebo v kombinaci)
		Doplňky stravy stanovené vyhláškou č. 225/2008 Sb.	
		Vonné silice	1000 (galláty, TBHQ, BHT a BHA jednotlivě nebo v kombinaci)
		látky určené k aromatizaci jiné než vonné silice	100* (galáty jednotlivě nebo v kombinaci)200 (TBHQ a BHA jednotlivě nebo v kombinaci)

Seznam antioxidantů povolených při výrobě potravin a podmínky jejich použití – 2. část

E kód	Antioxidant	Potravina nebo skupina potravin	NPM mg . kg⁻¹
E315	Kyselina erythorbová	Masné výrobky nasolené či naložené do solící směsi a masné konzervy	500
		Rybí konzervy a polokonzervy	1500
E316	Erythorban sodný	Zmrazené a hluboce zmrazené ryby s červenou kůží	1500
E392	Rozmarýnové extrakty	Rostlinné oleje (kromě panenských olejů a olivových olejů) a tuky s obsahem polynenasycených mastných kyselin vyšším než 15 % hmotnostních z celkového množství mastných kyselin pro použití v tepelně neošetřených potravinářských výrobcích	30 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Rybí oleje a olej z mořských řas	50 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Hovězí a ovčí lůj, drůbeží a vepřový tuk	
		Snacky na bázi obilovin, brambor nebo škrobu	
		Fritovací oleje a fritovací tuk, kromě olivového oleje a oleje z výlisků oliv	
		Omáčky	100 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Jemné pekárenské výrobky	200 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Doplňky stravy stanovené vyhláškou č. 225/2008 Sb.	400 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk

Seznam antioxidantů povolených při výrobě potravin a podmínky jejich použití – 3. část

E kód	Antioxidant	Potravina nebo skupina potravin	NPM mg . kg⁻¹
E392	Rozmarýnové extrakty	Sušené brambory	200 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Vaječné výrobky	
		Žvýkačky	
		Mléko v prášku pro použití v prodejních automatech	
		Koření a ochucovadla	
		Zpracované ořechy	
		Dehydrované polévky a vývary	50 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Sušené maso	150 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
		Masné a rybí výrobky, kromě sušeného masa a sušených masných výrobků	
		Sušení masné výrobky	100 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk
Potravinářská aromata	1000 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk		
Sušené mléko pro výrobu zmrzliny	30 (jako součet karnosolu a karnosolové kyseliny) vyjádřeno na tuk		
E586	4-hexylresercinol	Čerství, zmrazení a hluboko zmrazení korýši	2 zbytkové množství v mase korýšů

Poznámka:

Pokud jsou galláty, TBHQ, BHA a BHT použity v kombinaci, musí být jejich jednotlivá množství úměrně snížena tak, aby jejich celkové množství nepřekročilo nejvyšší povolené množství.

NPM – nejvyšší povolené množství

(VYHLÁŠKA č. 4/2008)