

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

**FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH  
ZDROJŮ**

**KATEDRA CHEMIE**



**Stanovení kapsaicinoidů v rodu paprika  
(Determination of capsaicinoids in the genus *Capsicum*)**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Kateřina Kracíková**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Alena Hejtmánková, CSs.**

**© 2015 ČZU v Praze**

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení kapsaicinoidů v rodu paprika" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

.....

.....

## **Poděkování**

Ráda bych zde poděkovala vedoucí své diplomové práce doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. za cenné rady, připomínky a čas, který mi věnovala při řešení této problematiky. Dále děkuji rodině a všem přátelům, kteří mě za dobu studia jakkoliv podpořili.

# **Stanovení kapsaicinoidů v rodu paprika**

---

## **Determination of capsaicinoids in the genus *Capsicum***

### **Souhrn**

Paprika je plodem rostliny, která patří do rodu *Capsicum*. Nejznámější je *C. annuum*. Má největší hospodářský význam, protože je distribuována po celém světě. Plody jsou vynikajícím zdrojem zdraví prospěšných látek.

Rostlina syntetizuje a hromadí kapsaicinoidy, které jsou zodpovědných za pikantní chuť. Kapsaicin je bílá krystalická látka, rozpustná v tucích, bez chuti a bez zápachu. Kapsaicinoidy jsou používány především v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Pěstování čím dál více oblíbených chilli papriček se za poslední léta rozmohlo i v ČR. Tato práce se věnuje stanovení kapsaicinoidů v různých druzích papriky: extra pálivých dovezených ze zahraničí, čerstvých, a sušených mletých, kupovaných v obchodním řetězci.

V této práci byla na základě literární rešerše zavedena a optimalizována metoda HPLC pro stanovení obsahu kapsaicinoidů v rodu paprika. Vlastní stanovení obsahu kapsaicinoidů v rodu paprika bylo provedeno na kapalinovém chromatografu (HPLC) firmy Waters.

Výsledky ukázaly, že většina paprik zakoupených v obchodním řetězci v ČR není pálivá, až na ty vzorky, u kterých pálivost byla předpokládána, tedy paprika pálivá mletá (2681,00, resp. 2649,00 SHU), chilli (kajenský pepř) (14028,0 SHU) a z čerstvých plodů to byla paprika zelená pálivá tenkostěnná (dužina – 428,000 SHU i semena – 2193,00 SHU). U papriček zakoupených na e-shopu, specializujícím se na pálivé produkty, bylo prokázáno velké množství obsažených kapsaicinoidů (od 2709,00 do 381377 SHU), a tedy i úroveň pálivosti: velmi silně pálivé.

**Klíčová slova:** rod *Capsicum*, kapsaicin, dihydrokapsaicin, chilli paprička, paprika setá, HPLC

## Summary

Paprika is the fruit of plants belonging to the genus *Capsicum*. The best known is *C. annuum*. It has the greatest economic importance, because it is distributed throughout the world. Fruits are an excellent source of health-promoting substances.

The plant synthesizes and accumulates capsaicinoids, responsible for the spicy taste. Capsaicin is a white crystalline substance soluble in fats, tasteless and odorless. Capsaicinoids are used primarily in the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

Growing of the more and more popular chilli peppers has spread in Czech Republic over the past years. This paper deals with the determination of capsaicinoids in peppers in various kinds: extra chilli imported from abroad, fresh, dried and ground, purchased in a store.

The HPLC method for the determination of capsaicinoids in the genus *Capsicum* was established and optimized based on a literature review. The determination of capsaicinoids in the genus *Capsicum* was performed on liquid chromatograph (HPLC) owned by the Waters company.

The results showed that the majority of peppers purchased in a store chain in the Czech Republic are not hot, except for those samples in which pungency was assumed, that is: hot pepper powder (2681,00, resp. 2649,00 SHU), chilli (cayenne pepper) (14028,0 SHU) and fresh fruit of green hot pepper thin (pulp 428,000 SHU and seeds 2193,00 SHU). Peppers purchased in an e-shop specialized on spicy products were proven to contain large amounts of capsaicinoids (from 2709,00 to 381377 SHU), and thus reach the level of hotness: very very hot.

**Keywords:** genus *Capsicum*, capsaicin, dihydrocapsaicin, chilli pepper, pepper cress, HPLC

# OBSAH

<b>1.</b>	<b>Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2.</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>10</b>
	2.1 Hypotézy.....	10
<b>3.</b>	<b>Botanická charakteristika rodu <i>Capsicum</i> .....</b>	<b>11</b>
	3.1 Taxonomické zařazení .....	11
<b>4.</b>	<b>Druhy papriky.....</b>	<b>13</b>
	4.1 <i>Capsicum annuum</i> – paprika roční (obr. 1) .....	13
	4.1.1 Odrůdy .....	13
	4.2 <i>Capsicum frutescens</i> – paprika křovitá (obr. 2, 3).....	14
	4.3 <i>Capsicum chinense</i> - paprika čínská.....	16
	4.4 <i>Capsicum pubescens</i> – paprika pýřitá.....	16
	4.5 <i>Capsicum baccatum</i> .....	16
<b>5.</b>	<b>Vegetační znaky .....</b>	<b>17</b>
	5.1 Lodyha .....	17
	5.2 Listy .....	17
	5.3 Kořeny .....	17
<b>6.</b>	<b>Generativní znaky.....</b>	<b>18</b>
	6.1 Květy.....	18
	6.2 Plody.....	18
	6.3 Semena.....	18
<b>7.</b>	<b>Pěstování papriky .....</b>	<b>19</b>
	7.1 Starověk .....	19
	7.2 Středověk .....	19
	7.3 Současnost .....	20
<b>8.</b>	<b>Chemické složení papriky .....</b>	<b>22</b>
<b>9.</b>	<b>Kapsaicinoidy v paprice .....</b>	<b>24</b>
	9.1 Původ kapsaicinu .....	24
	9.2 Struktura kapsaicinu .....	24
	9.3 Kapsinoidy .....	25
	9.4 Tvorba kapsaicinu.....	26
	9.5 Zastoupení kapsaicinoidů v paprice.....	26

9.6	Pálivost .....	33
9.7	Doporučené hodnoty .....	33
<b>10.</b>	<b>Faktory ovlivňující obsah kapsaicinoidů v paprice .....</b>	<b>35</b>
10.1	Fyzikální faktory .....	35
10.2	Sušení a skladování .....	35
10.3	Působení vody .....	35
<b>11.</b>	<b>Využití kapsaicinu a jeho biologické účinky .....</b>	<b>37</b>
11.1	Kulinářské využití .....	37
11.2	Farmaceutické využití .....	37
11.2.1	Antioxidační účinky .....	37
11.2.2	Analgetikum .....	38
11.2.3	Využití v onemocnění cévního, nervového a pohybového aparátu .....	38
11.2.4	Využití v onemocnění zažívacího traktu .....	39
11.2.5	Využití v onemocnění močové soustavy .....	39
11.2.6	Využití v onemocnění dýchací soustavy .....	39
11.2.7	Využití v onemocnění srdečního svalu .....	40
11.2.8	Protirakovinné působení .....	40
11.2.9	Využití s boji s obezitou .....	41
11.2.10	Vnější použití a kosmetické účinky .....	41
11.2.11	Použití v zemědělství .....	41
11.3	Negativní účinky .....	42
<b>12.</b>	<b>Metody stanovení obsahu kapsaicinů .....</b>	<b>43</b>
12.1	Organoleptické stanovení pálivosti .....	43
12.2	Analytické metody .....	44
12.3	Kapalinová chromatografie (HPLC) .....	45
12.3.1	Úvod do chromatografických metod .....	45
12.3.2	Součásti chromatografické soustavy .....	46
12.3.3	Princip separace .....	47
12.3.4	Stacionární fáze .....	47
12.3.5	Mobilní fáze .....	47
12.3.6	Dávkování vzorků .....	49
12.3.7	Předkolona a kolona .....	50
12.3.8	Detektor .....	50
<b>13.</b>	<b>Experimentální část .....</b>	<b>52</b>

13.1	Použité přístroje, zařízení a pomůcky .....	52
13.2	Použité chemikálie .....	52
13.3	Analyzovaný materiál .....	52
13.4	Zavedení a optimalizace metody HPLC .....	55
13.4.1	Stanovení kapsaicinoidů v rodu paprika .....	55
13.4.2	Mez detekce a mez stanovitelnosti.....	58
13.5	Příprava vzorků.....	58
13.6	Výsledky .....	59
13.7	Dotazníkové šetření .....	64
<b>14.</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>67</b>
<b>15.</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>74</b>
<b>16.</b>	<b>Zdroje – literatura .....</b>	<b>75</b>
<b>17.</b>	<b>Přílohová část .....</b>	<b>82</b>



# 1. Úvod

Paprika je plodem rostliny, která patří do rodu *Capsicum*, který se skládá z více než 200 odrůd rozdělených do více než 30 druhů, z toho pět druhů zdomácnělo: *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. a *C. pubescens* Ruiz & Pav., a je známá především svými méně či více palčivými plody.

Tato nepříliš vzácná, ale za to velmi užitečná plodina byla používána již ve starověku. Používaly se pro své léčivé vlastnosti a zralé plody po rozemletí jako koření. *C. annuum* je nejznámější a má největší hospodářský význam, protože je distribuována po celém světě. Je obvykle konzumována buď syrová, vařená nebo je používána jako přídatná látka v potravinářském průmyslu. Plody jsou vynikajícím zdrojem zdraví prospěšných látek, jako je například askorbová kyselina (vitamín C), karotenoidy (provitamin A), tokoferoly (vitamín E), flavonoidy, a kapsaicinoidy.

Rostlina syntetizuje a hromadí kapsaicinoidy, skupinu alkaloidů zodpovědných za pikantní chuť. Jejich koncentrace je závislá na genotypu, zralosti plodů a podmínkách pěstování.

Kapsaicinoidy jsou taktéž hojně používané ve farmaceutickém průmyslu, ve kterém mají velmi široké uplatnění. Používá se jako analgetikum, při potížích zažívacího traktu, dýchacího ústrojí, při boji s některými typy rakoviny atd.

Tato práce se věnuje stanovení kapsaicinu v různých druzích papriky: extra pálivých dovezených ze zahraničí, čerstvých, a sušených mletých, kupovaných v obchodní řetězci.

## **2. Cíl práce**

Cílem práce je stanovení obsahu kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v různých druzích rodu *Capsicum* vypěstovaných nebo zakoupených v obchodní síti v České republice nebo na e-shopu a jejich vzájemné porovnání. Dílčími cíli práce jsou zavedení a optimalizace metody HPLC pro stanovení jednotlivých kapsaicinoidů v rodu *Capsicum*, vyhodnocení a ověření vztahu mezi obsahem kapsaicinoidů a pálivostí jednotlivých druhů, určení stupně pálivosti dle Scovillovy stupnice a určení doporučené maximální denní spotřeby příslušných druhů vzhledem k doporučenému dennímu příjmu kapsaicinu.

### **2.1 Hypotézy**

Různé druhy rodu *Capsicum* mají jiný obsah kapsaicinu a dihydrokapsaicinu.

Pálivost jednotlivých odrůd rodu *Capsicum* souvisí s obsahem kapsaicinoidů.

### **3. Botanická charakteristika rodu *Capsicum***

*Capsicum* – paprika, rod zahrnující asi deset druhů jednoletých bylin a keřů (Cheers, 2003), pochází z tropické Ameriky, pravděpodobně z Kolumbie – i když roste v mnoha oblastech Střední i Jižní Ameriky (Valíček, 2005). Obecně se v rámci celého světa pěstuje v teplých oblastech jižní Evropy, ve Střední Americe, Indii a východní Asii (Valíček, 2005). Například Mexiko je zemí s největší rozmanitostí papriček. Představuje i část národní tradice a kulturní identity (González-Zamora et al., 2013). V ČR se pěstuje jen omezeně, a to v teplých oblastech (Baranec a kol., 2001).

Paprika je proslulá svými více či méně palčivými plody. Některé silně palčivé odrůdy se v kuchyni některých částí světa považují za základní surovinu místních pokrmů. Existují dohady, jak a kdy se paprika dostala z Ameriky do Asie. Někteří se domnívají, že tomu tak bylo ještě v předkolumbovské době, ale ať už to bylo kdykoliv, je nepopiratelné, že většina dnešních východoasijských a jihoasijských pokrmů by bez paprik nebylo to pravé (Cheers, 2003).

Paprika je jednoletý druh s jednoduchými listy. Květy jsou bílé a plody tvoří netypickou vysychavou bobuli. Zralé plody se po rozemletí používají jako koření (Baranec a kol., 2001). Některé drobnoplodé odrůdy se pěstují jako okrasné pro živě zbarvené plody, které se ovšem snadno mohou zaměnit s podobnými okrasnými zástupci čeledi lilkovitých (*Solanaceae*), jejichž plody jsou jedovaté (Cheers, 2003).

#### **3.1 Taxonomické zařazení**

Rod *Capsicum* byl v roce 1908 začleněn do všeobecně uznávaného botanického systému:

Oddělení	<i>Embryophytae</i>
Kmen	<i>Angiospermae</i> (krytosemenné)
Třída	<i>Dicotyledonea</i> (dvouděložné)
Podtřída	<i>Metachlamidae</i>

Řád *Tubiflorae*  
Podřád *Solanineae*  
Čeleď *Solanaceae*  
Skupina *Solaneae*  
Skupinka *Solaninae*  
Rod *Capsicum*  
(Špaldon, 1948).



**Obr. 1: Paprika roční (*Capsicum annuum*)**

## **4. Druhy papriky**

### **4.1 *Capsicum annuum* – paprika roční (obr. 1)**

Paprika roční je jediný druh, který zahrnuje většinu plodových variant z celého rodu – od velkých sladkých, téměř kulatých paprik, používaných do salátů a na plnění mletým masem, přes plody špičaté a tzv. kapie až po ty nejmenší a nejpálčivější papriky chilli.

Navzdory svému jménu jsou rostliny ve své domovině víceleté a mohou tvořit jak keříkovité jednoleté rostliny, tak i dlouhověké keře, vysoké až 1,8 m (Cheers, 2003). Valíček (2005) uvádí, že přímá lodyha je silně větvící a dosahuje výšky 0,3 – 1,2 m. Listy jsou řapíkaté, vejčité, zaostřené. Hlavním znakem druhu jsou většinou jednotlivé květy s nazpět zahnutými stopkami (Cheers, 2003). Květy jsou jinak pětičetné, bílé, žlutavé nebo fialové, vyrůstající jednotlivě nebo v chudých květenstvích (Valíček, 2005). Mnoho variet dalo vznik ještě většímu počtu odrůd, které se dělí do skupin podle velikosti a tvaru plodů.

#### **4.1.1 Odrůdy**

Paprika roční pravá *Capsicum annuum* convar. *annuum* je původní paprika se špičatými plody různě ostré chuti. Nejvíce jsou známé kuželovité nebo jehlanovité plody papriky roční velkoplodé.

*Capsicum annuum* convar. *grossum* s podélně rýhovaným tlustým oplodím, které se nejčastěji používá do salátů – většinou jsou jen mírně pálčivé nebo zcela sladké.

Paprika roční *Capsicum annuum* convar. *longum* má plody dlouhé, špičaté, někdy mírně prohnuté, které mohou být sladké nebo mírně až silně pálčivé. Nejčastěji ji zastupují balkánský sortotyp Kapia a kořeninové typy.

Některé odrůdy mají plody kratší a kuželovité, většina poměrně malé a pálčivé, jiné se pěstují jen jako okrasné rostliny s různě barevnými, červenými,

žlutými nebo černořialovými plody. Typickým příkladem je „Red Missile“ s plody, které jsou zpočátku smetanově bílé, ale dozrávají do řialové až červené barvy.

Paprika třeřňová *Capsicum annuum* convar. *cerasiforme* má malé kulovité plody, některé odrůdy se pěstují jako okrasné. Postupně vznikaly odrůdy s větřšími a méně ostrými plody. V každé skupině existuje celá řada odrůd s plody v různých odstínech červené, řialé, zelené a řialové barvy i mnoho tvarových variací a velikostí (Cheers, 2003).

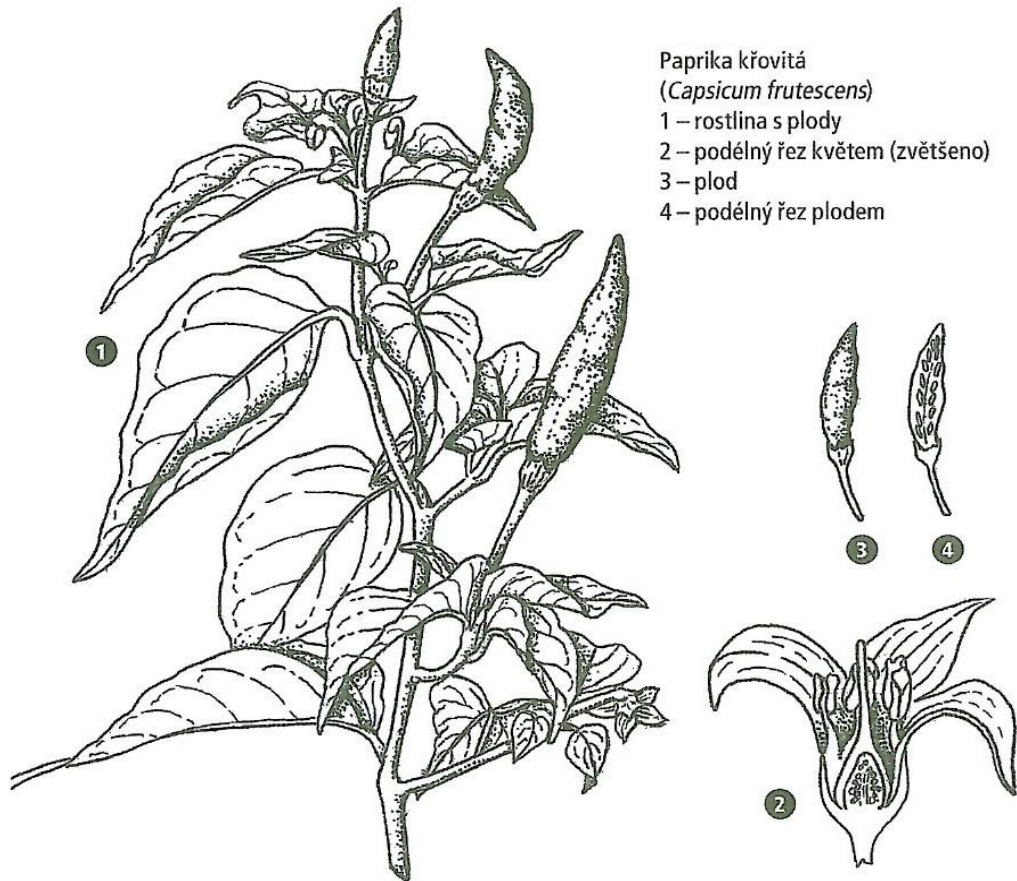
## **4.2 *Capsicum frutescens* – paprika křovitá (obr. 2, 3)**

Její domov je v tropické Americe a pěstuje se všude v tropech, především však v Indii a Indočíně (Valíček, 2005).

Je to druh, který reprezentují krátkověké trvalky nebo dlouhověké keře. Keře někdy dorůstají výšky až 2,5 m a časem zcela zdřevnatí (Cheers, 2003). Podle Valíčka (2005) výška dosahuje 0,5 – 1,5 m.

Od papriky roční *Capsicum annuum* se liří pouze dvěma až několika květy v úřlabí listů, jejichž stopky jsou zahnuté pouze na vrcholku, a celkově menřšími listy. Pěstují se jako trvalky s krátkým stonkem, který je na bázi dřevnatý a bývá vysoký asi 1 m. Plody jsou velmi variabilní – v závislosti na odrůdě, ale větřšinou jsou velmi malé a všechny mají ostře palčivou chuť.

Jako tzv. chilli papričky se používají na nakládání nebo do chilli omáček různého druhu. Hybridní papriky Tabasco, pocházejí z města stejného názvu v jižním Mexiku, daly jméno i omáčce velmi ostré chuti. Thai hot jsou papriky proslulé v jihovýchodní Asii pro silně palčivou chuť (Cheers, 2003). V obchodě, především v Latinské Americe se nazývají „chilli“, usušené a rozemleté se často vyskytují také pod názvem „kajenský pepř“, a to podle přístavu Cayenne ve Francouzské Guyaně. Tento druh je i součástí již zmíněného Tabasca a v Africe koření berbera. Ze sušených plodů se získává olejopryskyřice, která se využívá v potravinářství a farmacii (Valíček, 2005).



Obr. 2: Paprika křovitá (*Capsicum frutescens*)



Obr. 3: Paprika křovitá (*Capsicum frutescens*)

### **4.3 *Capsicum chinense* - paprika čínská**

Druh vysoký 40 – 80 cm, navzdory svému názvu rozšířený především v severní části Jižní Ameriky, který svým habitem připomíná papriku křovitou. Palčivost plodů planě rostoucích rostlin je tak výrazná, že se v karibské oblasti používaly k mučení zajatců. Jako koření slouží sušené nebo čerstvé plody, které jsou považovány za nejpálivější druh koření a používají se podobně jako Tabasco.

### **4.4 *Capsicum pubescens* – paprika pýřitá**

Vytrvalá bylina nebo popínavý polokeř dosahující výšky 2 – 3 m. Pochází z oblasti And a pěstuje se především v Kolumbii, Ekvádoru, Bolívii a Peru, kde je známá pod názvem „rocoto“.

### **4.5 *Capsicum baccatum***

Vytrvalá bylina dosahující výšky 1 – 2 m, která pochází z Jižní Ameriky.

Jako koření se oba poslední druhy používají především v čerstvém stavu (Valíček, 2005).



## **5. Vegetační znaky**

### **5.1 Lodyha**

Lodyha paprik je popisována jako vzpřímená (Špaldon, 1948), tuhá (Cheers, 2003) a rozvětvená, bývá hladká. Lodyha je u některých druhů chlupatá. Stonek je buď zelený, nebo dřevnatý, může tvořit korunu různého tvaru a velikosti (Valíček, 2005). Výška lodyhy je rozmanitá – papriky lze dělit na nízké (30 – 40 cm), středně vysoké (45 – 60 cm) a vysoké (až 100 cm). Tato rozmanitost platí i pro tloušťku lodyhy, obecně však platí, že nízké formy mají často tlustou lodyhu a vysoké formy mají tenké lodyhy.

### **5.2 Listy**

Listy jsou na rostlině papriky rozloženy po dvou a třech svazcích. Tvar listu je rozmanitý, může být elipsovitý, vejcovitý, s ostrým nebo protažených vrcholem (Špaldon, 1948), listy jsou řapíkaté, kopinaté, lysé, chlupaté nebo celokrajné (Valíček, 2005). Listy mají hladký až jemně pilovitý okraj (Špaldon, 1948). Barvu mají zelenou (Cheers, 2003), avšak Špaldon (1948) tvrdí, že zbarvení listů může přecházet od žlutozelené po tmavě zelenou v závislosti na druhu. Stejně jako lodyhu lze i listy rozdělit dle velikosti na formy velkolisté, středně velkolisté a drobnolisté.

### **5.3 Kořeny**

Všechny druhy papriky mají stejný kořenový systém. Hlavní kořen vrůstá hlouběji do země a z něj vyrůstají plošné postranní kořeny (Špaldon, 1948). Dle Valíčka (2005) je rostlina spíše mělce kořenící, kořeny pronikají do hloubky 30 – 50 cm.

## **6. Generativní znaky**

### **6.1 Květy**

Květy papriky jsou drobné, dvojpohlavní (Špaldon, 1948), jsou jednotlivé nebo po několika v úžlabí listů (Cheers, 2003). Květy jsou bělavě zelené až fialové s pěti- až sedmicípým neopadavým kalichem (Valíček, 2005). Plodový kalich má polokulatý tvar a zelenou barvu. Papriky lze rozdělit na velkokvěté, středně až velkokvěté a drobnokvěté.

### **6.2 Plody**

Plod papriky je charakterizován jako nafouklá bobule s dužnatými stěnami. Forma plodů je velice rozmanitá (jablkovitá, kubická, rajčatovitá, třešňovitá, kuželovitá, mající tvar rohu, apod.) a stejně tak velikosti plodu jsou rozličné, a to v rozmezí od 2 do 30 cm. S velikostí plodů souvisí tloušťka stěny papriky. Obecně platí, že drobné plody bývají tenkostěnné a naopak. Povrch plodů bývá hladký, popukavý nebo vrásčitý (Špaldon, 1948). Dále platí, že čím jsou menší plody, tím je paprika palčivější (Cheers, 2003). Barva plodu přechází přes širokou paletu barev a odstínů. Lze dosáhnout papriky barvy hnědo-zelené, oranžové až po intenzivně červenou (Špaldon, 1948). Červené zbarvení zralých paprik je způsobeno několika pigmenty se strukturou podobnou karotenoidům, konkrétně kapsanthinu, kapsorubinu, kryptoxanthinu a zeaxanthinu, které jsou přítomny ve formě esterů mastných kyselin. Nejvýznamnějším barvivem je kapsanthin a jeho izomer kapsorubin, který tvoří 30 – 60 %, resp. 6 – 18 % celkového obsahu karotenoidů v plodu.

### **6.3 Semena**

Uvnitř plodu se nacházejí semena (70 – 600 kusů), která jsou upevněna na semeníku a žilkách (Špaldon, 1948), tj. švech vzniklých srůstem plodolistů (Valíček, 2005). Tvar semene je silně zploštělý (Špaldon, 1948), barva žlutá (Valíček, 2005).

## **7. Pěstování papriky**

### **7.1 Starověk**

V jihozápadním Ekvádoru se nachází archeologický důkaz, že chilli papričky byly dobře známé a zdomácnělé již před 6000 lety a jsou jednou z prvních pěstovaných plodin v Americe (Arora et al., 2011).

Paprika byla používána už v dávných časech jako užitečná a léčivá rostlina. Byla používána proti trávicím potížím a proti nadýmání, proti průjmům, artritidě, astmatu, bolestem zubů či svalovým křečím. Např. Aztékové používali směs chilli a medu k léčbě kašle (Krishna, 2003). Běžné bylo přidávání do rostlinných přípravků, protože působí jako „katalyzátor“, „spouštěč účinků“ dalších bylin a pomáhá jejich absorpci (Huang et al., 2013).

Indiáni používali papriku jako koření i zeleninu dávno před příchodem Španělů. Kořenili s ní nápoje i jídla a považovali ji za jídlo boha ohně. Do Evropy se však dostala až po návratu dobyvatelů z Haiti.

### **7.2 Středověk**

První ověřené zprávy o paprice pocházejí z roku 1493 od španělského lékaře Chanca ze Sevilly, který doprovázel Kolumba na jeho druhé plavbě do Ameriky a nazýval tuto plodinu „agi“. Protože se do Evropy dostala zásluhou Španělů, zněl jeden z jejích názvů „španělské“ nebo také „indiánské koření“. Záznamy o jejím pěstování na evropském kontinentu pocházejí z roku 1564 z Kastilie. Zprvu však byla paprika jen zajímavou okrasnou rostlinou.

Mattiolo (1501 – 1577) ve svém herbáři uvádí, že paprika je rostlina přesporní, ale i nám již také v Němcích a Čechách obyčejná a známá. Francouzský botanik a profesor na vídeňské univerzitě Carolus Clusius (1526 – 1609) píše, že tento indický, spíše ale americký pepř, sázejí v Kastilii ve Španělsku pilně nejen zahradníci, ale též hospodyně v zelenářských zahradách. Používá se jak čerstvý, tak sušený místo koření a pepře. Také uvádí, že již v roce 1585 spatřil na předměstí

Brna rozsáhlou výsadbu tohoto koření. Ve skutečnosti se zde začala pěstovat již v roce 1566.

V Evropě se paprika šířila v 16. a 17. století, ze Španělska zamířila do Turecka a odtud do Maďarska a dalších oblastí. V roce 1775 píše maďarský botanik Jozsef Csapó, že paprika se v Uhrách pěstuje v zahradách a rolníci její dlouhé lusky melou na prášek a koření tím jídla. Dnes je národním kořením Maďarů a Španělů (Valíček, 2005).

### **7.3 Současnost**

Pěstování čím dál více oblíbených chilli papriček se za poslední léta rozmohlo i v ČR (obr. 4). Růst papriky je ovlivněn řadou faktorů životního prostředí. Největší vliv mají dostupnost vody, sluneční záření a teplota (González-Zamora et al., 2013). Kořeninová paprika je náročnější na prostředí než paprika zeleninová. Jde především o potřebu vyšších teplot během vegetace a také dostatek srážek. Technologie pěstování se však nijak neliší od papriky zeleninové, pouze vlastní sklizeň a následné zpracování je jiné (Valíček, 2005). V teplých krajích ČR lze papriku pěstovat zejména na polích. Pouze pokud nejsou klimatické podmínky příliš vhodné, doporučuje se skleník či fóliovník (Pavela, 2006). Optimální teplota je 22 – 25 °C během vegetace, nejvhodnější je půda hlinitopísčítá, záhřevná, dobře propustná a s vysokým obsahem humusu (Valíček, 2005). Snížení růstu plodů v období vysokých teplot bylo dokumentováno pro celou řadu rostlinných druhů, včetně chilli. Z tohoto důvodu vysoká teplota představuje jedno z hlavních rizik, protože omezuje přežití, produktivitu a distribuci chilli papriček ve velkých oblastech světa (González-Zamora et al., 2013).

Chilli papričky s většími plody, krátkověké papričky s malými plody i papriky roční se nejčastěji pěstují jako jednoletá polní nebo zahradní zelenina, která pro uzrání plodů vyžaduje dlouhá teplá a vlhká léta (Cheers, 2003). Bobule s tlustými šťavnatými stěnami a tupým vrcholem se většinou sklízí nedozrálé a jsou známé jako zeleninová paprika (Valíček, 2005).

Protože rostliny hluboko kořenují, sázejí se do hluboké kypré půdy, a pro dobrý růst se vydatně zalévají. V teplejších oblastech se mohou semena vysévat přímo na záhony, ale v chladnějších podmínkách je nutné předpěstovat sazenice ve skleníku a vysadit je teprve v době, kdy již pominulo nebezpečí pozdních mrazíků. Keřovité papričky vyžadují v teplých oblastech pouze chráněné místo u zdi (Cheers, 2003).

Snadno se množí semeny, a to výsevem do truhlíků s následným přepichováním. Takto získaná sadba musí být zdravá, silná a dobře vyvinutá. Rostliny se vysazují do sponu 50 x 40 cm a ošetřování spočívá v pravidelném plečkování, přihnojování a přiměřené závlaze. Vzhledem k tomu, že kořeninová paprika se pěstuje až do plné zralosti plodů, je její vegetační doba velmi dlouhá a činí přibližně 200 dní (Valíček, 2005).

Obsah kapsaicinu v paprice je jedním z hlavních parametrů, které určují jeho obchodní jakost (Nwokem et al., 2010). Prodejci se ale často uchylují k podvodům či falšování při dodávkách nebo prodeji paprik (papriček), za cílem dosažení vyššího zisku. Celé chilli papriky mohou obsahovat i nestandardní kusy, vyšší vlhkost, minerální oleje či syntetická barviva pro zlepšení vzhledu a barvy. Problémem je i přidavek jiné sklizně o jiné kvalitě. Chillí prášek bývá falšován přidavkem perikarpu, semen, kalyxu a stopek ke zvýšení množství. Jsou známy případy přidavku umělých barviv, mletých mandlových skořápek či červené řepy.



**Obr. 4: Úroda chilli papriček v roce 2009 v ČR (soukromý pěstitel)**

## **8. Chemické složení papriky**

V plodu papriky je hlavním producentem kapsaicinu placenta. Průměrný obsah kapsaicinu v plodu papriky je 0,14 % - tento údaj se však může měnit v závislosti na půdních a klimatických podmínkách, odrůdě papriky a období sklizně (Krishna, 2003).

Paprika, ať už čerstvá nebo ve formě koření, má poměrně bohatý a různorodý obsah chemických látek.

Nejvíce je zastoupena voda v čerstvě utrženém plodu. Její obsah se pohybuje cca. od 80 do 93 %. Obsah vody ale rapidně klesá po sklizni, kdy se plod začne dehydratovat (Špaldon, 1948).

Celkový obsah sacharidů v paprice roční je okolo 4,6 %, ale jejich hladina kolísá dle odrůd. V červených zralých plodech je nejvíce zastoupena glukóza (Nielsen et al., 2006).

V semenech, oplodí a žilkách jsou obsaženy i lipidy, konkrétně neutrální lipidy, fosfolipidy a glykolipidy (Špaldon, 1948). Dále jsou přítomny karotenoidy (hlavně červený kapsantin), ale také zeaxantin a  $\alpha$  i  $\beta$  – karoten, flavonoidy, glykoalkaloidy (solanin), kumariny (skopoletin), silice (1 – 1,5 %), tuk (4 – 16 %) a jiné (Valíček, 2005).

Dle studií provedených v Maďarsku bylo zjištěno, že plody papriky obsahují aminokyseliny arginin, lysin, prolin, tryptofan, tyrosin, metionin, fenylalanin, valin, leucin, glycin, asparagin, glutamovou kyselinu, alanin a threonin (Nielsen et al., 2006), dále listovou a nikotinovou kyselinu (Valíček, 2005).

Papriky obsahují vysokou koncentraci vitamínu C (100 – 300 mg/100 g dužniny), vitamínů A, E, P, provitaminů, thiaminu, riboflavinu a niacinu (Valíček, 2005). Stopové prvky jsou zastoupeny železem, bromem a manganem. Ostatní mikroprvky jsou vápník, kobalt, hořčík, fosfor, měď, sodík, draslík a zinek (Nielsen et al., 2006).

Pálivé papriky *Capsicum annuum* L. var. Bronowicka Ostra byly pěstovány na experimentálních polích zemědělské Univerzity v Lublinu v letech 1997-1999. Plody byly sklizeny na konci srpna v etapě jejich plné zralosti a rozděleny podle oplodí, placenty a semen. Oplodí bylo lyofilizováno (sušené vymražením) a skladováno při – 20°C, dokud nebylo analyzováno. Tyto vzorky byly studovány s ohledem na obsah flavonoidů a jiných fenolů. Devět sloučenin z oplodí papriky bylo izolováno preparativní HPLC. Jejich struktury byly identifikovány chromatografickou a spektroskopickou technikou. Dvě z těchto identifikovaných sloučenin, trans-p-ferulylalcohol-4-O-(6-(2-methyl-3-hydroxypropionyl)glukopyranosid a luteolin-7-O-(2-apiofuranosyl-4-glukopyranosyl-6-malonyl)-glukopyranosidu byly nalezeny poprvé v rostlinné říši. Navíc sloučeniny: trans-p-feruloyl-b-d-glukopyranosid, trans-p-sinapoyl-b-d-glukopyranosid, kvercetin 3-OAL-rhamnopyranosid-7-OBD-glukopyranosid, luteolin 6-Cbd-glukopyranosid-8-Cal-arabinopyranoside, apigenin 6-Cbd-glukopyranosid-8-Cal-arabinopyranosid a luteolin7-O-[2-(bd-apiofuranosyl)-bd-glukopyranosid] byly zjištěny poprvé v plodu papriky (Materska et al., 2003).

## **9. Kapsaicinoidy v paprice**

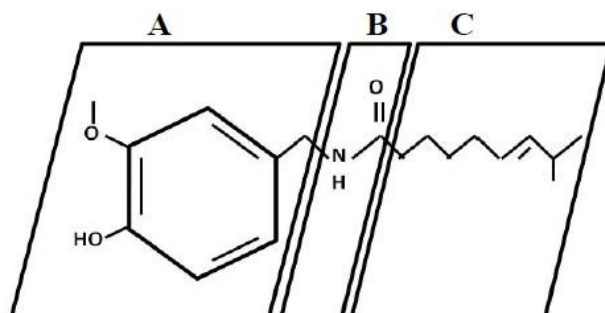
Alkaloid kapsaicin (obr. 5) je hlavní účinnou složkou papriky roční a způsobuje její ostrou a pálivou chuť (Moravcová, 2006). Kapsaicin je bílá krystalická látka, rozpustná v tucích, bez chuti a bez zápachu. Je stabilní a nerozkládá se během tepelné úpravy ani v průběhu dlouhodobého skladování.

### **9.1 Původ kapsaicinu**

Kapsaicin jako první zmiňuje v roce 1876 J.C.Tresh (USA), který ho také pojmenoval (Reyes-Escogido et al., 2011). Byl poprvé izolován v roce 1898 (Krishna, 2003) a jeho molekulární strukturou se poprvé zabýval Nelson a Dawson v roce 1919 (Reyes-Escogido et al., 2011).

### **9.2 Struktura kapsaicinu**

V roce 1923 byla poprvé popsána jeho chemická struktura (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamid), sumární vzorec je tedy  $C_{18}H_{27}O_3N$  (Krishna, 2003). Jeho molekulová hmotnost je  $305,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Molekula kapsaicinu byla rozdělena na tři části: aromatický kruh (A), amidovou vazbu (B) a hydrofobní postranní řetězec (C) (obr. 5) (Reyes-Escogido et al., 2011).



Obr. 5: Molekula kapsaicinu

Více než dvacet známých kapsaicinoidů jsou všechno amidy tvořené kondenzací vanillylaminu a mastných kyselin s různou délkou řetězce. Formy různých přírodních kapsaicinoidů závisí na počtu atomů uhlíku v bočním řetězci

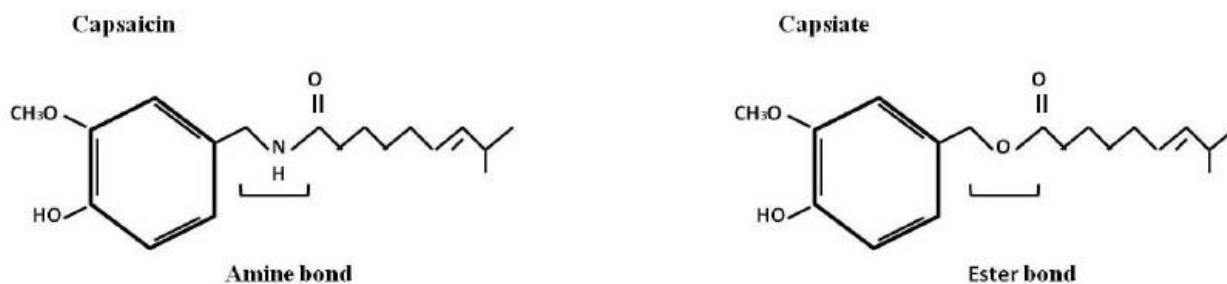


nebo na přítomnosti nebo nepřítomnosti nenasycených vazeb (Reyes-Escogido et al., 2011).

Vzhledem k ekonomickému a zemědělskému významu kapsaicinu existuje překvapivě málo údajů o genetice této sloučeniny a její biosyntéze. Je známo, že jednotlivé genotypy vykazují velké rozdíly v akumulaci kapsaicinu v reakci na řadu genetických a environmentálních faktorů.

### **9.3 Kapsinoidy**

Kapsinoidy jsou látky, které mají pozoruhodnou strukturní podobnost s kapsaicinoidy. Liší se pouze typem vazby ve středu molekuly, amidová skupina v kapsaicinoidech a esterická vazba v kapsinoidech (obr. 6) (Reyes-Escogido et al., 2011).



**Obr. 6: Podobnost kapsaicinu (vlevo) a kapsinoidu (vpravo)**

Studie prokázaly, že biologická účinnost kapsinoidů je podobná kapsaicinu bez ostrosti nebo smyslového dráždění. Nepálivá analoga molekuly byla vyvinuta na základě poptávky. Jsou to slibné molekuly s mnoha možnými klinickými aplikacemi, ale nedostatek klinických studií zatím brání jeho rozšíření ve farmakologickém využívání (Reyes-Escogido et al., 2011).

## **9.4 Tvorba kapsaicinu**

Kapsaicinoidy jsou syntetizovány výlučně v epidermálních buňkách (Garcés-Clavier et al., 2006). Předpokládá se, že kapsaicin je rostlinou syntetizován jako ochrana před býložravci (Šupálková et al., 2007).

In vitro a in vivo studie ukázaly, že kapsaicinoidy jsou metabolizovány různými způsoby:

- (1) hydrolýza vazby amidu-kyselina a oxidační deaminace vytvořeným vanillylaminem
- (2) hydroxylace vanillylového kruhu, případně prostřednictvím epoxidace
- (3) jeden elektron zoxidovaného kruhu hydroxyly vytvoří fenoxyradikály a kapsaicinoidové dimery
- (4) oxidace na koncovém uhlíku postranního řetězce (Scientific Commited on Food, 2002).

Působení kapsaicinoidů na nociceptivní (tzn. přijímající, či vedoucí škodlivé zejména bolestivé podněty) nervová zakončení je zprostředkováno membránovým receptorem spřaženým s kationtovým kanálem, označovaným TRPV1 (transient receptor potential ion channel of the vanilloid type 1). TRPV1 se aktivuje i dalšími, strukturně odlišnými, látkami odvozenými např. od kyseliny vanilové. Nezbytným předpokladem aktivity kapsaicinoidů je přítomnost amidové vazby, naproti tomu délka řetězce amidově vázané karboxylové kyseliny má pouze modulační účinek. Obdobné látky s esterovou vazbou, kapsinoidy, které vznikají v kultivarech s mutací genu pro aminotransferázu zodpovědnou za konverzi vanilaldehydu na vanilamin, jsou neaktivní. Plody papriky jsou pálivé proto, že rostliny syntetizují a akumulují ve svých tkáních kapsaicin a celou skupinu jeho analogů, známých jako kapsaicinoidy (Lapčík et al., 2011).

## **9.5 Zastoupení kapsaicinoidů v paprice**

Kapsaicin je nejvíce soustředěn především v přepážkách bobulí (Valíček, 2005). Nedávná studie Arory et al. (2011) tvrdí, že kapsaicin je většinou umístěn v puchýřkách nebo vakuolách jako subbuněčná organela epidermálních buněk

placenty v lusku. Nejvyšší koncentrace kapsaicinu se nachází v semeníku a v dužině a nejnižší obsah kapsaicinu se nachází v semenech. Semena nejsou zdrojem ostrosti, ale občas absorbují kapsaicin, protože jsou v blízkosti placenty.

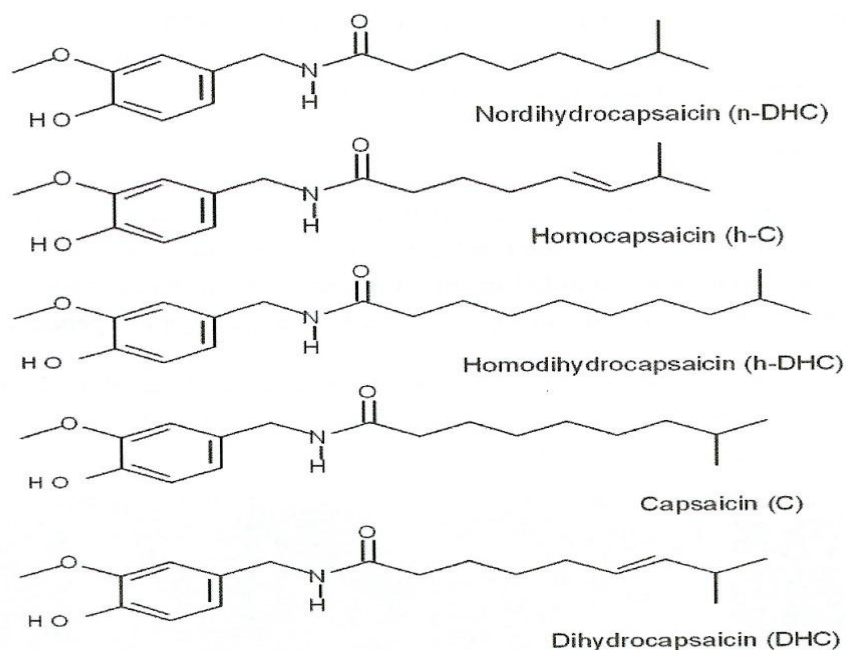
V paprice jsou obsaženy převážně kapsaicin a dihydrokapsaicin, které tvoří 80 až 90 %. Zcelkového obsahu kapsaicinoidů je poměr kapsaicinu ku dihydrokapsaicinu obvykle kolem 1:1 nebo 2:1. (Scientific Committed on Food, 2002). Akumulace kapsaicinu ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) ve zralých plodech je asi desetkrát vyšší v placentě (63,96) než v oplodí (7,12) a semenech (5,06) (Pandhair and Sharma, 2008).

Kapsaicinoidy se vyskytují nejčastěji v rozmezí od  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  v chilli papričkách, maximálně do  $2,5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  v červené paprice a do  $60 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  ve výtažku z červené papriky (Parrish, 1996). V odrůdách papriky *Capsicum frutescens*, *annuum* a *chinense* byl nalezen obsah celkem 0,22 – 20 mg kapsaicinoidů v 1 g suché hmotnosti (Thomas et al., 1998).

Ve vzorcích kajenského pepře byl sledován obsah kapsaicinu a dihydrokapsaicinu a bylo nalezeno  $1,32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , respektive  $0,83 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  suché hmotnosti (Lopez-Hernandez et al., 1996).

Je přítomen i v kajenském pepři. Celkový obsah alkaloidů v plodech je maximálně 2 % (Moravcová, 2006).

Kapsaicinoidy, řazené mezi protoalkaloidy, jsou deriváty vanillylaminu. Další pálivou složkou kromě kapsaicinu je již zmíněný dihydrokapsaicin (Velíšek a Hajšlová, 2009), ale bylo prokázáno, že kromě těchto dvou se vyskytuje v paprice ještě nejméně devět dalších drobných kapsaicinoidů (Garcés-Clavier et al., 2006), a to např. nordihydrokapsaicin, homokapsaicin, homodihydrokapsaicin (obr. 7) (Velíšek a Hajšlová, 2009) či nornorkapsaicin (Scientific Committed on Food, 2002). Např. v paprice chilli bylo přítomno z celkového množství 0,4 % kapsaicinoidů zhruba 49 % kapsaicinu, 44 % dihydrokapsaicinu, 6 % nordihydrokapsaicinu, 1 % homodihydrokapsaicinu a 0,3 % homokapsaicinu (Velíšek a Hajšlová, 2009).

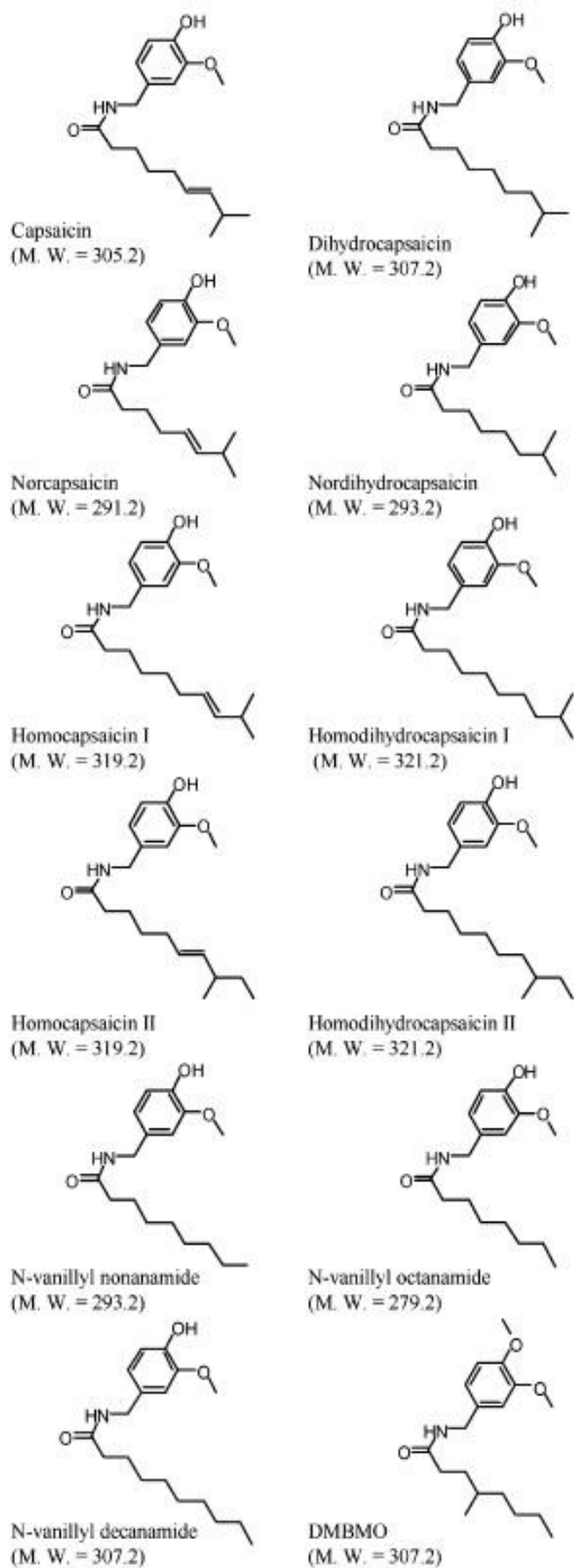


**Obr. 7: Chemická struktura hlavních kapsaicinoidů**

Mezi kapsaicinoidovými sloučeninami v paprice jsou kapsaicin a dihydrokapsaicin nejvíce dráždivé, a ostatní kapsaicinoidy jako nordihydrokapsaicin, homokapsaicin a homodihydrokapsaicin jsou relativně méně dráždivé (Reilly et al., 2001).

Chemické struktury a molekulová hmotnost (MW) kapsaicinoidů a DMBMO, což je analog kapsaicinu (4,5-dimethoxybenzyl-4-methyloctamid), který byl syntetizován dle Coopra et al (1991), a používá se jako vnitřní standard při stanovení těchto látek, jsou uvedeny na obr. 8 (Garcés-Clavier et al., 2006).

Během 48 hodin po perorálním podání dihydrokapsaicinu samcům krys se z celkové dávky vylučuje v nezměněné formě 8,7 % močí a 10 % ve stolici. Metabolity nalezeny v moči byly vanillylamin (4,7 %), vanilin (4,6 %) vanillylalkohol (37,6 %) a kyselina vanilová (19,2 %), ve volné formě nebo jako glukuronidy (Scientific Commited on Food, 2002).



Obr. 8: Chemické struktury a molekulová hmotnost (MW) kapsaicinoidů a DMBMO

V práci Nwokema et al. (2010) je prezentováno stanovení obsahu kapsaicinu v pěti různých paprikách pěstovaných v Nigérii bez nutnosti kroku derivatizace. Vyluhování kapsaicinu bylo provedeno za použití methanolu jako rozpouštědla a kapilární plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií bylo použito pro separaci a kvantifikaci. "Nsukka" žlutá paprika (*Capsicum chinense*), měla nejvyšší koncentraci kapsaicinu ( $9,177 \pm 0.268 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a úroveň ostrosti (146823,20 SHU), zatímco "Zaria tatashe" (*Capsicum annum*), měla nejnižší koncentraci ( $1,189 \pm 0.073 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a úroveň ostrosti (19015,20 SHU). Všechny papriky analyzované v této studii mohou být klasifikovány jako velmi silně štiplavé dle Scovillovy stupnice ostrosti (SHU = Scoville heat units), kromě "Zaria tatashe". Ostatní tedy mohou sloužit jako potenciální zdroje kapsaicinu.

Musfirohem et al. (2013) bylo provedeno stanovení obsahu kapsaicinu v souboru paprik. Sběrka vzorků se skládala z dvanácti druhů jedlých paprik sklizených v rozdílných oblastech Indonésie. Kapsaicin byl extrahován pomocí ethanolu a analyzován pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Výsledky analýzy taktéž ukázaly, že v zelené paprice, žluté paprice, červené paprice byl obsah kapsaicinu pod mezí detekce, zatímco druhy chili Tanjung, červené chilli, červená gendot, zelená gendot, zelená kudrnatá, japlak rawit, červená kudrnatá, červená rawit a zelená rawit (kajenský pepř) obsahovaly 0,38; 0,83; 0,87; 0,88; 1,05; 1,09; 1,14; 1,85 a 2,11 % v tomto pořadí.

Studie Al Othmana et al. (2011) se zabývá výpočtem pálivosti ve Scovillových jednotkách a stanovení průměrné denní dávky kapsaicinu v papričkách pro populaci v Rijádu v Saudské Arábii. Zkoumané vzorky sestávaly z pálivé papriky, feferonky, zelené chilli papričky, zelené papriky, červené papriky a žluté papriky (obr. 9).



**Obr. 9: Druhy zkoumaných paprik**

Výluh kapsaicinoidů byl proveden za použití ethanolu jako rozpouštědla. Pro separaci, identifikaci a kvantifikaci jednotlivých složek byla použita kapalinová chromatografie (HPLC). Mez detekce touto metodou byla 0,09 a 0,10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  pro kapsaicin, respektive dihydrokapsaicin, zatímco mez kvantifikace byla 0,30 a 0,36  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  pro kapsaicin, respektive dihydrokapsaicin. Pálivá paprika prokázala nejvyšší koncentraci kapsaicinu ( $4\,249,0 \pm 190,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a nejvyšší ostrost ( $67\,984,60 \text{ SHU}$ ), zatímco zelené papriky měly nejnižší detekovanou koncentraci ( $1,0 \pm 0,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ); zelené papriky, červené papriky a žluté papriky jsou nepálivé. Obsah kapsaicinu, dihydrokapsaicinu a jednotky pálivosti v analyzovaných vzorcích paprik jsou uvedeny v tabulce 1.

**Tabulka 1: Koncentrace kapsaicinu, dihydrokapsaicinu a jednotky pálivosti (SHU)**

Druh papriky	Kapsaicin ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Dihydrokapsaicin ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Jednotky pálivosti (SHU)	Úroveň pálivosti
Pálivá paprika	$4249,0 \pm 190,3$	$4482,2 \pm 35,6$	67984,6	Vysoce pálivé
Feferonka	$309,3 \pm 4,2$	$238,2 \pm 2,6$	4949,08	Středně pálivé
Zelená paprička	$138,5 \pm 5,2$	$146,4 \pm 4,2$	2216,58	Slabě pálivé
Zelená paprika	$1,0 \pm 0,9$	nedefinováno	15,83	Nepálivé
Červená paprika	nedefinováno	nedefinováno	0	Nepálivé
Žlutá paprika	nedefinováno	nedefinováno	0	Nepálivé

Dle těchto výsledků byl pro populaci města Rijád na základě dotazníkového šetření zjištěn průměrný denní příjem kapsaicinu 7,584 mg/den (tab. 2).

**Tabulka 2: Průměrná denní dávka kapsaicinu v Rijádu**

Druh papriky	Kapsaicin ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Denní příjem papriky (g)	Denní dávka kapsaicinu (mg/den)
Pálivá paprika	4249	1,5	6,374
Feferonka	309,3	3	0,928
Zelená paprička	138,5	2	0,277
Zelená paprika	0,99	5	0,005
Červená paprika	0	2	0
Žlutá paprika	0	2	0
<b>Průměrná denní dávka (mg/osobu/den)</b>			<b>7,584</b>
<b>Průměrná denní dávka (mg/tělesnou hmotnost/den)</b>			<b>0,108</b>

Výbor expertů Rady Evropy na látky určené k aromatizaci hodnotil kapsaicinoidy v paprikových přípravcích používaných jako látky určené k aromatizaci. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 9.7 (Scientific Comitted on Food, 2002).

Odrůdy šesti chilli papriček náležející do tří druhů paprik: *Capsicum annuum L.* (odrůda "Meiteimorok" a "Haomorok"), *Capsicum Frutescens L.* (odrůda "Uchithi" a "Mashingkha") a *Capsicum chinense Jacq.* (odrůda "Umorok" a "Chiengpi") jsou ekonomicky důležité plodiny především v Indii. Obsah kapsaicinu a ostrost v Scovillových jednotkách ostrosti těchto šesti chilli odrůd byly stanoveny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Obsah kapsaicinu a ostrost se měnily v závislosti na genotypu. Mezi šesti studovanými odrůdami měla odrůda "Umorok" nejvyšší obsah kapsaicinu (2,06 %), a byla také nejvíce pálivá, pálivost dosahovala 329 100 SHU, zatímco odrůda "Haomorok" měla nejmenší obsah kapsaicinu (0,17 %) a ostrost pouze 26 000 SHU. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.

**Tabulka 3: Obsah kapsaicinu a ostrost v Scovillových jednotkách ostrosti šesti různých odrůd chilli paprik**

Odrůda papriky	Obsah kapsaicinu v %	Scovillovy jednotky pálivosti (SHU)
"Meiteimorok"	0,24	39 100
"Haomorok"	0,17	26 600
"Uchithi"	0,88	141 200
"Mashingkha"	0,65	104 300
"Umorok"	2,06	329 100
"Chiengpi"	0,79	126 200

Odrůdy *Capsicum annuum L.* měly minimální obsah kapsaicinu a byly i nejméně dráždivé ve srovnání s *Capsicum frutescens L.* a *Capsicum chinense Jacq.* Všechny odrůdy obsahují více, než 0,1 % kapsaicinu jejich úrovně pálivosti jsou tedy větší než 3000-4500 SHU, proto mohou všechny vzorky sloužit jako potenciální zdroj kapsaicinu (Sanatombi and Sharma, 2008).



## **9.6 Pálivost**

Plody a výrobky z pálivých paprik jako feferonky, Jalapeño, chilli, kajenský pepř apod. jsou pálivé, protože rostliny syntetizují a akumulují ve svých tkáních kapsaicin a celou skupinu jeho analogů, známých jako kapsaicinoidy (Lapčák a kol., 2011). Kapsaicin stimuluje senzorické neurony na kůži a v ústní dutině, vedoucí k pocitu tepla až bolesti. Neurony produkují neuropeptid Substance P, která zajišťuje přenos signálu bolesti. Opakovaná expozice vede u mnoha lidí ke snížení citlivosti. Kapsaicin zvyšuje termický efekt jídla. Role kapsaicinu je stimulovat mozek k produkci endorfinů, což vede k mírné euforii.

Pálivost kapsaicinu a jeho derivátů v ústech a hrdle je jejich charakteristickou vlastností, mezi jednotlivými kapsaicinoidy nejsou příliš velké rozdíly. Samotný kapsaicin v koncentracích  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$  způsobuje pálení a štiplavost, postřehnutelnou ještě v koncentraci  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Velíšek a Hajšlová, 2009). Výsledky jsou poté vypočteny dle vzorce  $1 \text{ mg.kg}^{-1}$  kapsaicinu = 16 SHU =  $0,001 \text{ mg.g}^{-1}$  (Mohammad et al., 2014)

Nejlepším nápojem pro zklidnění pocitu pálení po požití kapsaicinu jsou mléčné produkty, protože kasein přerušuje vazby mezi kapsaicinem a receptory bolesti. Navíc, kapsaicin je lipofilní látka, tedy rozpustná v tucích a nerozpustná ve vodě. Dle Velíška a Hajšlové (2009) je pálivý účinek zesilován sacharózou a snižován chloridem sodným, rovněž i vyšší viskozita roztoků pálivost snižuje.

## **9.7 Doporučené hodnoty**

Výbor expertů Rady Evropy na látky určené k aromatizaci hodnotil kapsaicinoidy v paprikových přípravcích používaných jako látky určené k aromatizaci. Přijatelná denní dávka ve výši 0 - 0,2 mg/kg tělesné hmotnosti, stanovena jako celkový obsah kapsaicinoidů, byla odvozena na základě výsledků studie provedené v Mexiko City, kde byli kvůli vysokému riziku rakoviny žaludku porovnáváni konzumenti chilli papriček a osoby, které tyto papričky nekonzumují.

V Mexiku se denní příjem chilli papriček spotřebitelem odhaduje na 4 mg kapsaicinoidů/kg tělesné hmotnosti. Navíc, všeobecné limity se odhadují na 5 mg.kg<sup>-1</sup> pro potraviny a nápoje, 10 mg.kg<sup>-1</sup> pro pálivé potraviny a nápoje, 20 mg.kg<sup>-1</sup> pro pálivý kečup a 50 mg.kg<sup>-1</sup> pro Tabasco, harissu, pálivé koření a podobné přípravky.

Výbor expertů Rady Evropy na látky určené k aromatizaci dospěl k závěru, že dostupné údaje neumožnily stanovit bezpečnou hodnotu pro kapsaicinoidy v potravinách. Příjem kapsaicinoidů v Indii, Thajsku a Mexiku, kde se paprika těší silné oblibě, se odhaduje denně na 25 - 200 mg. Vysoká spotřeba chilli v Mexiku a Indii je spojována s rakovinou horní části trávicího traktu. Naproti tomu, maximální denní příjem z méně pálivých druhů papriky v Evropě bylo odhadnuto na přibližně 1,5 mg denně. Ve studii provedené v Evropě, nebyl pozorován výskyt rakoviny žaludku v souvislosti s občasnou a nízkou konzumací chilli (Scientific Comitted on Food, 2002).

## **10. Faktory ovlivňující obsah kapsaicinoidů v paprice**

### **10.1 Fyzikální faktory**

Obsah kapsaicinoidů v paprice je závislý na odrůdě, stáří, zralosti, ročním období a agronomických podmínkách. Hladina kapsaicinoidů ve velkých plodech papriky je obvykle nízká, vyšší množství je v plodech středně velkých a nejvyšší v malých plodech chilli. Méně kapsaicinoidů je obsaženo v mladých zelených plodech. Množství alkaloidů během zrání vzrůstá a těsně před sklizní dosahuje maxima, poté mírně klesá. Množství kapsaicinoidů v sladkých odrůdách papriky pěstovaných v Evropě kolísá v rozmezí 0,001 – 0,01 %. Papriky chilli obsahují asi 0,2 – 1,5 % alkaloidů.

### **10.2 Sušení a skladování**

Během sušení papriky při 60 °C a 8% vlhkosti dochází ke ztrátě asi 10 % kapsaicinu, po usušení a skladování při -16 °C je ztráta asi 1-2 % kapsaicinu za měsíc. Mletý prášek ztrácí až 5 % kapsaicinu za měsíc v závislosti na jemnosti mletí a skladovací teplotě (Valíček, 2005). Podle Velíška a Hajšlové (2009) však nedochází ke ztrátám ani po dvouletém skladování. Plody se po úplném dozrání sklízí zpravidla ručně, navlékají se na šňůrky, suší se na slunných místech venku nebo v sušárnách a následně se melou (Valíček, 2005).

### **10.3 Působení vody**

Vařením ve vodě dochází částečně k vyluhování kapsaicinoidů. Kapsaicinoidy jsou relativně odolné vůči hydrolýze. Hydrolýzou v kyselém i alkalickém prostředí vzniká vanillylamin a odpovídající mastná kyselina, resp. její sůl. Při kulinární úpravě papriky, kdy dochází k porušení pletiva, uvolněné enzymy z části hydrolyzují přítomné kapsaicinoidy a transformují je na vysokomolekulární sloučeniny.

V tabulce 4 je zaznamenáno, jak technologické zpracování ovlivňuje obsah kapsaicinu v paprice odrůdy Jalapeño (Velíšek a Hajšlová, 2009).

**Tabulka 4: Vliv technologického zpracování na obsah kapsaicinu v paprice odrůdy Jalapeño**

<b>PAPRIKA</b>	<b>OBSAH g.kg-1</b>
syrová	7,3
vařená	8,6
blanširovaná a mražená (-18 °C)	4,0
blanširovaná (100 °C, 3 min) a sterilovaná (100 °C, 50 min)	4,7

## **11. Využití kapsaicinu a jeho biologické účinky**

Papriky mají velké využití v potravinářském, kosmetickém průmyslu (Valíček, 2005). Také jejich farmakologický, neurologický a dietní účinek je dobře známý (Jeon et al., 2011).

### **11.1 Kulinářské využití**

V kuchyni je využití papriky mnohostranné, neboť se může dusit, péct, přidávat do masitých jídel, omáček, tvarohů, sýrů a uzenin. Nezralé plody se používají čerstvé nebo se nakládají do octa, lze je konzervovat i mléčným kvašením. Sušené plody se používají celé nebo se melou a používají se vnitřně jako koření (Moravcová, 2006). Kořením jsou usušené a rozemleté zralé bobule, především červených forem s dlouhými špičatými plody a relativně slabší stěnou (Valíček, 2005).

Kromě konzumace v čerstvém, vařeném, pečeném či dušeném stavu se doporučuje příprava prášku nebo extraktu. Čajové formy nejsou vhodné. U prášku se používá v jedné dávce pouze 0,05 g. Pro výrobu tinktury se 1 – 2 plody pálivé papriky zalijí 0,5 litru 40% ethanolu a tento roztok se nechá minimálně dva týdny odstát. Po přecezení se užívá jednou denně 0,5 dl před jídlem.

### **11.2 Farmaceutické využití**

#### **11.2.1 Antioxidační účinky**

Kapsaicinoidy vykazují slabé antimikrobiální a antioxidační účinky a stimulují peristaltiku střev (Velíšek a Hajšlová, 2009). Antioxidanty jsou látky, které brání oxidačním procesům, a tím oddalují nebo potlačují oxidační stres. Důležitá funkce antioxidantů je vázání volných radikálů (Bosland a Votava, 1999). Zájem o přírodní antioxidanty, které se nacházejí v rostlinách, roste. Byliny a koření jsou nejdůležitější cílové zdroje k hledání přírodních antioxidantů z hlediska bezpečnosti. Široká škála fenolických sloučenin přítomných v koření, které jsou

široce používány jako doplňky stravy, mají silné antioxidační, protizánětlivé, antimutagenní a protirakovinné účinky (Srinivasan, 2014).

Mezi antioxidanty obsažené v paprice lze zařadit: vitamín C, karotenoidy, polyfenoly, kapsaicinoidy a flavonoidy. Paprika má velmi dobrý vliv na celkovou fyzickou a duševní svěžest organismu (Valíček, 2005).

### **11.2.2 Analgetikum**

Kapsaicinoidy jsou v lékařství používané jako analgetikum nebo v lidovém léčitelství jako afrodiziakum (Anogianaki et al., 2006). Kapsaicin je buněčně specifické periferní analgetikum. Existuje stále více důkazů o účinnosti kapsaicinu při tlumení bolestí (Winter et al., 1995). Klinické studie prokázaly, že kapsaicin je velmi efektivní pro zmírnění a prevenci bolesti hlavy podobné migréně a bolesti dutin (Anogianaki et al., 2006). Údajně je dokonce možné vyvinout analog s požadovaným antinociceptivním účinkem a minimálními nežádoucími vedlejšími účinky (Winter et al., 1995).

Kapsaicin dráždí nervová zakončení na kůži, a vyvolává proto pocit tepla a překrvení (Moravcová, 2006). Když se kajenský pepř vetře do kůže, může sloužit jako velmi silné analgetikum (Anogianaki et al., 2006). Výzkum ukázal, že jíst potraviny, které obsahují kapsaicin, může potlačit produkci „Substance P“, což je neuropřenašeč, který vysílá pocit bolesti do mozku (Anogianaki et al., 2006).

V lékařství se používají pouze formy, které mají minimálně 2 mg kapsaicinu (Valíček, 2005).

### **11.2.3 Využití v onemocnění cévního, nervového a pohybového aparátu**

Kapsaicin se používá se zevně při revmatismu, neuralgiích (Moravcová, 2006), bolestech svalů (Huang et al., 2013) a působí proti ateroskleróze (Valíček, 2005) nebo neuropatické bolesti. Když se kajenský pepř vetře do kůže, může snížit bolesti kloubů a jejich tuhost. Tento efekt, tzv. protidráždivý účinek způsobuje mírné podráždění při aplikaci na povrch kůže a „odvádí“ bolest z jiných oblastí (Anogianaki et al., 2006).

Kapsaicin je používán k léčbě PHN (postherpetická neuralgie), což je bolestivý stav, který ovlivňuje nervová vlákna a kůži. PHN je komplikace pásového oparu (Goswami, 2012).

Bolest a zánět při osteoartróze mohou být léčeny kombinací farmakologických a nefarmakologických (kapsaicin) léčebných prostředků (Anogianaki et al., 2006).

#### **11.2.4 Využití v onemocnění zažívacího traktu**

Jelikož kapsaicin podporuje chuť k jídlu, tvorbu slin a trávicích enzymů i žaludečních šťáv (Valíček, 2005), používá se jako stomachikum (Moravcová, 2006). Likviduje střevní parazity, neboť má fytoncidní účinky (Valíček, 2005; Anogianaki et al., 2006). Omezuje tvorbu kolik (Velíšek a Hajšlová, 2009). Likviduje především bakterii *Helicobacter pylori*, která je považována za hlavní příčinu gastroduodenální choroby, rakoviny žaludku či žaludečních vředů (Zeyrek a Oguz, 2005).

#### **11.2.5 Využití v onemocnění močové soustavy**

Kapsaicin ulevuje od uremického svědění a používá se při hyperaktivitě močového měchýře (Anogianaki et al., 2006). Ovšem delší kontakt s rostlinou nebo nadměrná konzumace mohou způsobit i poškození ledvin (Krishna, 2003).

#### **11.2.6 Využití v onemocnění dýchací soustavy**

Léčí zánět plic nebo je používán jako kloktadlo při bolestech v krku a k léčbě astmatu (Velíšek a Hajšlová, 2009). Výsledky jedné studie ukazují, že astmatici nevyvíjejí další bronchokonstrikce po inhalaci kapsaicinu. Je velmi účinný v boji a prevenci chronické infekce vedlejších nosních dutin - sinusitida (Anogianaki et al., 2006).

### 11.2.7 Využití v onemocnění srdečního svalu

Kapsaicin omezuje vznik kardiovaskulárních chorob (Velíšek a Hajšlová, 2009; Anogianaki et al., 2006). Může stimulovat kardiovaskulární systém a může snížit hladinu cholesterolu v krvi a krevní tlak (Anogianaki et al., 2006).

### 11.2.8 Protirakovinné působení

Kapsaicin, kapsaicinové směsi, chilli papričky a chilli extrakty byly testovány toxikologicky při perorálním podání myším, krysám a křečkům. V některých z těchto studií byl prokázán karcinogenní potenciál kapsaicinu. Tyto studie jsou však považovány za omezující. Nedávné studie karcinogenity neprokázaly karcinogenní účinky u myší.

Několik nedávných studií ukázalo, že kapsaicin (denní spotřeba papriky) může skutečně zabránit růstu určitých druhů rakoviny (Anogianaki et al., 2006).

I studie Lo et al., (2005) potvrzuje vyvolání apoptózy (programované buněčné smrti) po podání kapsaicinu, především při nádoru žaludku.

Také studie Lin et al. (2013) ukazuje, že kapsaicin reguluje nárůst buněčného cyklu a způsobuje apoptózu lidských rakovinných buněk, avšak bylo také zjištěno, že kapsaicin podporuje růst některých rakovinných buněk.

Po léčbě různými koncentracemi ( $10 - 500 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) z PSE (pepper seeds extract = extrakt ze semen papriky) byl růst nádorových buněk utlumený. Lze říci, že PSE vykazuje relativně nízký obsah polyfenolických látek, a tedy nízkou antioxidační aktivitu, ale vykazuje antiproliferativní hluboké účinky na nádorové buňky, a to i při nízké koncentraci ( $50 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) (Jeon et al., 2011).

Tyto výsledky ukazují, že účinky kapsaicinu mohou být velice kontroverzní: může být užitečný pro prevenci růstu rakovinných buněk, ale může karcinom i způsobit. Vysoká spotřeba chilli byla označena za rizikový faktor pro rakovinu horního gastrointestinálního traktu, pravděpodobně kvůli dráždivému účinku



kapsaicinoidů. Genotoxické účinky kapsaicinu a kapsaicinových směsí byly prokázány in vitro i in vivo (Scientific Committed on Food, 2002).

### **11.2.9 Využití s boji s obezitou**

Dle studie Kanga et al. (2007) bylo prokázáno, že kapsaicin může potlačit obezitu uvolňováním tukové tkáně.

Vznikla myšlenka, že kapsaicin by mohl preventivně působit proti obezitě, protože byla zjištěna zvýšená sekrece katecholaminů, zvýšený energetický výdej a ztráta tělesného tuku po dlouhodobé léčbě pokusných zvířat. U japonských mužů bylo zjištěno zvýšení výdeje energie při snídani s feferonkami. Silná ostrost pálivých papriky ale obecně omezuje dlouhodobé používání (Sasahara et al., 2010).

### **11.2.10 Vnější použití a kosmetické účinky**

Dále se kapsaicin v medicíně používá do krémů a dalších přípravků na infekční onemocnění kůže a sliznic, např. jednoduché opary, kdy pálivost kapsaicinu snižuje citlivost nervových buněk na bolest (Velíšek a Hajšlová, 2009). Taktéž působí proti ztrátě vlasů (Arora et al., 2011), používá se k výrobě sprejů pro osobní ochranu (Šupálková et al., 2007), jako přísada do repelentů - odpuzování ptáků, hrabošů, jelenů, králíků, veverek, hmyzu a útočících psů. Kapsaicinové repelenty se používají v interiéru k ochraně kobereců a čalouněného nábytku (EPA, 1992).

### **11.2.11 Použití v zemědělství**

Kapsaicin je biochemický pesticid. Venku se používá k ochraně ovoce a zeleniny, květin, okrasných rostlin, keřů, stromů a trávníků. Americké ministerstvo zemědělství poprvé zaregistrovalo pesticid s jedinou účinnou látkou – kapsaicinem – v roce 1962. EPA (Environmental Protection Agency) prominula obvyklé limity reziduí kapsaicinu, protože všechny studie o ekologických efektech byly negativní. Deset registrovaných pesticidních přípravků, které obsahují aktivní látku kapsaicin, může být použito, aniž by docházelo k nepřiměřeným nežádoucím účinkům na lidi nebo životní prostředí.

Kapsaicinové produkty ve formě prášku, prachu nebo granulátu mohou být aplikovány na rostoucí plodiny ze vzduchu nebo ze země; kapalná forma se zředí vodou a stříká pomocí letadel, pozemního rozstřikovače nebo ruční zahradní hadice. Během těchto aplikací mohou být oči a kůže vystaveny kapsaicinu. Terénní pracovníci mohou být také vystaveni kapsaicinu a kontaktu s listy ošetřených plodin a musí se proti možným rizikům vhodně chránit.

### **11.3 Negativní účinky**

Delší kontakt s rostlinou nebo nadměrná konzumace papriky způsobuje intenzivní pálení (Anogianaki et al., 2006) a může způsobit dermatitidu, puchýře nebo gastroenteritidu (podráždění či zánět zažívací soustavy, průjmy, zvracení...) (Krishna, 2003). Kapsaicin může způsobit nejen pocit mírného či intenzivnějšího pálení, ale může také způsobit vážné potíže, pokud je nanesen na špatném místě (např. do očí). Pokud je používán dle pokynů, žádné závažné nežádoucí účinky se neočekávají ani po použití v potravě (Anogianaki, 2006).

Opatrnosti je třeba dbát také během těhotenství, aby se zabránilo gastrointestinálnímu podráždění, a během kojení, protože kapsaicin může přecházet do mateřského mléka a způsobit, že bude mléko nepříjemné pro kojence (Anogianaki, 2006).

Kapsaicin a dihydrokapsaicin jsou obvykle velmi silně dráždivé a mohou být neurotoxické. Vždy je vhodné používat ochranné rukavice a masku při manipulaci s těmito pevnými látkami a jejich koncentrovanými roztoky (Garcés-Clavier et al., 2006).

Akutní toxicita kapsaicinu vykazuje velké rozdíly v závislosti na způsobu podání. U myších samců se LD<sub>50</sub> pohybuje od 0,56 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti do 60 - 75 mg.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti (v ethanolu) a 190 (122 - 294) mg / kg tělesné hmotnosti (v dimethylsulfoxidu). Za možnou příčinu smrti je považována respirační paralýza, dosud však taková smrt nebyla zaznamenána (Scientific Committed on Food, 2002).

## 12. Metody stanovení obsahu kapsaicinů

### 12.1 Organoleptické stanovení pálivosti

Metodu pro měření stupně pálivosti vyvinul v roce 1912 Wilbur Scoville. Test je založen na subjektivním testování pálivosti. Pro účely testu se přesná navážka sušeného chilli rozpustí v ethanolu a ředí se sladkou vodou. Pět členů hodnotícího panelu testuje pálivost. Číslo pálivosti je stanoveno na základě toho, kolikrát bylo nutné naředit původní extrakt sladkou vodou tak, aby právě tři hodnotitelé přestali vnímat pálivost v ústech. Pálivost se vyjadřuje ve stovkách SHU. Dle Scovillovy škály pálivé chuti má sladká paprika 0 jednotek a čistý kapsaicin 15 000 000 – 16 000 000 jednotek pálivosti (tab. 5) (Lapčík a kol., 2011). Slabinou Scovillovy organoleptické metody je, že není příliš přesná a objektivní, protože je založena na ochutnávání degustátorů (Mohammad et al., 2014).

**Tabulka 5: Scovillovy jednotky pálivosti (SHU – Scoville Heat Units)**

PÁLIVOST	PŘÍKLAD
15 000 000 - 16 000 000	čistý kapsaicin
8 600 000 - 9 100 000	kapsaicinoidy jako homokapsaicin
5 000 000 - 5 300 000	pepřový sprej
855 000 - 1 075 000	Naga Jolokia
350 000 - 580 000	Red Savina habanero
100 000 - 350 000	Habanero chilli, jamajský pepř
50 000 - 100 000	thajský pepř
30 000 - 50 000	kayennský pepř, papričky tabasco
10 000 - 23 000	pepř serrano
2 500 - 8 000	Jalapeño, maďarská pálivá paprika, omáčka Tabasco
500 - 2 500	anaheimský pepř
100 - 500	pimento, peperoncini

Nwoken et al. (2010) rozdělil Scovillovu tabulku do pěti úrovní ostrosti:

- Nepálivý (0 – 700 SHU)
- Mírně pálivý (700 – 3 000 SHU)
- Středně pálivý (3 000 – 25 000 SHU)
- Velmi pálivý (25 000 – 70 000 SHU)

- Velmi silně pálivý (> 80 000 SHU)

Metoda je subjektivní, a proto tato tradiční metoda byla nahrazena řadou instrumentálních metod, jako jsou plynová chromatografie (GC), plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), které jsou spolehlivější a přesnější (Usman et al., 2014). Scovillovy jednotky pálivosti SHU jsou vypočteny dle vzorce  $1 \text{ mg.kg}^{-1}$  kapsaicinu = 16 SHU =  $0,001 \text{ mg.g}^{-1}$  (Mohammad et al., 2014).

## **12.2 Analytické metody**

Vědci potřebují spolehlivé, bezpečné a standardní metody, které by mohly být užitečné pro porovnávání úrovně ostrosti mezi různými vzorky nebo genotypy paprik (Usman et al., 2014).

Rostoucí zájem o kapsaicin vedl k rozvoji instrumentálních analytických metod, zejména spektrofotometrie UV-VIS a chromatografie. Ty byly optimalizovány v průběhu času a stávaly se čím dál víc citlivějšími a rychlejšími (Reyes-Escogido et al., 2011). Spektrofotometrická metoda UV-VIS je jednou z levnějších a nejvíce dostupných metod pro kvantifikaci kapsaicinu. Rozšíření této metody úzce souvisí se skutečností, že většina laboratoří vlastní UV-VIS spektrofotometr. Nicméně analýza je omezena na stanovení koncentrace kapsaicinu na úrovni mikrogramů (Davis et al., 2007).

Další používané metody:

- Chromatografie na tenké vrstvě (Spanyar and Blazovich, 1969)
- Vícepásmová chromatografie na tenké vrstvě (Pankar and Magar, 1977)
- Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) - s fluorescenčním detektorem (Mueller-Seitz et al., 2008)
- HPLC s detektorem diodového pole (Weaver and Awde, 1986)
- Kapalinová chromatografie - hmotnostní spektrometrie (LC-MS) a kapalinová chromatografie - tandemová hmotnostní spektrometrie (LC-MS-MS) (Srinivas, 2009). Nevýhodou metody kapalinové chromatografie je, že vyžaduje odborné znalosti v oblasti manipulace s přístroji, přístroje jsou

drahé, a metoda zahrnuje zdlouhavé předčištění vzorku (Kachooangi and Wildgoose, 2008)

- Hmotnostní spektrometrie s využitím technologie Orbitrap (Bijttebier et al., 2014)
- Kapalinová chromatografie s kvadrupolovou iontovou pastí a hmotnostní spektrometrií (LC-ESI / MS / MS) (Beaudry and Vachon, 2009)
- Vysokoučinná kapalinová chromatografie s elektrochemickou detekcí (HPLC – ED) (Šupálková, 2006)
- Ultra rychlá vysokoučinná kapalinová chromatografie (u-HPLC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (Estella-Hermoso et al., 2009). Metoda u-HPLC je také známá pro svou úspornost a šetrnost k životnímu prostředí díky extrémní rychlosti a malé spotřebě rozpouštědel (Ha et al., 2010)
- Kapalinová chromatografie s elektrosprejovou TOF (Time-of-flight) hmotnostní spektrometrií (Garcés-Clavier et al., 2006; Gilbert-López et al., 2007)
- Plynová chromatografie (Ha et al., 2008)
- Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) (Nwoken et al., 2010)
- Mikroextrakce do pevné fáze ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (Peña-Alvarez et al., 2009)
- Elektrokinetická kapilární chromatografie (Laskaridou-Monnerville, 1999)
- Protonová nukleární magnetická rezonance ( $^1\text{H-NMR}$ ) a uhlíková nukleární magnetická rezonance ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) (Higashiguchi et al., 2006)
- Kolorimetrie (Gibs and O`Garro, 2004)
- Kapilární elektroforéza (Liu et al, 2010; Simpson et al., 2008)

## **12.3 Kapalinová chromatografie (HPLC)**

### **12.3.1 Úvod do chromatografických metod**

Společným rysem chromatografických metod je separace složek mezi stacionární a mobilní fází. Metoda je založena na fyzikálně chemickém jevu, kdy dochází k postupnému, mnohonásobně opakovanému vytváření rovnovážných

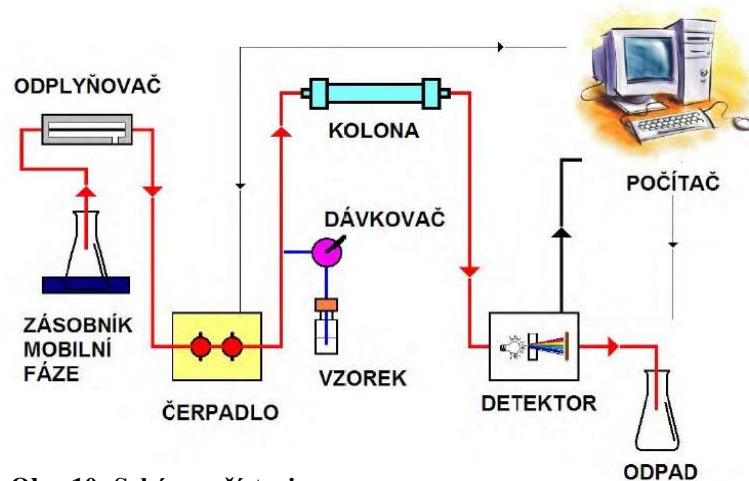
stavů. Při kontaktu stacionární a mobilní fáze se separovanými látkami dochází ke vzájemným interakcím, jež jsou předpokladem jejich úspěšné separace.

### 12.3.2 Součásti chromatografické soustavy

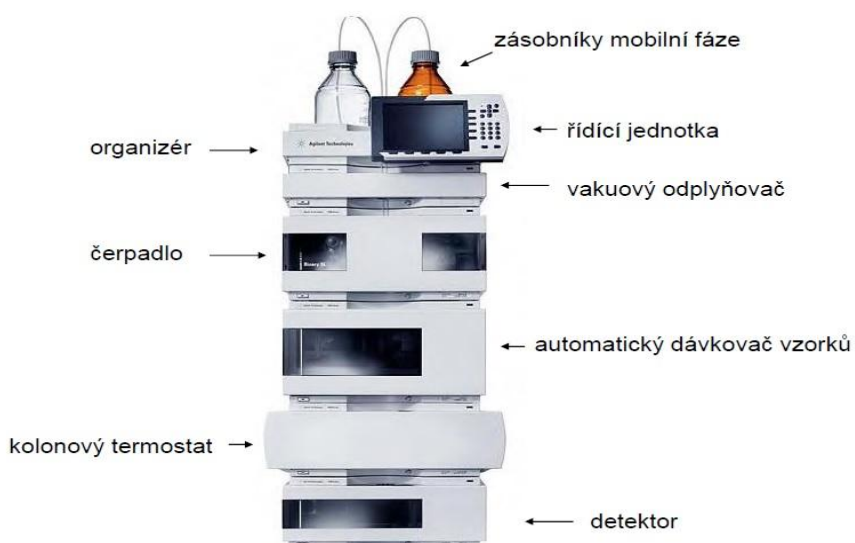
Kapalinový chromatogram se skládá z těchto částí:

- zařízení pro uchování a transport mobilní fáze (vysokotlaké čerpadlo)
- zařízení pro dávkování vzorku
- zařízení pro separaci látek (chromatografická kolona, termostat kolony)
- zařízení pro detekci látek popř. sběrač frakcí

Níže jsou uvedena dvě schémata (obr. 10 a 11) chromatografické soustavy:



Obr. 10: Schéma přístroje



Obr. 11: Příklad HPLC systému

### 12.3.3 Princip separace

Vysokoučinná kapalinová chromatografie se řadí mezi analytické separační metody a využívá k separaci široké škály analytů. Během analýzy dochází k distribuci analytu mezi mobilní a stacionární fází. Čas strávený v jedné nebo druhé fázi závisí na afinitě analytu k dané fázi. Čím delší čas stráví analyt ve stacionární (tedy nepohyblivé) fázi, tím později je eluován. Látky s nulovou afinitou ke stacionární fázi nejsou v chromatografické koloně zadržovány a jsou eluovány v tzv. „mrtvém objemu“. Naopak látky s vysokou afinitou vůči stacionární fázi jsou v koloně zadržovány dlouho a v některých případech nejsou z kolony eluovány. Hlavním hnacím mechanismem separačního procesu je opakovaná adsorpce analytu na rozhraní obou fází. Jsou využitelné všechny možné mechanismy separace-adsorpce, rozdělování na základě různé rozpustnosti, iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii.

### 12.3.4 Stacionární fáze

Stacionární fáze bývá velice často zakotvena na pevném nosiči, který se nachází uvnitř chromatografické kolony. Nosičem bývají křemenné kuličky o průměru řádově v mikrometrech. Na povrchu nosiče je na volné silanolové skupiny chemicky navázána stacionární fáze. Nejpoužívanější stacionární fází je oktadecylový zbytek (C18) a částečně i oktylový zbytek (C8). Na rozdíl od polárního povrchu křemenného nosiče (mohou zde disociovat silanolové skupiny), získává povrch nosiče modifikací C18 nebo C8 hydrofobní vlastnosti. Proto je také stacionární fáze C18 (i C8) nazývána „reverzní“ a polární fáze „normální“. Kromě fází C18 a C8 se uplatňují i další druhy stacionárních fází jako jsou například fáze s navázanou aminoskupinou (pro separaci sacharidů), fenylem (pro separaci aromatických látek) apod.

### 12.3.5 Mobilní fáze

Mobilní fází je zde kapalina, která je kolonou protlačována pomocí vysokotlakého čerpadla za vysokého tlaku. Mobilní fází může být voda, vodný roztok anorganické či organické soli, kyseliny, pufr či směs vody/vodného roztoku a/nebo organických rozpouštědel. Ve speciálních případech se přidávají do mobilní fáze modifikátory, například pro chirální separace či micelární chromatografii. Mobilní fáze musí být odplyněna.

Zásobníky mobilní fáze jsou nejčastěji skleněné nádoby objemu 0,1 – 2,5 l, opatřené ryskami a uzávěrem z inertního plastu s předvrtanými otvory pro teflonové hadičky 1/8" (obr. 12). Mobilní fáze se čerpá přes filtry odstraňující mechanické nečistoty. Velikost pórů je 2 – 20  $\mu\text{m}$ .



**Obr. 12: Zásobníky mobilní fáze**

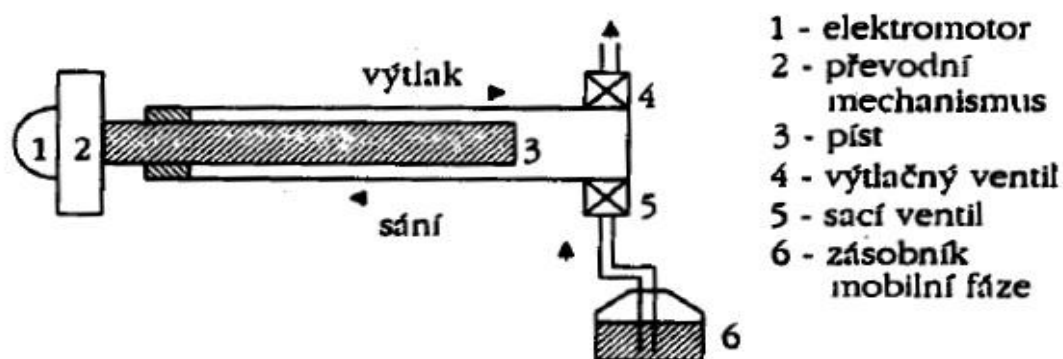
Existuje několik typů odplyňovacího zařízení:

- (a) Membránové vakuové odplyňovače, kdy mobilní fáze protéká semipermeabilní hadičkou umístěnou ve vakuu.
- (b) Heliové odplyňovače, kdy se mobilní fáze probublává heliem, které vytěsňuje rozpouštědlo. Rozpustnost helia v rozpouštědlech je minimální.
- (c) Odplyňování filtrací za vakua nebo ultrazvukem.

Součástí HPLC systému je také čerpadlo mobilní fáze, kterých existuje rovněž několik typů:

- (a) HPLC (UHPLC) čerpadla pumpují mobilní fázi do systému. Umožňují programovat složení mobilní fáze v čase při gradientové eluci. Pracují při vysokých tlacích.
- (b) Pístová čerpadla (obr. 13): z principu pulzní tok, který je pomocí různých technických řešení převeden na bezpulzní. Tento typ je využit ve většině HPLC systémů. Při sání píst nasává kapalinu spodním jednocestným ventilem, horní ventil je uzavřen. Při výtlaku píst vytlačuje kapalinu, tím se spodní ventil uzavře a horní ventil otevře. Rychlost čerpání je dána rychlostí otáčení vačky. Nevýhoda je pulsování tlaku.





Obr. 13: Schéma pístového čerpadla

(c) Stříkačková čerpadla jsou na bázi injekční stříkačky. Dokonale bezpulzní tok mobilní fáze. Mobilní fáze se nasaje do válce, ze kterého je pak vytlačována konstantním pohybem pístu. Nevýhodou je omezený objem mobilní fáze (nelze doplňovat během měření). Zapojením dvou stříkačkových čerpadel lze provádět gradientovou eluci, nebo kontinuálně dodávat mobilní fázi (zatímco jedno čerpá, druhé se plní, a naopak). Používá se pro speciální HPLC a UHPLC aplikace.

### 12.3.6 Dávkování vzorků

Do chromatografického systému je možno dávkovat ručně nebo pomocí automatického dávkovače (autosampleru). Při automatickém dávkování jsou vzorky ve vialkách umístěny v chlazeném prostoru a robotický systém vybere požadovanou vialku a provede nástřik pomocí smyčkového ventilu. Vialky (obr. 14) jsou vzorkovnice (nejčastěji o objemu 1,5 ml) na jedno použití se šroubovacím nebo namačkávacím víčkem. Ve víčku je septum, které je při nástřiku propíchnuto.

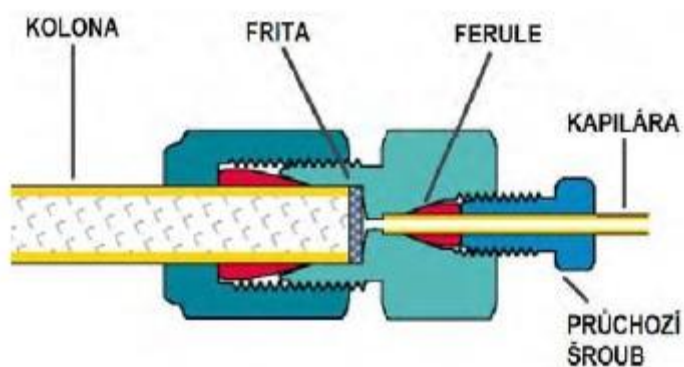


Obr. 14: Různé typy vialek

### 12.3.7 Předkolona a kolona

HPLC předklony jsou krátké kolony zařazované těsně před analytickou kolonu. Chrání kolonu tím, že zachytávají mechanické nečistoty a látky, které se ireverzibilně váží na kolonu. Obsahují stejnou stacionární fázi jako analytická kolona.

HPLC kolona je trubice (kovová, skleněná, křemenná nebo plastová) obsahující stacionární fázi. Při specifikaci kolony se udávají informace o typu fáze, rozměru kolony, velikosti částic a velikosti pórů. Kolony jsou uzpůsobeny pro připojení standardní 1/16" kapiláry. Schéma připojení uvedeno na obr. 15.



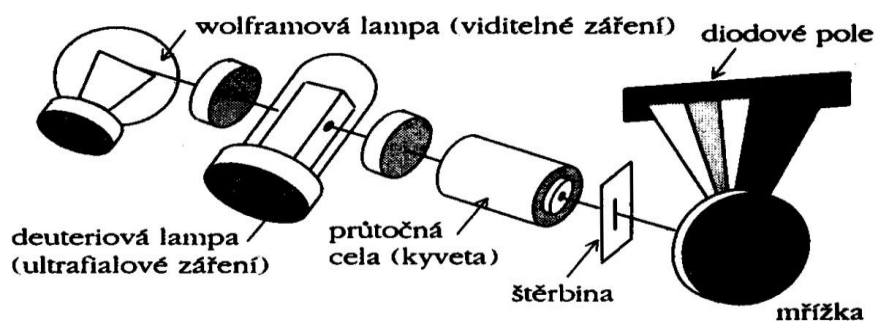
Obr. 15: Schéma připojení kolony

Kolonové termostaty – teplota kolony ovlivňuje separaci analytů. Vyšší teplota většinou urychlí analýzu, dosahuje se vyšší účinnosti, ale může se snižovat rozlišení. Kontrolou teploty, tedy použitím kolonového termostatu, se zlepšuje reprodukovatelnost retenčních časů.

### 12.3.8 Detektor

(a) Fotometrický detektor (obr. 16) je nejčastěji používaný detektor. Měří absorpenci mobilní fáze vycházející z kolony. Pro optimální citlivost detektoru musí být zajištěna dostatečná absorpční dráha průtočné kvety, již prochází paprsek absorbovaného záření. Jednodušší detektory měří při jedné vlnové délce v ultrafialové oblasti, složitější dovolují nastavení vlnové délky pomocí monochromátoru. Nejdokonalejší jsou schopny pomocí diodového pole proměřit absorpční spektrum v určené oblasti vlnových délek a uložit ho do paměti. Detektor

může zachytit až 1 pg složky. Citlivost je pro různé látky různá a při zvolené vlnové délce závisí na velikosti molárního absorpčního koeficientu látky.



Obr. 16: Schéma fotometrického diodového detektoru

(b) Refraktometrický detektor měří rozdíly mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Obsahuje-li eluát složku, objeví se výchylka. Tento typ detektoru sice není příliš citlivý, ale je velmi univerzální. Při jeho použití je třeba přísně udržovat konstantní teplotu.

(c) Fluorimetrický detektor je založen na principu fluorescence. Využívá se schopnosti látek absorbovat ultrafialové záření a následně vysílat záření o vyšší vlnové délce, které se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího záření. Detektor zachytí i  $10^{-14}$  g látky. Je vysoce selektivní. Vhodně lze kombinovat s fotometrickým detektorem.

(d) FTIR detektor je univerzálním detektorem. Zpracovává infračervená spektra složek v mobilní fázi.

(e) Elektrochemické detektory jako vodivostní nebo voltametrické lze použít tam, kde jsou v roztocích obsaženy ionty respektive složky oxidovatelné nebo redukovatelné na polarizovatelné elektrodě.

(f) Hmotnostní spektrometr – iontově-optické zařízení (separace iontů)

## **13. Experimentální část**

### **13.1 Použité přístroje, zařízení a pomůcky**

- Sušárna Venticell 111 – Komfort, výrobce BMT – Brněnská Medicínská Technika a.s. (ČR)
- Sušárna Binder, výrobce Binder (SRN)
- Lyofilizátor STERIS, výrobce STERIS (USA)
- Chromatografické zařízení Waters e2695 – Separation module (separační modul), Alliance (USA)
- Detektor diodového pole Waters 996 PDA (USA)
- Váha KERN EG420-3NM, výrobce Kern & Sohn (SRN)
- Injekční stříkačky Luer-slip plastic syringe, 3 ML, dodavatel Chromservis, země původu (SRN)
- Filtry PVDF 30 mm, 0,45 µm, dodavatel Chromservis
- Vialky 12x32, 11 mm, Thermo-scientified (USA)
- Software EMPOWER (USA)

### **13.2 Použité chemikálie**

- 100% kyselina octová (Glacial acetic acid), Sigma – Aldrich, p.a., (USA)
- 96% Ethanol, Lach:ner, p.a., (ČR)
- Acetonitril pro HPLC – gradient grade, Sigma – Aldrich, p.a., (USA)

### **13.3 Analyzovaný materiál**

V obchodní síti v ČR byly zakoupeny různé druhy papriky a chilli od různých výrobců.

- Výrobce KOTÁNYI GmbH (Rakousko): paprika sladká, paprika pálivá, paprika lahůdková, paprika gulášová a chilli mleté (kajenský pepř), jednotná gramáž 30 g (obr. 17).
- Výrobce VITANA, a.s. (ČR): paprika sladká, paprika lahůdková, paprika gulášová, jednotná gramáž 30 g (obr. 18).

- Značka ORIENT, výrobce KOTÁNYI GmbH (Rakousko): paprika sladká, paprika pálivá, paprika lahůdková, jednotná gramáž 30 g (obr. 19).
- Značka AVOKÁDO, výrobce Pěkný-Unimex, s.r.o. (ČR): paprika sladká, gramáž 30 g (obr. 20).



Obr. 17: Zakoupené druhy paprik výrobce Kotányi



Obr. 18: Zakoupené druhy paprik výrobce Vitana



Obr. 19: Zakoupené druhy paprik značky Orient (kromě papriky lahůdkové)



Obr. 20: Zakoupené druhy paprik značky Avokádo

V obchodní síti v ČR (obchodní řetězec BILLA, spol., s.r.o.) byly zároveň zakoupeny čerstvé plody paprik různých barev (obr. 21):

- Zelená
- Zelená tenkostěnná

- Zelená tenkostěnná pálivá
- Oranžová
- Žlutá
- Červená



**Obr. 21: Čerstvé plody paprik**

Ve specializovaném internetovém obchodě Prodej poctivého chilli ([www.seminka-chilli.cz](http://www.seminka-chilli.cz)) byly zakoupeny extra pálivé odrůdy paprik (obr. 22):

- Kajenský pepř (USA) – středně pálivé
- Bhut Jolokia (Indie) – extrémně pálivé
- Habanero (Mexiko) – extrémně pálivé
- Cascabel (Mexiko) – jemné pálivé



**Obr. 22: Extra pálivé papričky zakoupené na e-shopu**

## **13.4 Zavedení a optimalizace metody HPLC**

Dílčím cílem bylo zavedení a optimalizace metody HPLC pro stanovení obsahu kapsaicinoidů v rodu paprika na základě literární rešerše. Výchozí metodikou byla oficiální metoda AOAC číslo 995.03 Kapsaicinoidy v paprikách a jejich extraktech – metoda kapalinové chromatografie. Metoda je použitelná pro stanovení 750 – 650 000 Scovillových jednotek pálivosti (SHU) kapsaicinoidů v mleté a tlučené červené paprice, chilli papričkách, mletém kajenském pepři a mletých Jalapeño papričkách.

### **13.4.1 Stanovení kapsaicinoidů v rodu paprika**

Vlastní stanovení obsahu kapsaicinoidů v rodu paprika bylo provedeno na kapalinovém chromatografu (HPLC) firmy Waters na koloně s reverzní fází C<sub>18</sub>.

Mobilní fáze: 40 % acetonitril CH<sub>3</sub>CN, 60 % deionizovaná voda obsahující 1 % kyseliny octové

Průtok mobilní fáze: 1,5 ml.min<sup>-1</sup>

Kolona: typ NOVA PAK C<sub>18</sub>, 4 μm, o velikosti 150x3,9 mm

Objem nástřiku vzorku: 20 μl

Teplota chromatografické kolony: 30 °C

Detektor: byl použit detektor diodového pole (PDA). Chromatogramy byly vyhodnoceny při vlnové délce 229 nm. Absorpční spektra jednotlivých separovaných kapsaicinoidů jsou zobrazena na obr. 24 – 25 a 29 – 30.

Výpočet obsahu kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v analyzovaném vzorku byl proveden z plochy píku s pomocí softwaru EMPOWER. Z důvodu snadné dostupnosti 2 standardů (obr. 23), byly stanovovány pouze kapsaicin a dihydrokapsaicin. Konfirmace kapsaicinu a dihydrokapsaicinu byla provedena na základě změřených absorpčních spekter a spekter známých z literatury.

Koncentrace kvantifikovaných kapsaicinoidů v softwaru EMPOWER jsou uvedeny v μg.ml<sup>-1</sup>. K převodu na koncentraci vyjádřenou v μg.g<sup>-1</sup> byl použit následující vztah:

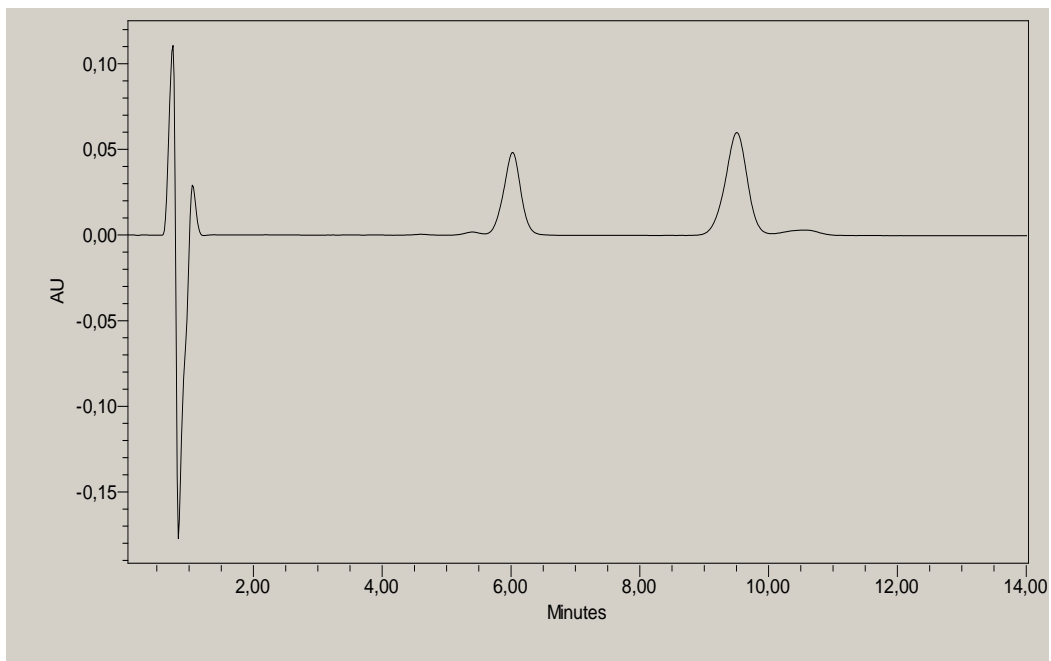
$$C = \frac{C_0 \cdot V}{n}$$

c.....koncentrace kapsaicinoidů ve vzorku vyjádřena v  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

$c_0$ .....koncentrace kapsaicinoidů ve vzorku vyjádřena v  $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$

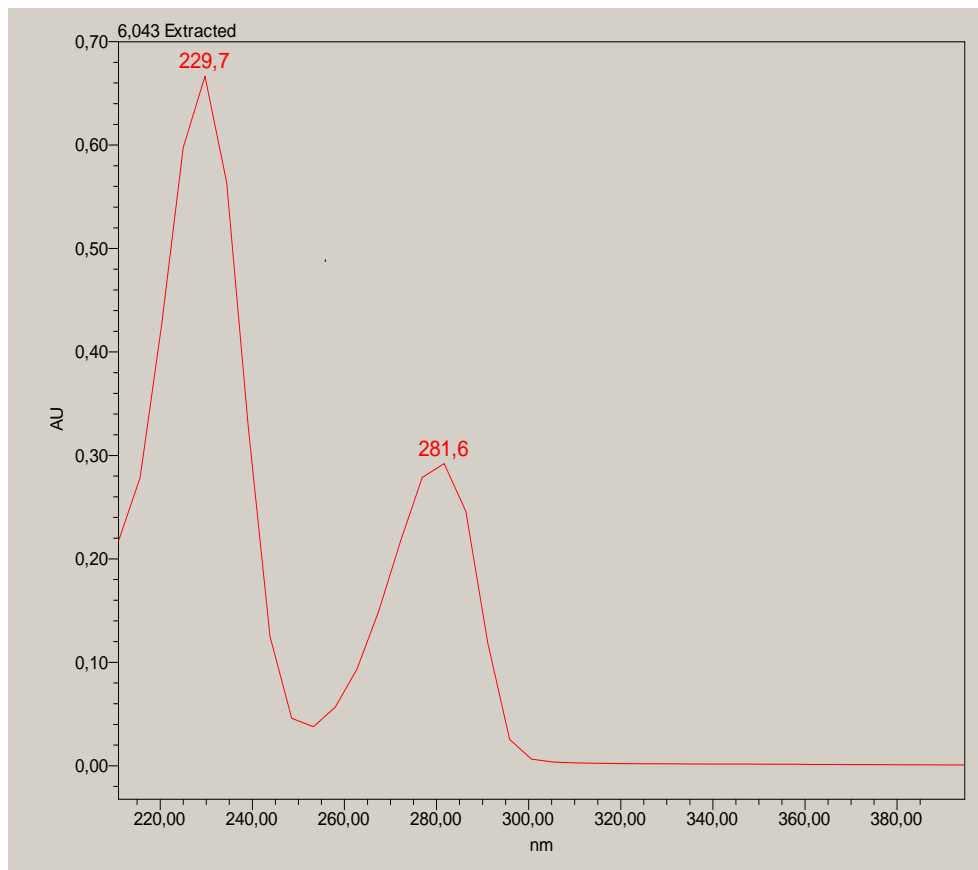
V.....objem suspenze vzorku před filtrací (20 ml)

n.....navážka vzorku v g

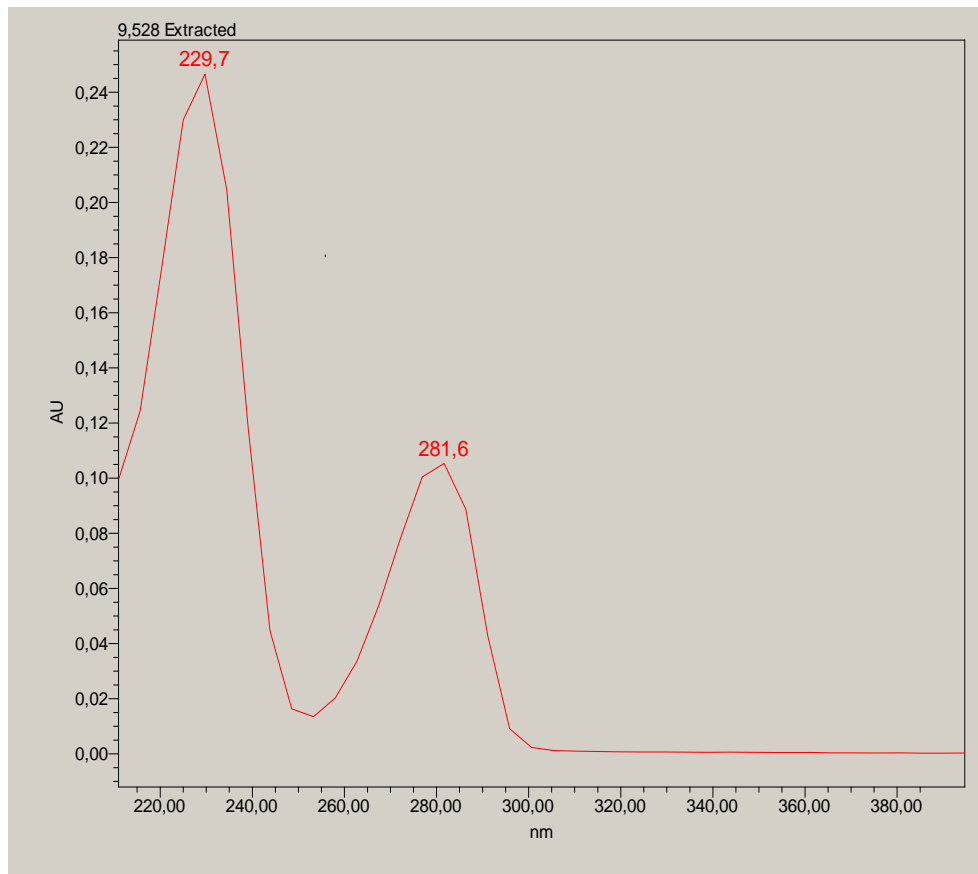


**Obr. 23: Chromatogram směsného standardu  $75 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (1. chromatografický pík – kapsaicin, 2. chromatografický pík - dihydrokapsaicin)**





**Obr. 24: Absorpční spektrum kapsaicinu**

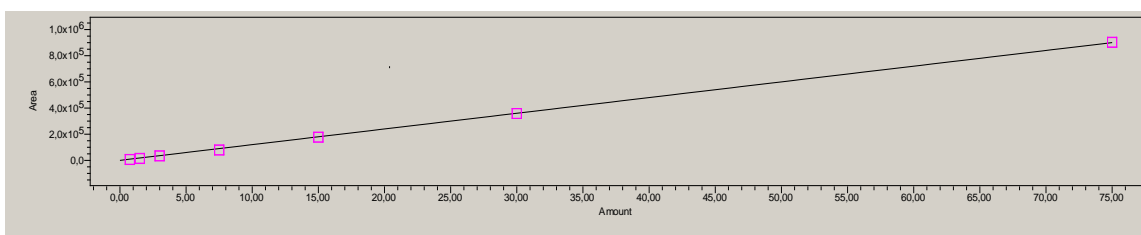


**Obr. 25: Absorpční spektrum dihydrokapsaicinu**

### 13.4.2 Mez detekce a mez stanovitelnosti

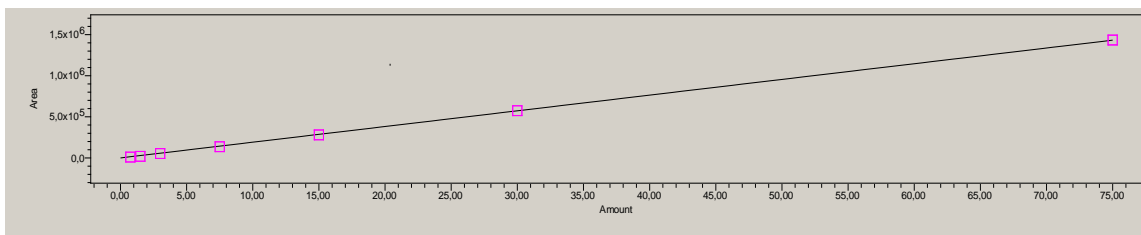
Kalibrační křivka byla proměřena v rozmezí 0,750 – 75 µg kapsaicinu a dihydrokapsaicinu na ml roztoku. Mez detekce (LOD) byla vyhodnocena z kalibrační závislosti v programu Excel. Mez stanovitelnosti (LOQ) je rovna trojnásobku hodnoty meze detekce, tedy  $LOQ = 11,25 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Kalibrační křivky kapsaicinu a dihydrokapsaicinu jsou vyobrazeny na obr. 26, 27.

**Obr. 26: Kalibrační křivka kapsaicinu**



$$y = 1,2 \cdot 10^4 x, R^2 = 0,999742, R = 0,99987$$

**Obr. 27: Kalibrační křivka dihydrokapsaicinu**



$$y = 1,91 \cdot 10^4 x, R^2 = 0,999865, R = 0,999933$$

Na základě chromatogramu směšného standardu testovací analýzy zkoumaného vzorku a stanovení mezí detekce byla aplikovaná analytická metoda vyhodnocena jako vyhovující. Metoda byla použita pro stanovení kapsaicinu ve zkoumaných vzorcích paprik.

## 13.5 Příprava vzorků

Vzorky kupované mleté papriky sladké (dodavatel Clever) byly vysušeny do konstantní hmotnosti v sušárně Venticell 111 při teplotě 105 °C. Vzorky čerstvých paprik (zelená, zelená tenkostěnná, zelená tenkostěnná pálivá, oranžová, žlutá, červená) byly nakrájeny na tenké proužky. Proužky zváženy na analytických vahách a uloženy do uzavíratelného polyethylenového sáčku a semena vyjmenovaných paprik byla zmrazena v mrazicím boxu při teplotě -20 °C a

následně lyofilizována v lyofilizátoru Steris. Po cca. 72 hodinách byly lyofilizované vzorky opět zváženy a rozemlety v kávovém mlýnku a semena rozdrčena tloučkem v porcelánové třecí misce.

Zakoupené koření od výrobců Kotányi, Vitana, Orient a Avokádo a pálivé papričky z internetového obchodu byly v sušárně Venticell 111 vysušeny při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti přibližně 48 hod a po vysušení umístěny do exsikátoru kvůli zabránění zpětnému nasátí vlhkosti. V exsikátoru byly vzorky uchovávány do doby analýzy.

Následující postup byl stejný pro všechny vzorky. Přibližně 2 g vysušeného nebo lyofilizovaného vzorku bylo naváženo na analytických vahách s přesností na 3 desetinná místa a umístěno do uzavíratelných vzorkovnic ( $V = 250$  ml). Ke vzorku bylo přidáno 20 ml 96% ethanolu a 3 kapky 100% octové kyseliny. Uzavřená lahvička byla 3 hodiny zahřívána při teplotě 75 °C v sušárně Binder, poté zchlazena na pokojovou teplotu. Ze získaného extraktu byl injekční stříkačkou odebrán supernatant, který byl dále zfiltrován přes PVDF filtr přímo do vialky. Takto připravený vzorek bych uchován v lednici při teplotě 5 °C až do doby analýzy.

## **13.6 Výsledky**

Každý vzorek byl změřen ve třech paralelních opakováních. Experimentálně získané hodnoty obsahu kapsaicinu a dihydrokapsaicinu byly zprůměrovány a byla zjištěna výběrová směrodatná odchylka. Pokud byl obsah kapsaicinu a dihydrokapsaicinu nižší nebo roven mezi stanovitelnosti, je pole označeno jako  $\leq$ LOQ.

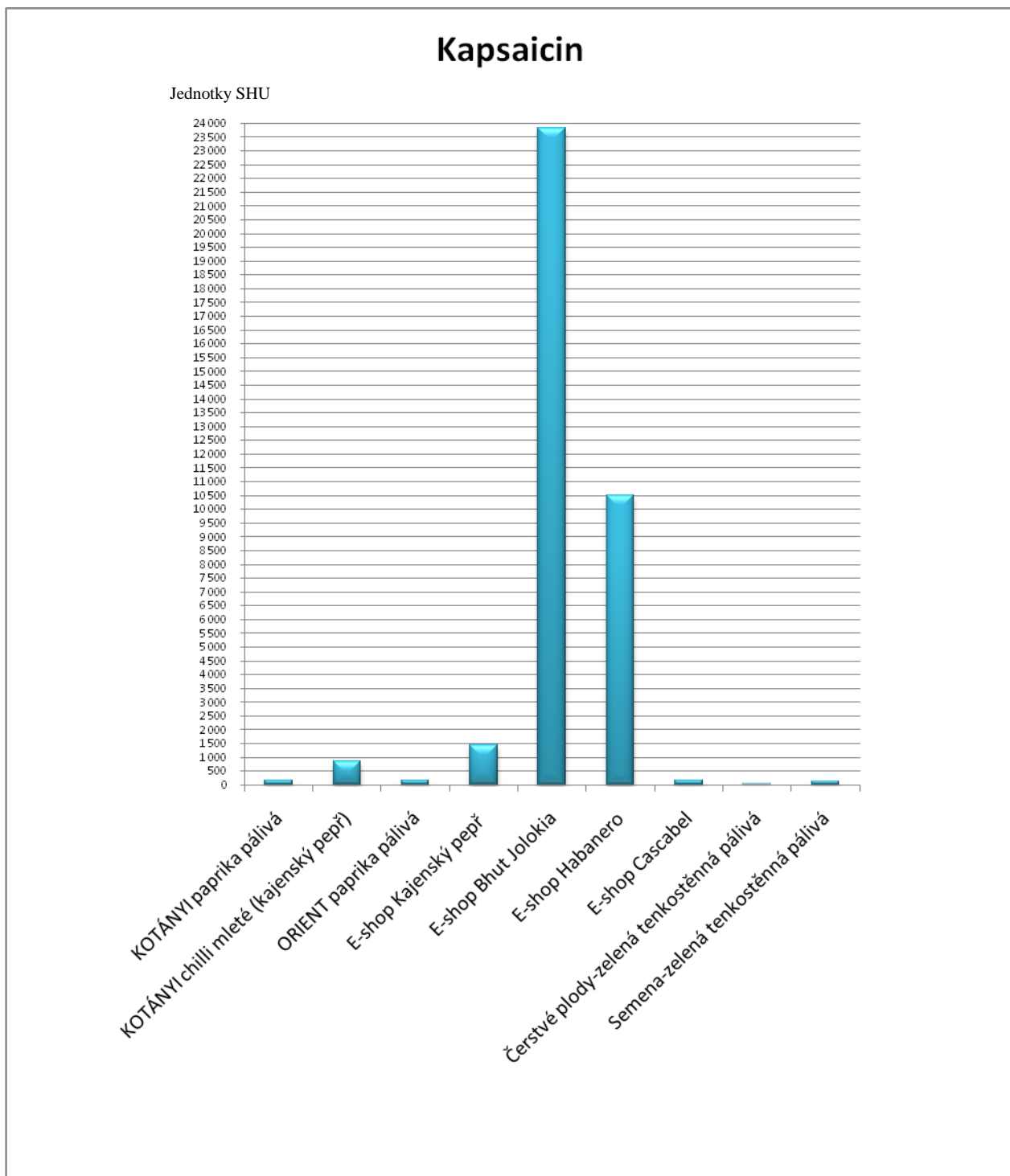
Obsah kapsaicinu byl převeden na Scovillovy jednotky pálivosti vynásobením obsahu kapsaicinu v gramech na gram sušiny koeficientem  $1,6 \times 10^7$  (Todd et al., 1977). Dle vypočítaných hodnot SHU byly vzorky zařazeny do stupně ostrosti dle Nwokena et al. (2010) (tabulka 6).

**Tabulka 6: Obsah kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v sušině papriky<sup>1</sup> v jednotkách  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Scovillovy jednotky pálivosti a zařazení do úrovně pálivosti**

Název vzorku		Kapsaicin	Dihydrokapsaicin	SHU (Scovillovy jednotky pálivosti)	Úroveň pálivosti
<b>KOTÁNYI</b>	paprika sladká	≤ LOQ	60,480 ± 0,560	0	
	paprika pálivá	167,55 ± 2,310	122,98 ± 1,350	2 681	mírně pálivé
	paprika lahůdková	≤ LOQ	58,860 ± 2,520	0	
	paprika gulášová	≤ LOQ	53,530 ± 4,050	0	
	chilli mleté (kajenský pepř)	876,76 ± 65,20	312,87 ± 38,81	14 028	středně pálivé
<b>VITANA</b>	paprika sladká	≤ LOQ	50,540 ± 1,230	0	
	paprika lahůdková	≤ LOQ	75,210 ± 3,390	0	
	paprika gulášová	≤ LOQ	86,300 ± 3,170	0	
<b>ORIENT</b>	paprika sladká	≤ LOQ	19,6103 ± 4,830	0	
	paprika pálivá	165,54 ± 16,16	42,550 ± 7,360	2 649	mírně pálivé
	paprika lahůdková	≤ LOQ	18,670 ± 5,580	0	
<b>AVOKÁDO</b>	paprika sladká	≤ LOQ	27,700 ± 8,330	0	
<b>E-shop</b>	Kajenský pepř	1435,8 ± 33,12	527,85 ± 14,74	22 973	středně pálivé
	Bhut Jolokia	23836 ± 1673	7806,3 ± 433,0	381 377	velmi silně pálivé
	Habanero	10508 ± 120,5	2880,0 ± 17,86	168 131	velmi silně pálivé
	Cascabel	169,34 ± 6,640	101,31 ± 2,980	2 709	mírně pálivé
<b>Čerstvé plody</b>	zelená	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	zelená tenkostěnná	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	zelená tenkostěnná pálivá	26,770 ± 2,560	≤ LOQ	428	nepálivé
	oranžová	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	žlutá	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	červená	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
<b>Semena</b>	zelená	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	zelená tenkostěnná	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	zelená tenkostěnná pálivá	137,08 ± 0,000	31,510 ± 0,000	2 193	mírně pálivé
	oranžová	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	žlutá	≤ LOQ	≤ LOQ	0	
	červená	≤ LOQ	≤ LOQ	0	

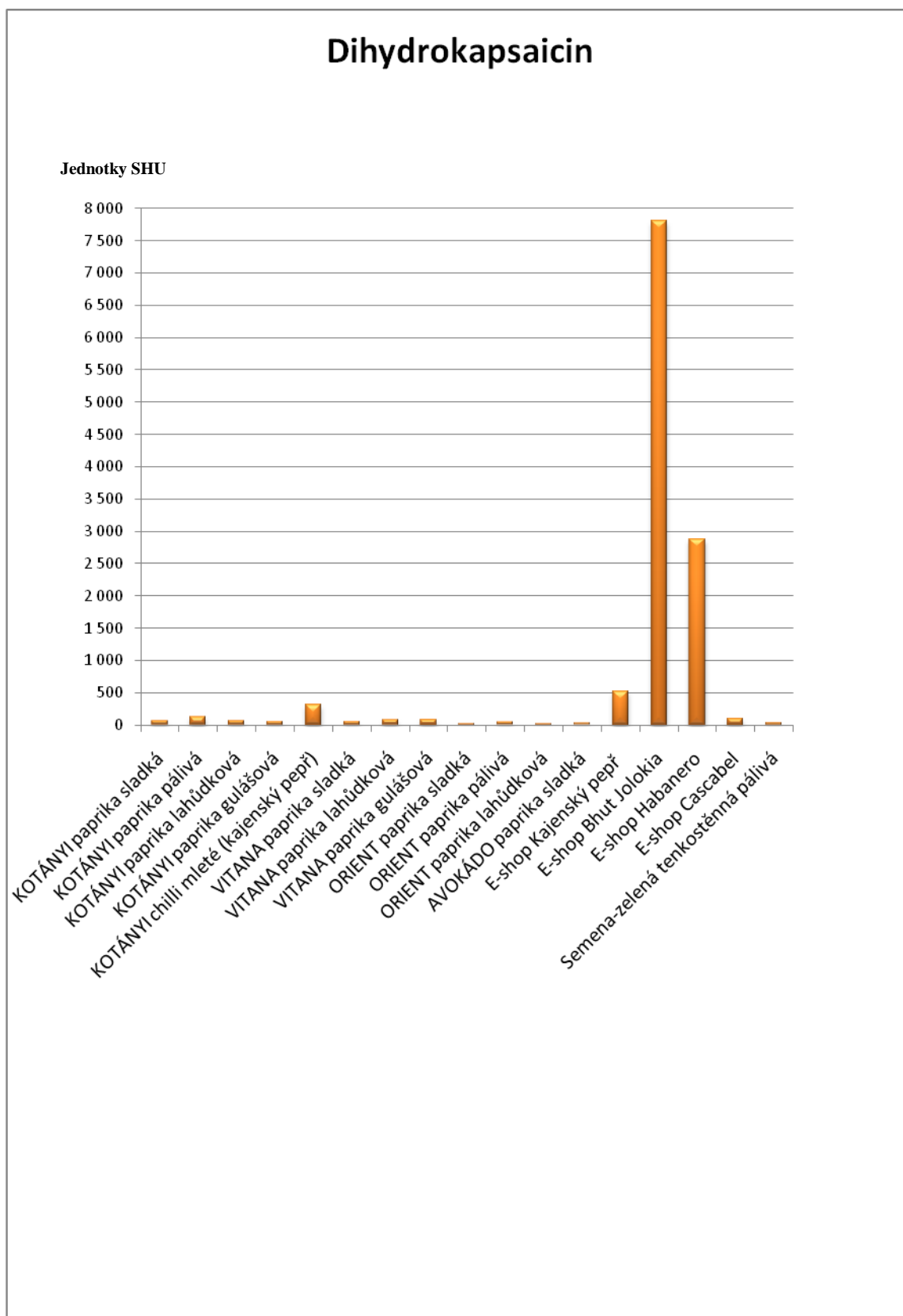
<sup>1</sup> V čerstvých plodech jsou obsahy uvedeny taktéž na sušinu

Rozdíly v obsahu kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v analyzovaných vzorcích jsou znázorněny v grafech 1 a 2. V grafech jsou zobrazeny pouze ty vzorky, ve kterých bylo stanoveno množství kapsaicinu a dihydrokapsaicinu nad mezí stanovitelnosti (LOQ).



**Graf 1: Obsah kapsaicinu v analyzovaných vzorcích**

## Dihydrokapsaicin



Graf 2: Obsah dihydrokapsaicinu v analyzovaných vzorcích

V čerstvém plodu je nejvíce zastoupena voda. Dle Špaldona (1948) se obsah vody pohybuje okolo 80 – 93 %. Po lyofilizaci čerstvé hmoty analyzovaných vzorků byl zjištěn úbytek váhy v rozmezí 90 – 94 %, viz tab. 7. Výsledky stanovení obsahu vody potvrdily a zpřesnily tvrzení Špaldona (1948).

**Tabulka 7: Úbytek hmotnosti po lyofilizaci čerstvé hmoty**

<u>Název vzorku</u>		hmotnost čerstvé hmoty (g)	hmotnost po lyofilizaci (g)	úbytek hmotnosti v %
Čerstvé plody	zelená	159,30	9,64	93,95 %
	zelená tenkostěnná	112,47	7,12	93,67 %
	zelená tenkostěnná pálivá	93,20	6,47	93,06 %
	oranžová	135,87	12,41	90,87 %
	žlutá	164,79	12,66	92,32 %
	červená	132,21	11,72	91,14 %

U kupovaného sušeného koření, které bylo v laboratoři dosušeno do konstantní hmotnosti, nebyl předpokládán vysoký obsah vody. Tato skutečnost byla potvrzena, zbytkový obsah vody v sušeném mletém koření se pohyboval v rozmezí 1,24 % - 4,16 %, tedy v průměru 2,67 % (viz. tab. 8).

Tabulka 8: Úbytek hmotnosti po usušení koření do konstantní hmotnosti

<u>Název vzorku</u>		hmotnost čerstvé hmoty (g)	hmotnost po lyofilizaci (g)	úbytek hmotnosti v %
<b>KOTÁNYI</b>	paprika sladká	29,80	28,86	3,16 %
	paprika pálivá	32,35	31,39	2,96 %
	paprika lahůdková	31,79	30,91	2,77 %
	paprika gulášová	31,81	30,84	3,02 %
	chilli mleté (kajenský pepř)	29,03	28,53	1,73 %
<b>VITANA</b>	paprika sladká	31,85	30,65	3,76 %
	paprika lahůdková	32,37	31,17	3,70 %
	paprika gulášová	33,09	31,76	4,02 %
<b>ORIENT</b>	paprika sladká	34,90	34,25	1,86 %
	paprika pálivá	32,65	31,62	3,15 %
	paprika lahůdková	30,85	29,57	4,16 %
<b>AVOKÁDO</b>	paprika sladká	29,52	28,97	1,85 %
<b>E-shop</b>	Kajenský pepř	30,58	29,99	1,95 %
	Bhut Jolokia	25,58	25,25	1,30 %
	Habanero	26,17	25,85	1,24 %
	Cascabel	24,88	24,36	2,08 %

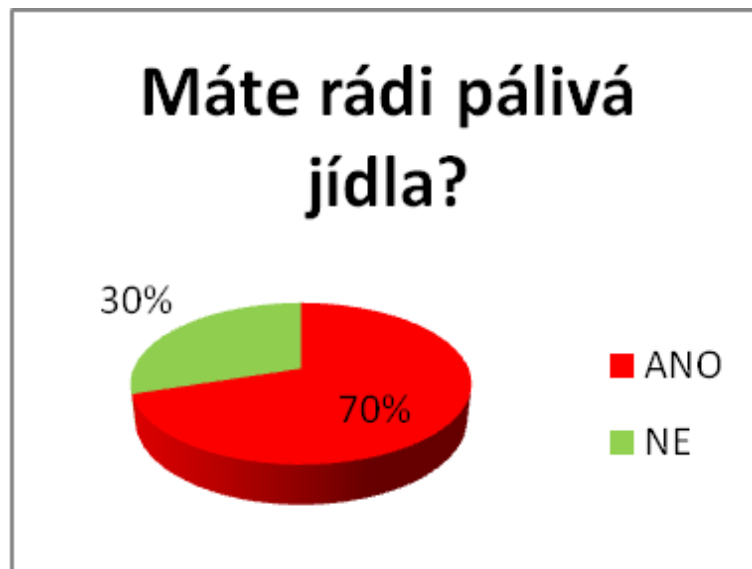
### 13.7 Dotazníkové šetření

Součástí diplomové práce bylo rovněž dotazníkové šetření, které mělo za cíl zjistit odpovědi na otázky ohledně preference pálivých jídel a frekvence jejich konzumace. Dotazník je uveden v přílohouvé části. Skupina podrobena šetření sestávala ze 30 osob různého pohlaví (18 žen, 12 mužů), věku (od 15 do 69 let), vzdělání (základní až vysokoškolské) či bydliště (Praha, Středočeský kraj, Moravskoslezský kraj, Královéhradecký kraj).

#### **Otázka „Máte rádi pálivá jídla?“**

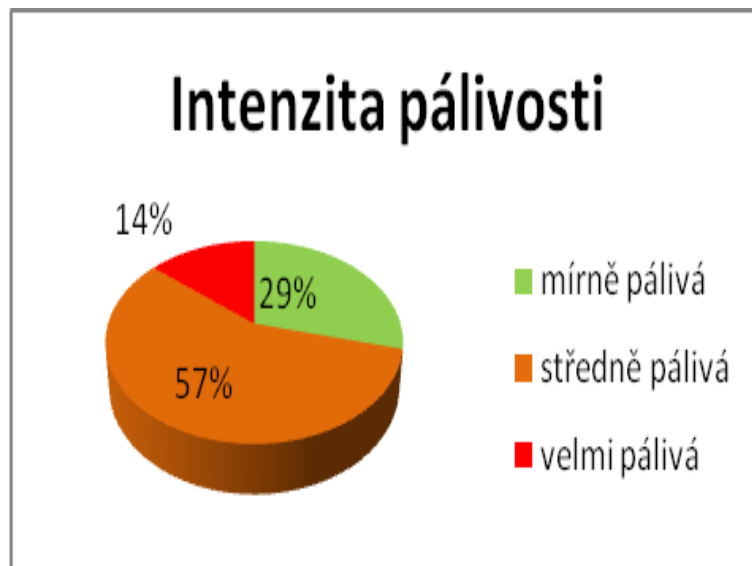
21 osob odpovědělo ano (12 žen a 9 mužů) a 9 osob ne (6 žen a 3 muži)





**Otázka „Oblíbená úroveň pálivosti?“**

6 osob odpovědělo mírně pálivá (3 muži a 3 ženy), 12 osob středně pálivá (7 žen a 5 mužů) a 3 osoby velmi pálivá (2 ženy a 1 muž)



**Otázka „Dosažení pálivosti?“**

bylo odpovězeno následovně:

pálivá paprika 3 osoby (1 žena, 2 muži),

chilli 11 osob (7 žen, 4 muži),

chilli a pálivá paprika 8 osob (7 žen, 1 muž),

chilli, pálivá paprika, pálivé omáčky 3 osoby (1 žena, 2 muži)



#### Otázka „Jak průměrně často konzumujete pálivá jídla?“

bylo odpovězeno následovně:

1 x měsíčně 8 osob (6 žen, 2 muži)

2 x měsíčně 3 osoby (1 žena, 2 muži)

1 x týdně 7 osob (3 ženy, 4 muži)

Vícekrát týdně 3 osoby (2 ženy, 1 muž)



## 14. Diskuze

Papriky se v minulosti používaly jen jako ozdobné rostliny a později koření. Až mnohem později lidé zjistili, že lze lusky konzumovat i jako zeleninu. Dnes se pěstuje po celém světě a používá se jako zelenina, koření nebo lék a její obliba stále roste. Pálivá forma papriky se označuje jako chilli paprička, nepálivá jako kapie. Používá se proti velkému počtu onemocnění.

Pálivost papriky souvisí s obsahem alkaloidu kapsaicinu (Moravcová, 2006). Práce je zaměřena na stanovení obsahu kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v různých typech mleté a čerstvé papriky a určení stupně pálivosti.

Dle Špaldona (1948) jsou tvary čerstvých plodů a jejich velikost velmi rozmanité. Červená, oranžová, žlutá a zelená paprika měly kubický tvar o průměrné velikosti 10 – 12 cm. Zelená tenkostěnná a zelená tenkostěnná pálivá měly tvar rohu a průměrnou velikost 16 cm. Dle Cheerse (2003) čím jsou plody menší, tím jsou palčivější, což platí o papričkách kupovaných na e-shopu, které před rozemletím měřily průměrně pouze 4 – 6 cm a potvrdilo se u nich vysoké množství kapsaicinoidů.

Ve skupině kupovaného koření byl kapsaicin detekován v paprice pálivé ( $167,55 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) a chilli mletém ( $876,76 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) od výrobce Kotányi a v paprice pálivé ( $165,54 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) od výrobce Orient. V ostatních vzorcích mletého koření byl obsah kapsaicinu nižší než mez detekce.

Výrobce Kotányi i výrobce Orient dodávají pálivou papriku, která obsahuje téměř stejné množství kapsaicinu ( $167,55$  a  $165,54 \mu\text{g.g}^{-1}$ ), a spadají tedy do stejné úrovně pálivosti – mírně pálivé. Odpovídající typy mletého koření jsou si z hlediska pálivosti velmi podobné. Průměrné množství kapsaicinu v pálivé paprice je  $166,54 \mu\text{g.g}^{-1}$  a průměrné množství dihydrokapsaicinu je  $82,76 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Předpoklad, že hladina pálivosti chilli mletého bude vyšší, byl potvrzen jeho chemickou analýzou. Chilli mleté obsahuje  $876,76 \mu\text{g.g}^{-1}$  kapsaicinu a  $312,87 \mu\text{g.g}^{-1}$

dihydrokapsaicinu, což odpovídá více jak 14 tisícům SHU, a patří tedy do středně pálivé úrovně.

Průměrné množství kapsaicinu v kajenském pepři (od Kotányi a z e-shopu) je 1156,29  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a průměrné množství dihydrokapsaicinu je 420,36  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Ve všech vzorcích mleté sladké, lahůdkové a gulášové papriky byl stanoven dihydrokapsaicin v rozmezí 18,67 – 86,30  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , přestože obsah kapsaicinu byl pod mezí detekce. Obsahy dihydrokapsaicinu ve stejném typu mletého koření od různých výrobců se až trojnásobně lišily. Průměrné množství dihydrokapsaicinu v paprice sladké (od Kotányi, Vitana, Orient a Avokádo) je  $\pm 39,58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Průměrné množství dihydrokapsaicinu v paprice lahůdkové (od Kotányi, Vitana a Orient) je  $\pm 50,91 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Průměrné množství dihydrokapsaicinu v paprice gulášové (od Kotányi a Vitana) je  $\pm 69,91 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Dihydrokapsaicin byl nalezen ve všech vzorcích, ale jeho množství v jednotlivých vzorcích není velké. Pokud paprika neobsahuje kapsaicin, ale pouze dihydrokapsaicin (a to v malém množství), nelze očekávat, že bude pálivá, byť pouze na nejnižší úrovni.

V papričkách zakoupených ve specializovaném e-shopu bylo zjištěno největší množství kapsaicinoidů ze všech zkoumaných vzorků. Nejvíce kapsaicinoidů bylo nalezeno v odrůdě Bhut Jolokia (23836  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  kapsaicinu a 7806,2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  dihydrokapsaicinu), nejméně v odrůdě Cascabel (169,34  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  kapsaicinu a 101,31  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  dihydrokapsaicinu). Informace o úrovni pálivosti, které byly poskytnuty dodavatelem (Kajenský pepř – středně pálivé, Bhut Jolokia – velmi silně pálivé, Habanero – velmi silně pálivé, Cascabel – mírně pálivé), se shodují s úrovní pálivosti, která byla vyhodnocena na základě stanovení obsahu kapsaicinoidů (tab. 60).

V čerstvých plodech, které nemají pálivou chuť, nebyla přítomnost kapsaicinoidů podle očekávání potvrzena. Výsledky jsou totožné s výzkumem Musfiroha et al. (2013) a studií Al Othmana et al. (2011), ve kterých sledovaný obsah kapsaicinu v zelené, žluté a červené paprice byl také pod mezí detekce.

Pouze v pálivé tenkostěnné paprice byla hladina kapsaicinu detekována, a to 26,770  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , nicméně dle Nwokena et al. (2010) byla úroveň pálivosti stanovena jako nepálivá. Ve všech čerstvých paprikách byl obsah dihydrokapsaicinu pod mezí detekce, obsah kapsaicinu při přepočtu na čerstvou hmotu 1,86  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Také v semenech nepálivých paprik nebyla očekávána přítomnost kapsaicinoidů, a to ani v semenech pálivé papriky, protože dle Arory et al. (2011) semena běžně nejsou zdrojem ostroty, ale občas absorbují kapsaicin, protože jsou v blízkosti placenty a mohou být mírně pálivé. Nicméně v semenech pálivé papriky bylo nalezeno větší množství kapsaicinoidů než v samotné dužině (137,08  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , resp. 26,770  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  kapsaicinu a 31,510  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  dihydrokapsaicinu). V plodech čerstvé zelené tenkostěnné papriky byl obsah dihydrokapsaicinu pod mezí detekce.

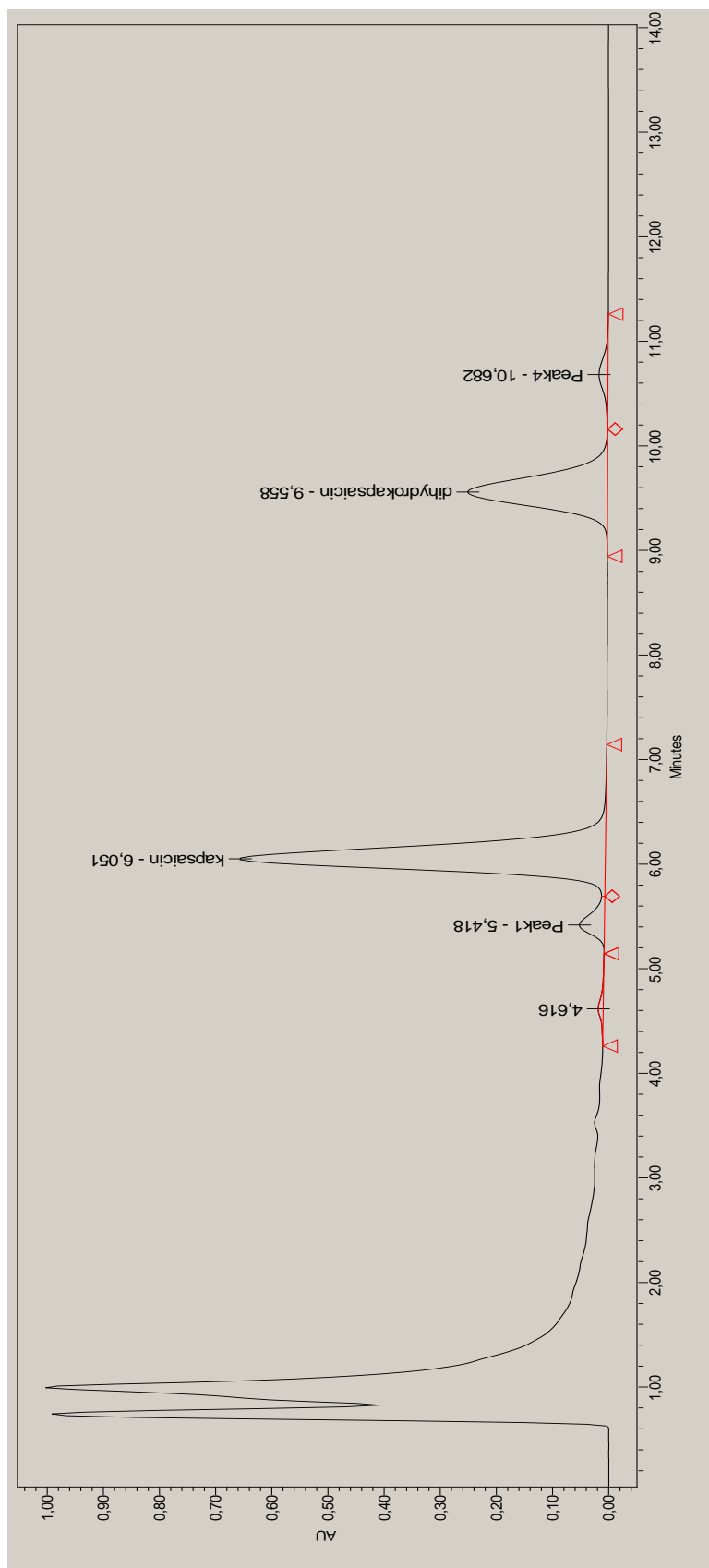
V pálivých druzích paprik byl vždy nalezen vyšší obsah kapsaicinu než dihydrokapsaicinu. Poměr těchto dvou látek se pohyboval od hodnoty 1,35 (paprika pálivá Kotányi) do hodnoty 3,89 (paprika pálivá Orient), v semenech zelené tenkostěnné papriky dosahoval tento poměr nejvyšší hodnoty 4,35. Podle Scientific Committed on Food (2002) je poměr kapsaicinu a dihydrokapsaicinu 1:1 až 2:1. Stanovené poměry jsou s výjimkou dvou vzorků (paprika pálivá Kotányi a Cascabel) vyšší a neodpovídají údajům SCF. V tabulce 9 je uveden přehled poměru kapsaicinu a dihydrokapsaicinu v případě, že ve vzorku byl stanoven kapsaicin i dihydrokapsaicin.

Tabulka 9: Obsah kapsaicinu a dihydrokapsaicinu (v jednotkách  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a jejich poměr

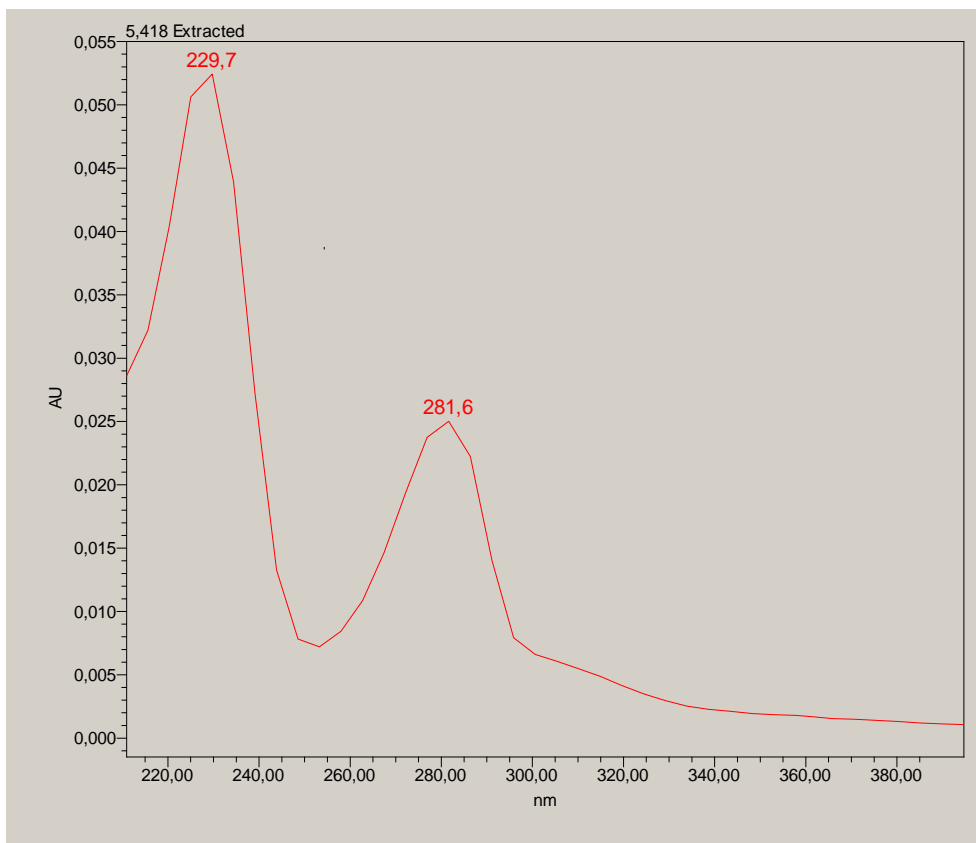
<u>Název vzorku</u>		Kapsaicin	Dihydrokapsaicin	Poměr kapsaicinu a dihydrokapsaicinu
<b>KOTÁNYI</b>	paprika pálivá	167,55 ± 2,310	122,98 ± 1,350	1,35 : 1
	chilli mleté (kajenský pepř)	876,76 ± 65,20	312,87 ± 38,81	2,80 : 1
<b>ORIENT</b>	paprika pálivá	165,54 ± 16,16	42,550 ± 7,360	3,89 : 1
<b>E-shop</b>	Kajenský pepř	1435,8 ± 33,12	527,85 ± 14,74	2,72 : 1
	Bhut Jolokia	23836 ± 1673	7806,3 ± 433,0	3,69 : 1
	Habanero	10508 ± 120,5	2880,0 ± 17,86	3,64 : 1
	Cascabel	169,34 ± 6,640	101,31 ± 2,980	1,67 : 1
<b>Semena</b>	zelená tenkostěnná pálivá	137,08 ± 0,000	31,510 ± 0,000	4,35 : 1

LOQ = 11,25  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

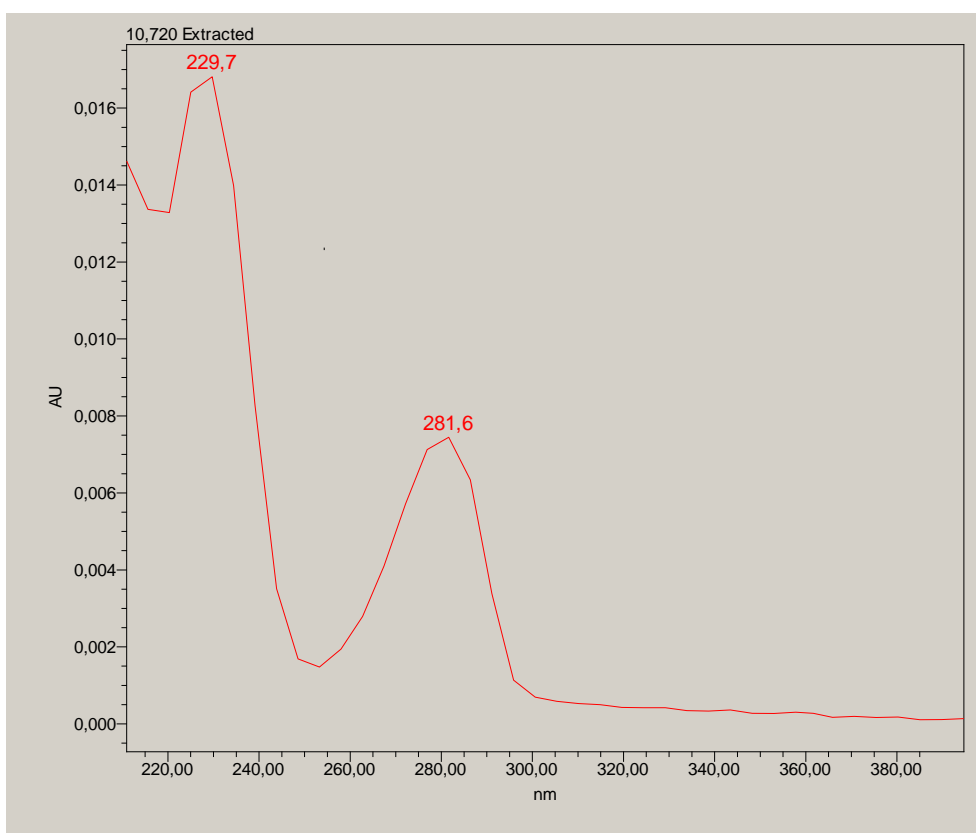
V chromatogramu vzorku Bhut Jolokia (Obr. 28 - odpovídá chromatografickému píku s retenčním časem  $t = 5,418$  minut) s nejvyšším stanoveným obsahem kapsaicinu i dihydrokapsaicinu byla zjištěna přítomnost dalších tří chromatografických píků. Na základě porovnání retenčních časů těchto píků a jejich proměřených absorpčních spekter (Obr. 29, 30 - odpovídá chromatografickému píku s retenčním časem  $t = 10,862$  minut) a retenčních časů a absorpčních spekter známých z literatury (Garcés-Clavier et al., 2006) lze předpokládat, že chromatografické píky odpovídají dalším látkám ze skupiny kapsaicinoidů, a to nordihydrokapsaicinu, homokapsaicinu a homodihydrokapsaicinu. Je velmi pravděpodobné, že tyto kapsaicinoidy se vyskytují pouze ve vzorcích s vysokým stupněm pálivosti. Rovněž v chromatogramu vzorku Habanero (příloha), který patří opět mezi velmi silně pálivé druhy, jsou patrné stopy těchto kapsaicinoidů. Kvantifikace obsahu nordihydrokapsaicinu, homokapsaicinu a homodihydrokapsaicinu nebyla provedena, protože standardy těchto látek jsou velmi drahé a nejsou běžně dostupné.



Obr. 28: Chromatogram vz. č. 41 - Bhut Jolokia 2



**Obr. 29: Absorpční spektrum nordihydrokapsaicinu**



**Obr. 30: Absorpční spektrum homokapsaicinu**



Na základě zjištěných hodnot v této studii by bylo velmi těžké a nepřesné stanovit průměrnou, doporučenou a maximální denní dávku kapsaicinoidů v České republice. Snášenlivost pálivých produktů je závislá na zvyklostech každého jedince. Samozřejmě český spotřebitel neholduje pikantní až velmi silně pálivé stravě jako například v Mexiku, Thajsku nebo Indii, proto není „český organismus“ tolik navyklý jako jiný. Tato skutečnost je evidentní: Výborem expertů Rady Evropy na látky určené k aromatizaci byl v Evropě odhadnut maximální denní příjem na přibližně 1,5 mg denně, což dle našich výpočtů znamená pro českého konzumenta zhruba 62 mg papriky Bhut Jolokia denně, což je několiknásobně méně než v Indii, Thajsku nebo Mexiku, kde se denní příjem odhaduje na 25 – 200 mg, což představuje velký rozdíl. Nicméně uvedené množství pro českého konzumenta i přesto pravděpodobně není reálné.

Dle Scientific Committed on Food (2002) může být konzumace kapsaicinoidů kontroverzní: existuje riziko tvorby rakoviny horní části trávicího traktu a na druhou stranu dle studií provedených v Evropě nebyl v souvislosti s občasnou a nízkou konzumací chilli výskyt rakoviny žaludku pozorován.

Z dotazníkového šetření vyplynulo následující: Na otázku „Máte rádi pálivá jídla?“ odpovědělo 70 % respondentů Ano a 30 % respondentů Ne. Otázka ohledně intenzity pálivosti jídel dopadla následovně: 29 % mírně pálivé, 57 % středně pálivé a 14 % velmi pálivé. K otázce dosažení pálivosti pokrmů většina respondentů odpověděla, že používají pálivou papriku anebo chilli anebo obojí. Pouze 14 % respondentů používají k těmto dvěma možnostem i pálivé omáčky. Na poslední otázku „Jak průměrně často konzumujete pálivé pokrmy?“ bylo odpovězeno takto: 38 % jednou za měsíc, 14% dvakrát za měsíc, 34 % jednou za týden a 14 % respondentů vícekrát týdně. Ze získaných výsledků lze odvodit následující spojitost: právě ti samí respondenti, kteří mají v oblibě velmi pálivá jídla, je konzumují vícekrát týdně. Obecně však z průzkumu vyplývá, že spotřeba chilli či pálivé papriky přímo nesouvisí s pohlavím, věkem, bydlištěm ani vzděláním respondentů.

Výsledky studie potvrdily stanovené hypotézy.

## 15. Závěr

Kapsaicin byl nalezen z celkových osmadvaceti vzorků pouze v devíti, a to v Kotányi paprika pálivá, Kotányi chilli mleté, Orient paprika pálivá, e - shop kajenský pepř, e – shop Bhut Jolokia, e – shop Habanero, e – shop Habanero, z čerstvých plodů paprika zelená tenkostěnná pálivá a ze semen tatáž paprika v rozmezí od 26,770 do 23836  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Nejvyšší obsah byl nalezen ve vzorku Bhut Jolokia.

Dihydrokapsaicin byl nalezen ve všech vzorcích kromě čerstvých plodů a ze semen pouze v paprice zelené tenkostěnné pálivé.

Pokud paprika obsahuje pouze dihydrokapsaicin v malém množství, nelze očekávat, že bude pálivá. V papričkách zakoupených ve specializovaném e-shopu bylo zjištěno největší množství kapsaicinoidů ze všech zkoumaných vzorků. Informace o úrovni pálivosti, které byly poskytnuty dodavatelem, se shodují s úrovní pálivosti, která byla spočtena pomocí dosažených výsledků.

V semenech paprik nebyla očekávána přítomnost kapsaicinoidů, nicméně v semenech pálivé papriky bylo nalezeno více kapsaicinu než v samotné dužině. Poměr kapsaicinu na dihydrokapsaicin byl v rozmezí 1,35:1 až 4,35:1, a byl vyšší než uvádí Scientific Committed on Food (2002).

## 16. Zdroje – literatura

1. Al Othman, Z. A., Ahmed, Y.B.H., Habila, M.A., Ghafar, A.A. 2011. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in *Capsicum* Fruit Samples using High Performance Liquid Chromatography. *Molecules*. 16. 8919-8929
2. Anogianaki, A., Negrev, N. N., Shaik, Y.B., Castellani, M.L., Frydas, S., Vecchiet, J., Tete, S., Salini, V., Amicis, D.De., Lutiis, M.A.De., Conti, F., Caraffa, A., Cerulli, G. 2006. Capsaicin an irritant anti-inflammatory compound. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 21(1-2). 1-4.
3. Arora, R., Gill, N. S., Chauhan, G., Rana, A.C. 2011. An Overview about Versatile Molecule Capsaicin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drugs Research*. 3(4). 280-286.
4. Baranec, T., Poláčková, M., Košťál, J. 2004. *Systematická botanika*. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. Nitra. 205 s. ISBN: 8080694532.
5. Beaudry, F., Vachon, P. 2009. Quantitative determination of capsaicin, a transient receptor potential channel vanilloid 1 agonist, by liquid chromatography quadrupole ion trap mass spectrometry: evaluation of in vitro metabolit stability. *Biomedical Chromatography*. 23. 204-211.
6. Bijttebier, S., Zhani, K., D'Hondt, E., Noten, B., Harmans, S., Apers, S., Voorspoels, S. 2014. Generic Characterization of Apolar Metabolites in Red Chilli Peppers (*Capsicum frutescens* L.) by Orbitrap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62 (20). 4812-4831.
7. Bosland, P. W., Votava, E. J. 1999. *Peppers: Vegetable and Spice Capsicum*. Wallingford: CABI. 204 p. ISBN: 0-85199-335-4.
8. Davis, C. B., Markey, C. E., Busch, M. A., Busch, K. W. 2007. Determination of capsaicinoids in habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55. 5925-5933.
9. EPA – Environmental Protection Agency. 1992. R. E. D. Facts: Capsaicin. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 5 p.

10. Estella-Hermoso, M. A., Campanero, M.A., Mollinedo, F., Blanco-Prieto, M.J. 2009. Comparative study of A HPLC-MS assay versus an UHPLC-MS/MS for anti-tumoral alkyl lysophospholipid edelfosine determination in both biological samples and in lipid nanoparticulate systems. *Journal of Chromatography. B.* 877. 4035-4041.
11. Gibbs, H. A., O'Garro, L.W. 2004. Capsaicin content of west Indie shot pepper cultivars using colorimetric and chromatographic techniques. *HortScience.* 39. 132-135.
12. Gilbert-López, B., García-Rwyes, J. F., Mezcua, M., Molina-Díaz, A., Fernández-Alba, R. 2007. Determination of Postharvest Fungicides in Fruit Juices by Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography Electrospray Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55 (26). 10548-10556.
13. González-Zamora, A., Sierra-Campos, E., Luna-Ortega, J. G., Pérez - Moralez, R., Ortiz, J.C.R., García-Hernández, J.L. 2013. Characterization of Different *Capsicum* Varieties by Evaluation of Their Capsaicinoids Content by High Performance Liquid Chromatography, Determination of Pungency and Effect of High Temperature. *Molecules.* 18. 13471-13486.
14. Goswami, A. 2012. Capsaicin. *Journal of Pain & Palliative care Pharmacotherapy.* 26. 373-375.
15. Garcés-Clavier, A., Arnedo-Andrés, M. S., Abadía, J., Gil-Ortega, R., Álvarez-Fernández, A. 2006. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in *Capsicum* Fruits by Liquid Chromatography – Electrospray/Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 54. 9303-9311.
16. Ha, J., Han, K. J., Kim, K. J., Jeong, SW. 2008. Gas chromatographic analysis capsaicin in gochujang. *Journal of AOAC International.* 91. 387-391.
17. Ha, J., Seo, H. -Y., Shim, Y. - S., Seo, D. - W., Seog, H., Ito. M., Nakagawa,H. 2010. Determination of Capsaicinoids in Food Using Ultra High Performance Liquid Chromatography. *Food Science and Biotechnology.* 19(4). 1005-1009.
18. Higashiguchi, F., Nakamura, H., Hayashi, H., Kometani, T. 2006. Purification and structure determination of glucosides of capsaicin and

- dihydrocapsaicin from variol *Capsicum* fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54. 5948-5953.
19. Huang, XF., Xue, JY., Jiang, AQ., Zhu, HL. 2013. Capsaicin and Its Analogues: Structure-Activity relationship Study. Biochemistry & Molecular Biology. 20(12). 2661-2672.
  20. Cheers, G. 2003. Botanika. Slovart. 1020 s. ISBN: 978-80-7209-936-8.
  21. Jeon, G., Choi, Y., Lee, S., Kim, Y., Oh, M., Jeong, H., Lee, J. 2012. Antioxidant and Antiproliferative Properties of Hot Pepper (*Capsicum annuum L.*) Seeds. Journal of Food Biochemistry. 36(5). 595-603.
  22. Kachoosangi, R. T., Wildgoose, G. G., Compton, R. G. 2008. Carbon nanotube-based electrochemical sensors for quantifying the 'heat' of chilli peppers: the adsorptive stripping voltammetric determination of capsaicin. Analyst. 133. 888-895.
  23. Kang, J. H., Kim, Ch-S., Han, I-S., Kawada, T., Yu, R. 2007. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein repase from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissues macrophages. FEBS Letters. 581. 4389-4396.
  24. Krishna, de A. 2003. *Capsicum: the genus Capsicum*. London: Taylor and Francis. 275 p. ISBN: 0-415-29991-8.
  25. Lapčík, O., Opletal, L., Moravcová, J., Čopíková, J., Drašar, P. 2011. Přírodní látky a jejich deriváty chuti pálivé. Chemické listy. 105. 452-457.
  26. Laskaridou-Monnerville, A. 1999. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin by micellar electokinetic capillary chromatography and its application to various species of *Capsicum*, Solanaceae. Journal of Chromatography. 838. 293-302.
  27. Lin, Ch-H., Lu, W-Ch., Wang, Ch-W., Chan, Y-Ch., Chen, M-K. 2013. Capsaicin induces cell cycle arrest and apoptosis in human KB cancer cells. Complementary and Alternative Medicine. 13. 46.
  28. Liu, L., Chen, X., Liu, J., Deng, X., Duan, W., Tan, S. 2010. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum anuum* and related products by capillary electrophoresis with a mixed surfactant system. Food Chemistry. 119. 1228-1232.

29. Lo, Y-Ch., Yang, Y-Ch., Wu, I-Ch., Kuo, F-Ch., Liu, Ch-M., Wang, H-W., Kuo, Ch-H., Wu, J-Y., WU, D-Ch. 2005. Capsaicin-induced cell death in a human gastric adenocarcinoma cell line. *World Journal of Gastroenterology*. 11(40). 6254-6257.
30. Lopez-Hernandez, J., Oruna-Concha, M. J., Simal-Lozano, J., Gonzales-Castro, M. j., Vazquez-Blanco, M. E., 1996. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in cayenne pepper and padron peppers by HPLC. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 92. 393-395.
31. Materska, M., Piacente, S., Stochmal, A., Pizza, C., Oleszek, W., Perucka, I. 2003. Isolation and Structure elucidation of flavonoidy and phenolic acid glycosides from perikarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. *Phytochemistry*. 63. 893-898.
32. Mohammad, R., Ahmad, M., Heng, L. Y. 2014. Chilli hotness determination based on optical capsaicin biosensor using stacked immobilisation technique. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 190. 593-600.
33. Moravcová, J. 2006. *Biologicky aktivní přírodní látky*, VŠCHT Praha, Praha. 108 s.
34. Mueller-Seitz, E., Hiepler, C., Petz, M. 2008. Chili pepper fruits: content and pattern of capsaicinoids in single fruits of different ages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56. 12114-12121.
35. Musfiroh, I., Mutakin, M., Angelina, T., Muchtaridi, M. 2013. Capsaicin Level of Various *Capsicum* Fruits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5. 248-251.
36. Nielsen, T. H., Skjærbæ, H. C., Karlsen, P. 2006. Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Physiologia Plantarum*. 82(2). 311-319.
37. Nováková, L., Douša, M. 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I*. Europrint. Praha. 292 s. ISBN: 978-80-260-4243-3
38. Nwoken, C. O., Agbaji, E.B., Kagbu, J.A., Ekanem, E.J. 2010. Determination of Capsaicin Content and Pungency Level of Five Different Peppers Grown in Nigeria. *New Yourk Science Journal*. 3(9). 17-21.
39. Pandhair, V., Sharma, S. 2008. Accumulation of capsaicin in seed, perikarp and placenta of *Capsicum annuum* L. fruit. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*. 17(1). 23-27.

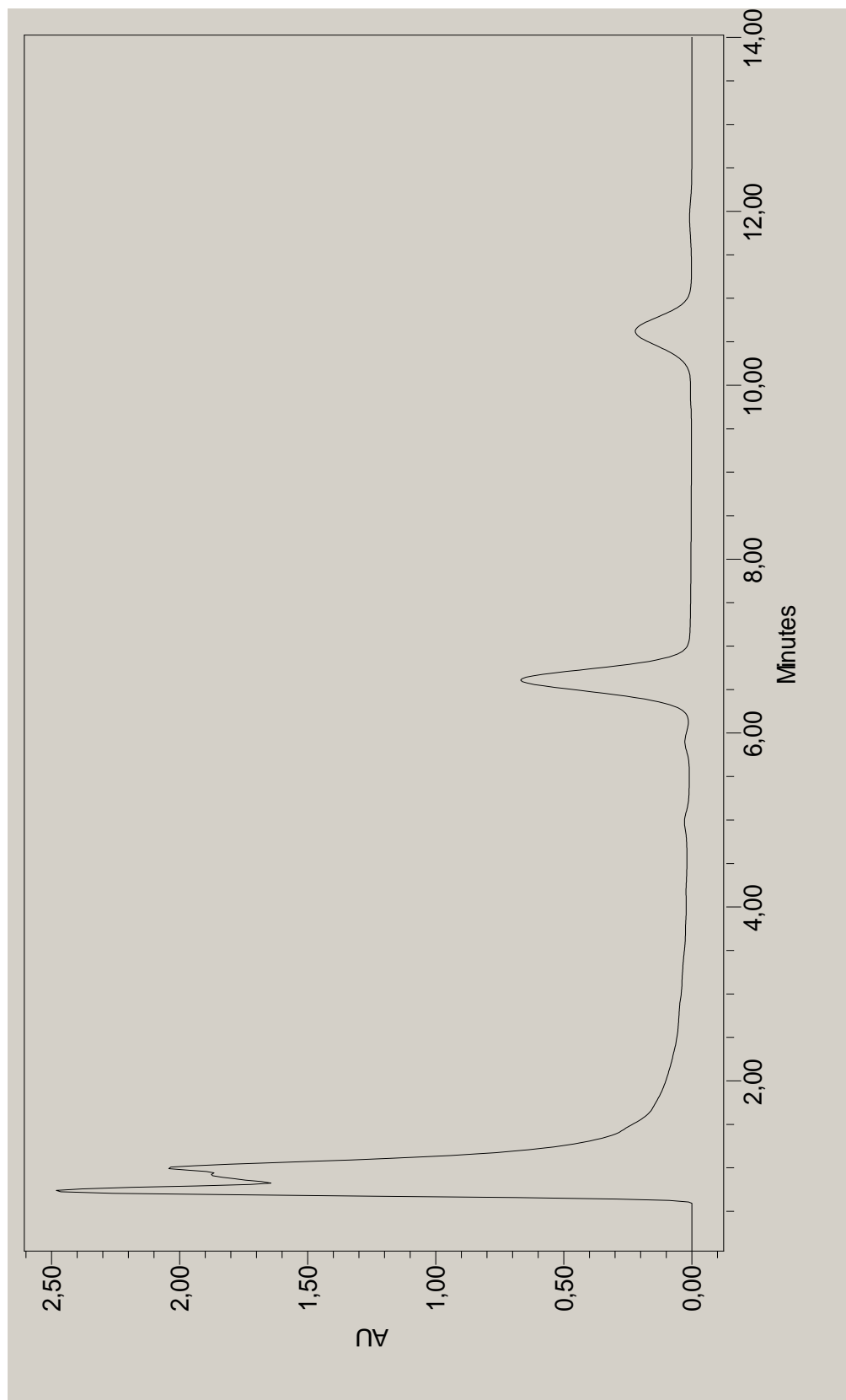
40. Pankar, D. S., Magar, N.G. 1977. New method for the determination of capsaicin by using multi-band thin layer chromatography. *Journal of Chromatography*. 144. 149-152.
41. Parrish, M., 1996. Liquid chromatographic method of determining capsaicinoids in capsicums and their extractives: Collaborative study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International*. 79 (3), 738-745.
42. Pavela, P. 2006. *Rostlinné insekticidy: hubíme hmyz bez chemie*. Praha. Grada Publishing. 80 s. ISBN: 80-247-1019-6.
43. Peña-Alvarez, A. Ramirez-Maya, E., Alvarado-Suarez, L. A. 2009. Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1216. 2843-2847.
44. Reilly, C., Crouch, D., Yost, G. 2001. Quantitative analysis of capsaicinoids in fresh peppers, oleoresin *capsicum* and pepper spray products. *Journal of Forensic Sciences*. 46. 502-509.
45. Reyes-Escogido, M. de., Gonzalez - Mondragon, E. G., Vayquey - Tzompanzti, E. 2011. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules*. 16. 1253-1270.
46. Sanatombi, K., Sharma, G. J. 2008. Capsaicin Content and Pungency of Different *Capsicum spp.* Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*. 36. 89-90.
47. Sasahara, I., Furuhashi, Y., Iwasaki, Y., Inoue, N., Sato, H., Watanabe, T., Takahashi, M. 2010. Assessment of the Biological Similarity of Three Capsaicin Analogs (Capsinoids) Found in Non-Pungent Chili Pepper (CH-19 Sweet) Fruits. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 74(2). 274-278.
48. Simpson, S. L., Quirino, J. P., Terabe, S. 2008. On-line sample preconcentration in capillary electrophoresis: Fundamentals and applications. *Journal of Chromatography A*. 1184. 504-541.
49. Scientific Committee on Food. 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on Capsaicin. European Commission: Health & Consumer Protection Directorate-General. 9 p.
50. Spanyol, P., Blazovich, M. 1969. A thin-layer chromatographic method for the determination of capsaicin in group paprika. *Analyst*. 94. 1084-1089.

51. Srinivas, N. R. 2009. LC/MS/MS analysis of capsaicin using multiple transition pairs-some view points to ponder. *Biomedical Chromatography*. 23. 1129-1130.
52. Srinivasan, K. 2014. Antioxidant Potential of Spices and Their Active Constituents. *Food Science and Technology*. 54(3). 352-372.
53. Šupálková, V., Stavělíková, H., Křížková, S., Adam, V., Horna, A., Havel, L., Ryant, P., Babula, P., Kizek, R. 2007. Study of Capsaicin Content in Various Parts of Pepper Fruit by Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Acta Chimica Slovenica*. 54. 55-59.
54. Šupálková, V., Stavělíková, H., Křížková, S., Mikelová, R., Horna, A., Havel, L., Kizek, R. 2006. Analýza kapsaicinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí. Sborník příspěvků VI. Pracovního setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků. Masarykova univerzita. Brno. 100 – 101. ISBN: 80-210-3943-4.
55. Špaldon, E. 1948. Koreninová paprika: jej botanické vlastnosti a pestovanie, chemické slozenie a technologické spracovanie. Bratislava: Povereníctvo pôľnohospodárstva a pozemkovej reformy. 250 s.
56. Thomas, B., Schreiber, A. A., Weisskopf, C. P., 1998. Simple method for quantitation of capsaicinoids in peppers using capillary gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46. 2655-2663.
57. Todd, P., Bensinger, M., Biftu, T. 1977. Determination of pungency due to *Capsicum* by Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*. 42. 660-665.
58. Usman, M. G., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Malek, M. A., Latif, M. A. 2014. Capsaicin and Dihydrocapsaicin Determination in Chili Pepper Genotypes Using Ultra-Fast Liquid Chromatography. *Molecules*. 19. 6474-6488.
59. Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin II. OSSIS*. Tábor. 3. vydání. 644 s. ISBN: 978-80-86659-16-9
60. Valíček, P. 2005. *Koření a jeho léčivé účinky*. Start. Benešov. 135 s. ISBN: 80-86231-34-8
61. Weaver, K. M., Awde, D. B. 1986. Rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of very low capsaicin levels. *Journal of Chromatography*. 367. 438-442.



62. Winter, J., Bevan, S., Campbell, E. A. 1995. Capsaicin and pain mechanism. *British Journal of Anaesthesia*. 75. 157-168.
63. Yu, H. N., Wang, Z.C., Shen, S.R., Shan, W.G. 2013. Effects of Capsaicin and Its Analogs on the Growth of Gastric Cancer Cells and Their Structure-activity Relationship In Vitro. *Food Science and Technology Research*. 19(5). 865-873.
64. Zeyrek, F. Y., OGuy, E. 2005. In vitro activity of capsaicin against *Helicobacter pylori*. *Annals of Microbiology*. 55(2). 125-127.

## 17. Přílohová část



Příloha 1: Chromatogram vz. č. 43 - Habanero: 1 – kapsaicin, 2 - dihydrokapsaicin

## **DOTAZNÍK**

PROSÍM O ZODPOVĚZENÍ NÁSLEDUJÍCÍCH OTÁZEK.

Z ODPOVĚDÍ NÁSLEDNĚ BUDE VYTVOŘEN STATISTICKÝ VÝSTUP, KTERÝ BUDE POUŽIT V MÉ DIPLOMOVÉ PRÁCI.

Předem děkuji za Váš čas☺

**1) Máte rádi pálivá jídla (ANO – NE)?**

.....

Pokud ano, odpovídejte prosím dále, pokud ne, další otázky můžete ignorovat.

**2) Oblíbená úroveň pálivosti (např. mírně pálivé – středně pálivé – hodně pálivé...)**

.....

**3) Používáte k dosažení pálivosti chilli, popř. pálivou papriku (ať už sušené nebo ve formě různých pálivých omáček; pokud ne, uveďte jiné způsoby)?**

.....

**4) Jak průměrně často pálivá jídla konzumujete (např. 1x za měsíc – 1x za týden – každý den...)?**

.....