

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Vliv kombinace záhřevu a přídavku silic
do jablečno-řepného moštu na jeho antioxidační aktivitu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Jan Jiruška

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv kombinace záhřevu a přídatku silic do jablečno-řepného moštu na jeho antioxidační aktivitu" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11.4.2018

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval doc. Ing. Pavlu Kloučkovi, Ph.D. a Ing. Janu Tauchenovi, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce a za pomoc při laboratorních měřeních, věcné připomínky při psaní této diplomové práce a odborné konzultace s nimi spojenými.

Vliv kombinace záhřevu a přídatku silic do jablečno-řepného moštu na jeho antioxidační aktivitu

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá problematikou využití silic z aromatických rostlin pro zlepšení antioxidačního a fenolického profilu potravin. V první části literární rešerše jsou popsány látky, které svým složením a svými vlastnostmi vytvářejí, anebo jinak ovlivňují jak obsah fenolických látek v potravinách, tak i jejich antioxidační schopnosti. V další části jsou popsány konzervační metody potravin, a dále rozdělení, vlastnosti a použití rostlinných silic. Poslední část je zaměřena na antioxidanty, oxidační stres a negativní vliv volných radikálů na lidské zdraví.

V experimentu byl použit jablečno-řepný mošt, který byl ošetřen různými způsoby, které zahrnovaly rozdílné pasterační teploty (64, 60, 54 °C po dobu deseti minut), přidání dvou silic (ze skořice a citrónové trávy) v různých koncentracích (256, 128, 64 µg/mL) a všech jejich kombinací. V těchto variantách byl měřen celkový obsah fenolických látek pomocí spektrofotometrické metody s použitím Folin-Ciocalteu činidla, celková antioxidační aktivita metodou DPPH a vliv teploty na degradaci betaninu pomocí spektrofotometrického stanovení při vlnové délce 537 nm.

Ze statistických výsledků vyplynulo, že teplota, typ silice i doba skladování měly vliv na obsah fenolických látek, antioxidační aktivitu i obsah betaninu. Celkový obsah fenolických látek byl nejvyšší u tepelně neošetřených kontrolních variant, následovaly vzorky se silicí ze skořice a nejméně fenolických látek bylo obsaženo ve vzorcích se silicí z citrónové trávy. Kontrolní varianty měly stejnou antioxidační aktivitu jako vzorky se skořicovou silicí, ale stejně jako u obsahu fenolických látek hrála největší roli teplota, jelikož mezi tepelně neošetřenými vzorky byl pozorován statisticky významný rozdíl v porovnání se všemi testovanými pasteračními teplotami. Co se týče experimentu, ve kterém byla sledována degradace betaninu, byla potvrzena teorie, že teplota má největší vliv na jeho stabilitu a pokud byla do tepelně ošetřených vzorků přidána silice z citrónové trávy, v těchto vzorcích betanin degradoval nejvíce.

Klíčová slova: šťáva, mošt, silice, pasterace, DPPH, TPC

Influence of combined temperature and essential oils treatment on apple-red beet juice antioxidant activity

Summary

This diploma thesis deals with the use of essential oils from aromatic herbs to improve the antioxidant and phenolic profile of the food. In the first part of the review, there are described substances that by their composition and their properties create or otherwise affect both, the content of phenolic substances in food and also their antioxidant ability. In the next part there are described preservation methods of the food and classification, properties and use of essential oils. The last part is focused on antioxidants, oxidative stress and negative effects of free radicals on human health.

Apple-beetroot juice was used in the experiment. It was treated by different methods, including different pasteurization temperatures (64, 60, 54 ° C for ten minutes), using two different essential oils, cinnamon and lemon grass and their various concentrations (256, 128, 64 µg/mL) and all their combinations. In these variants, the total content of phenolic compounds was measured by the spectrophotometric method using the Folin-Ciocalteu reagent, total antioxidant activity by the DPPH method and the effect of the temperature on the degradation of the betanine by spectrophotometric determination at a wavelength of 537 nm.

Statistical results showed that temperature, type of essential oil and time of storage had a significant effect on phenolic content, antioxidant activity and betanine content. The total phenolic content was the highest in the thermally untreated control variants, followed by samples containing cinnamon essential oil and the least phenolic contents were contained in samples using essential oil of lemon grass. The control variants had the same antioxidant activity as samples containing cinnamon essential oil, but again the temperature had a significant role, as in the case of total phenolic content, because there was observed statistically significant difference between the heat-untreated samples and samples treated with all of tested pasteurisation temperatures. Regarding the betanine degradation experiment, the theory that temperature had the greatest effect on its stability was confirmed. If lemongrass essential oil was added to the heat-treated samples, betanine had degraded the most.

Keywords: juice, essential oils, pasteurization, DPPH, TPC

Obsah

| | | |
|------------|----------------------------------|-----------|
| 1 | Úvod | 1 |
| 2 | Cíl práce | 3 |
| 3 | Literární rešerše | 4 |
| 3.1 | Polyfenolické látky | 4 |
| 3.1.1 | Fenolické kyseliny | 4 |
| 3.1.2 | Flavonoidy | 6 |
| 3.1.3 | Fenylpropeny | 7 |
| 3.1.4 | Stilbeny | 8 |
| 3.1.5 | Lignany | 8 |
| 3.2 | Terpeny | 9 |
| 3.2.1.1 | Monoterpeny (C ₁₀) | 9 |
| 3.2.1.2 | Seskviterpeny (C ₁₅) | 10 |
| 3.2.1.3 | Tetraterpeny (C ₄₀) | 10 |
| 3.3 | Betalainy | 11 |
| 3.3.1 | Betaxanthiny | 12 |
| 3.3.2 | Betakyaniny a betanin | 12 |
| 3.3.2.1 | Vliv pH | 13 |
| 3.3.2.2 | Vliv teploty | 13 |
| 3.3.2.3 | Vliv světla a vzduchu | 14 |
| 3.4 | Konzervace potravin | 14 |
| 3.4.1 | Tepelné ošetření | 15 |
| 3.4.2 | Ošetření chladem | 15 |
| 3.4.3 | Aktivita vody | 16 |
| 3.4.4 | Organické kyseliny a pH | 16 |
| 3.4.5 | Siřičitany, dusitany a dusičnany | 17 |
| 3.4.6 | Konzervace ochrannou atmosférou | 17 |
| 3.4.7 | Vysoký tlak | 18 |
| 3.4.8 | Nežádoucí účinky konzervantů | 18 |
| 3.4.9 | Přírodní rostlinná barviva | 19 |
| 3.4.10 | Silice | 20 |
| 3.4.10.1 | Terpeny | 21 |
| 3.4.10.2 | Terpenoidy | 21 |
| 3.4.10.3 | Fenylpropeny | 21 |
| 3.4.10.4 | Ostatní aktivní složky silic | 22 |
| 3.4.10.5 | Biologické účinky | 22 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.5 | Volné radikály a antioxidanty | 23 |
| 3.6 | Oxidace a oxidační stres | 24 |
| 3.6.1.1 | Atheroskleróza | 25 |
| 3.6.1.2 | Diabetes mellitus..... | 25 |
| 3.6.1.3 | Rakovina | 26 |
| 3.6.1.4 | Alzheimerova choroba | 26 |
| 3.6.1.5 | Parkinsonova choroba | 27 |
| 3.7 | Jablečno-řepná šťáva | 27 |
| 3.7.1 | Řepná složka | 27 |
| 3.7.2 | Jablečná složka | 28 |
| 3.7.2.1 | Polyfenoly jablek | 28 |
| 4 | Materiál a metody | 30 |
| 4.1 | Mošty | 30 |
| 4.2 | Chemikálie | 30 |
| 4.3 | Příprava vzorků | 30 |
| 4.4 | Celkový obsah fenolických látek a antioxidační aktivita | 32 |
| 4.4.1 | Stanovení obsahu fenolických látek..... | 32 |
| 4.4.2 | Antioxidační aktivita..... | 33 |
| 4.5 | Degradace betaninu | 35 |
| 4.6 | Statistická analýza | 35 |
| 5 | Výsledky | 36 |
| 5.1 | Celkový obsah fenolických látek | 36 |
| 5.2 | Antioxidační aktivita | 40 |
| 5.3 | Degradace betaninu | 44 |
| 6 | Diskuze | 46 |
| 6.1 | Celkový obsah fenolických látek | 46 |
| 6.2 | Antioxidační aktivita | 47 |
| 6.3 | Degradace betaninu | 48 |
| 7 | Závěr | 50 |
| 8 | Seznam použité literatury | 52 |
| 9 | Seznam použitých obrázků a grafů | 69 |

1 Úvod

Produkty s antioxidační aktivitou získávají čím dál větší popularitu, jelikož dokáží prodloužit skladování potravin, a to díky zlepšení stability tuků a olejů bohatých na polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), zpomalení procesu stárnutí a při léčbě lidských onemocnění jako je atheroskleróza a rakovina (Jacob, 1995; Baratta et al., 1998).

Existuje mnoho způsobů konzervace potravin a nápojů. Co se týče ovocných nápojů, velmi často se používá tepelné ošetření, které s sebou nese negativní ovlivnění konečného množství zdraví prospěšných látek. Mnoho těchto látek je často teplotně labilních a v průběhu ošetření se zničí (Beatrice and Yousef, 2002). Nicméně, konzervace se v první řadě používá pro zpomalení nebo zamezení mikrobiálního růstu a tím pomáhá předcházet vypuknutí chorob spojených s potravinami (Gould, 1996; Prokopov and Tanchev, 2007). Proto se vyvíjejí různé metody, jak jejich degradaci a rozkladu co nejvíce zabránit. Přímou se nabízí metoda snížením teploty záhřevu s kombinací silic. Silice jsou sekundární metabolity rostlin, které je využívají zvláště pro svoji ochranu. Mají antimikrobiální, antiparazitické, antimykotické a antioxidační vlastnosti. Ačkoliv je potravinářský průmysl používá hlavně kvůli jejich vůni, můžeme je zařadit jako alternativu k běžně používaným konzervantům (Hyldgaard et al., 2012). Dají se přidávat nejen do potravin, ale i do nápojů.

Ovocné šťávy či mošty jsou velmi oblíbené produkty potravinářského průmyslu a v posledních letech se čím dál více objevují tendence zlepšovat jejich složení, ať už se jedná o zdraví prospěšnou nebo chuťovou stránku. Mezi nejznámější patří pomerančová nebo jablečná šťáva. Mezi výše zmiňované snahy o zlepšování jejich složení se dají zařadit různé kombinace ovocných šťáv se zeleninovými. V konkrétním případě této diplomové práce tedy kombinace jablek a červené řepy. Jablka obsahují mnoho polyfenolických sloučenin a červená řepa je známá svým vysokým a důležitým zdrojem betalainů, resp. betaninu. Betalainy mají antioxidační a antiradikálové vlastnosti (Czapski et al., 2009). Je dokázáno, že pravidelná konzumace rostlinných fenolů působí proti vzniku kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění a má hepatoprotektivní a antikariogenní účinek (Süli et al., 2014). Díky těmto zmíněným obsahovým složkám je jablečno-řepný mošt poměrně hodně populární, ale v současnosti pro něj není vhodný konzervační prostředek, který by ve vysoké míře ochránil jeho zdraví prospěšné látky. Stabilitu betalainů, zvláště pak betaninu, v průběhu výroby a skladování ovlivňuje několik faktorů, mezi které lze zařadit teplotu, pH, světlo a dostupnost kyslíku (Von Elbe, 1974).

Z výše zmíněných důvodů jsme v této práci testovali snížené konzervační teploty v kombinaci s různými koncentracemi rostlinných silic. Nížší teploty by měli snížit úbytek zdraví prospěšných látek a v kombinaci se silicemi by se mohl zlepšit antioxidační i polyfenolický profil moštu.

Praktická část této diplomové práce je věnována stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu fenolických látek různých variant, připravených z jablečno-řepného moštu. Další měření je zaměřeno na degradaci betaninu v průběhu skladování a vliv teploty na jeho stabilitu. Výsledky těchto stanovení mohou posloužit jako podklad pro další výzkum v oblasti konzervace potravin.

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je změřit a porovnat antioxidační aktivitu a celkový obsah fenolických látek v jablečno-řepném moštu ošetřeném různými způsoby, které zahrnují v prvním případě pasteraci rozdílnými teplotami a v dalším případě ošetření nízkou pasterační teplotou v kombinaci s přidáním rostlinných silic za účelem dosažení stejného konzervačního účinku. Dále také porovnání naměřených hodnot s ostatními ovocnými mošty.

Hypotéza: Jablečno-řepný mošt ošetřený nižší pasterační teplotou s přidáním silic bude vykazovat vyšší antioxidační aktivitu i celkový obsah fenolických látek.

3 Literární rešerše

3.1 Polyfenolické látky

Polyfenoly jsou cennými mikronutrienty v naší stravě a objevují se důkazy o jejich úloze v prevenci degenerativních onemocnění jako je rakovina a kardiovaskulární onemocnění. Zdravotní účinky polyfenolů závisí na spotřebovaném množství a jejich biologické dostupnosti (Manach et al., 2004). Představují početnou a rozšířenou skupinu látek v rostlinné říši. Polyfenoly jsou produkty šikimátové a polyketidové dráhy, které jsou využívány mikroorganismy a rostlinami, nikoli však zvířaty (Dewick, 2009). Přírodní polyfenoly se mohou vyskytovat ve formě jednoduchých molekul jako jsou fenolické kyseliny, až po vysoce polymerované sloučeniny, jako jsou taniny (Bravo, 1998).

Hlavní třídy polyfenolů jsou rozděleny podle povahy jejich uhlíkového skeletu: fenolické kyseliny, flavonoidy, stilbeny, lignany, kumariny a flavonolignany (Scalbert and Williamson, 2000). Jednoduché fenolické kyseliny a flavonoidy jsou široce rozšířeny v celé rostlinné říši (Crozier et al., 2009). Výše zmíněné skupiny polyfenolů jsou vnímány jako zdraví prospěšné látky (Manach et al., 2004), ale zároveň mohou být některé polyfenoly toxické a mutagenní (Duthie et al., 2003). Například přípravky obsahující některé kumariny se používaly jako příchutě pro lidskou výživu, stejně jako při léčení angiologických onemocněních, ale je důležité zmínit, že existují zprávy o toxických, a dokonce i karcinogenních účincích kumarinů u zvířat (Endell and Seidel, 1978). Mezi furanokumariny patří také psoraleny, známé svými fotosenzitizačními schopnostmi, protože jejich planární struktura jim umožňuje interkalaci (vmezeření) do DNA a inhibuje její replikaci (Lautié et al., 2013). Rostliny obsahující psoraleny byly použity interně i externě k podpoře pigmentace a opalování pokožky. Bergamotový olej může obsahovat až 5 % bergaptenu a často se používá v přípravcích na opalování. Psoralen, díky rozšířenému chromoforu, absorbuje blízké UV záření a umožňuje tomuto záření stimulovat tvorbu melaninových pigmentů (Dewick, 2009).

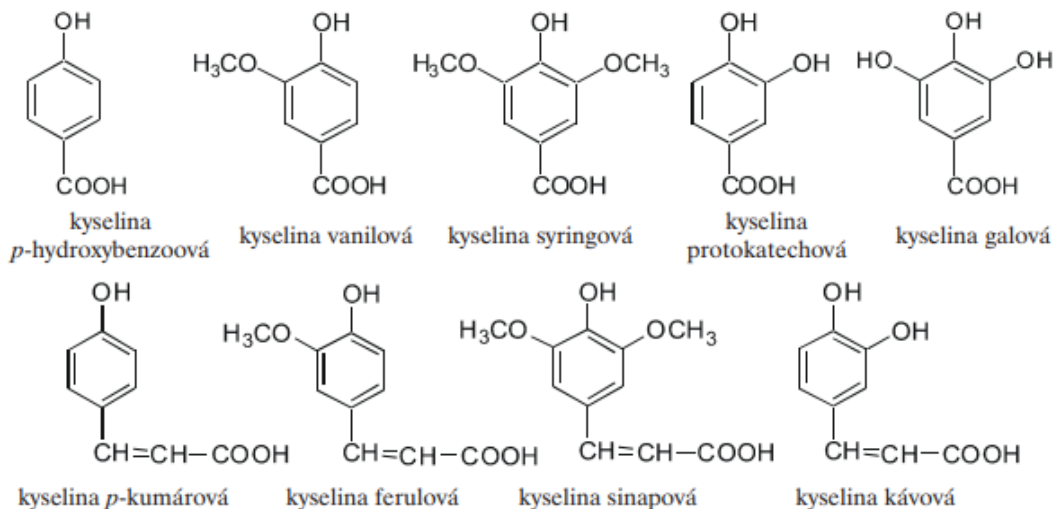
3.1.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny (Obrázek 1) se dělí na dvě třídy: deriváty kyseliny hydroxybenzoové a deriváty kyseliny hydroxyskořicové. Obsah derivátů kyseliny hydroxybenzoové je v jedlých rostlinách všeobecně velmi nízký, s výjimkou některých druhů červeného ovoce (především brusinek), černé ředkvičky a cibule (Shahidi and Naczka, 1995). Významným derivátem kyseliny benzoové je například kyselina gallová (GA), která je z této skupiny polyfenolů asi

nejvíce zastoupena v potravinách (Süli et al., 2014). GA vykazuje nejen antioxidační vlastnosti, ale také antialergickou, protizánětlivou, antimutagenní a antikarcinogenní aktivitu. Kromě toho byly deriváty GA nalezeny v mnoha fytolécích s různými biologickými a farmaceutickými účinky, včetně schopnosti zachytávání volných radikálů, indukce apoptózy rakovinných buněk a ochranu buněk před poškozením vyvolaným ozářením (Cirillo et al., 2010). Dalším derivátem kyseliny hydroxybenzoové je kyselina protokatechová (3,4-dihydroxybenzoová kyselina; PCA) (Süli et al., 2014). Bylo prokázáno, že PCA vykazuje antioxidační, protizánětlivé, antihyperglykemické a neuroprotektivní účinky. Dále se jeví, že PCA má chemopreventivní potenciál, protože *in vitro* inhibuje chemickou karcinogenezi a vykazuje pro-apoptické a antiproliferační účinky v různých tkáních (Masella et al., 2012).

Deriváty kyseliny hydroxykořicové se v rostlinách nacházejí častěji než deriváty kyseliny benzoové (Süli et al., 2014). Byly identifikovány v mnohých semenech olejnin (Schmidt et al., 2002). Patří sem kyselina *p*-kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová a kyselina sinapová (Süli et al., 2014). Nacházejí se v rostlinách ve volné formě a v řadě esterifikovaných formách, například s kyselinou chinovou, jako je kyselina chlorogenová (5-*O*-caffeoylchinová kys.), s glukózou jako s 1-*O*-sinapoylglukóza, a s cholinem v sinapinu (Dewick, 2009). Kyselina syringová, ferulová a vanilová se nacházejí v bavlníkových a podzemnicových semenech nebo v sójové moučce. Kyselina sinapová dominuje v řepkových semenech, kyselina kávová spolu s kyselinou chlorogenovou jsou přítomné v slunečnicových semenech a v rajčatech, kyselina ferulová se také nachází v obilninách, zelenině a je jednou z důležitých antioxidačních sloučenin v pivě (Schmidt et al., 2002), a v neposlední řadě do této skupiny patří sinapin, který se nachází v semenách olejnin (Huang et al., 2011). Za zmínku stojí také kyselina rosmarinová, ester kávové kyseliny s kyselinou 2-hydroxy-3-(3,4-dihydroxyfenyl)-propionovou, jelikož mají řadu zajímavých biologických aktivit, například antivirovou, antibakteriální, protizánětlivou a antioxidační aktivitu (Petersen and Simmonds, 2003). Už podle názvu je obsažena v rozmarýnu lékařském (*Rosmarinus officinalis*; Lamiaceae) a často se využívá jako aditivum v potravinách.

Obrázek 1 Chemická struktura fenolických kyselin (Schmidt et al., 2002).

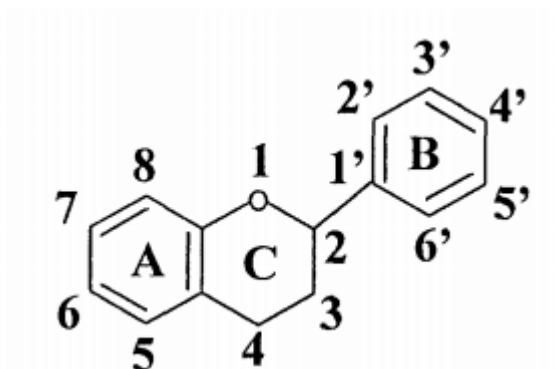


3.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou nízkomolekulární polyfenolické látky založené na flavanovém jádru. Obrázek 2 ukazuje základní strukturu flavonoidů a číslovací systém používaný k rozlišení pozic uhlíku kolem molekuly. Tři fenolové kruhy jsou označovány jako kruhy A, B a C. Vyskytují se přirozeně v ovoci, zelenině, ořechách, semenech, květech nebo v kůře a jsou nedílnou součástí lidské stravy (Cook and Samman, 1996). Působí v rostlinách jako antioxidanty, antimikrobiální látky, fotoreceptory, vizuální atraktory nebo jako odpuzující látky. Mnoho studií naznačuje, že flavonoidy vykazují biologické aktivity, včetně antialergických, antivirových, protizánětlivých a vazodilatačních účinků. Největší zájem se však věnuje antioxidační aktivitě flavonoidů, což je způsobeno jejich schopností omezovat tvorbu volných radikálů a pomáhání jejich vylučování (Pietta, 2000). Kromě svých antioxidačních vlastností, některé flavonoidy působí jako chelatační činidla a inhibují Fentonovu reakci vedenou superoxidem, která je důležitým zdrojem aktivních kyslíkových radikálů (Cook and Samman, 1996). Několik nedávných studií ukázalo, že v závislosti na struktuře, flavonoidy mohou být silnými inhibitory několika kináz zapojených do signálového přenosu, a to především proteinkináza C (PKC) a tyrosinkináza. Většina těchto účinků je zaměřena na ATP-vazebné místo kinázy, i když mohou existovat další dosud neznámé mechanismy. Proto byly přirozeně se vyskytující flavonoidy navrženy k provádění biologických účinků na buňky prostřednictvím inhibice těchto různých klíčových enzymů. Z těchto důvodů mohou být považovány za potenciální sloučeniny pro selektivní blokování signálních transdukčních cest a pro navrhování silnějších analogů pro použití při terapii proliferativních onemocnění (Agullo et al., 1997).

Mezi hlavní třídy flavonoidů patří flavonoly, flavony, flavanony, katechiny (nebo flavanoly), anthokyaniny, isoflavony a dihydroflavonoly (Cook and Samman, 1996).

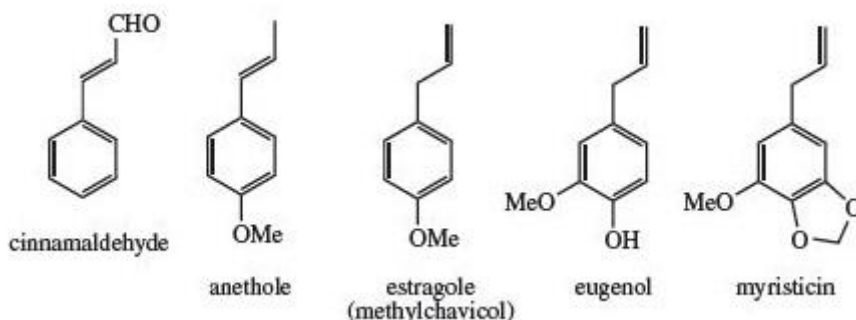
Obrázek 2 Základní struktura flavonoidů (Cook and Samman, 1996).



3.1.3 Fenypropeny

Fenypropeny patří pod různé skupiny organických sloučenin zvaných fenypropenoidy (Hyldgaard et al., 2012). Fenypropenoidy produkují rostliny pro ochranu před infekcemi, ultrafialovým ozářením, zraněními a býložravci. Jsou syntetizovány z aminokyseliny fenyalaninu, která je přeměněna na kyselinu skořicovou. Redukcí karboxylové skupiny přítomné v kyselině skořicové vznikne aldehyd a další redukcí se produkují monolignoly, mezi které patří právě fenypropeny, ze kterých jsou nejvíce známé silice eugenol, isoeugenol, vanillin, safrol, myristicin, estragol, cinnamaldehyd, anetol a safrol (De Cássia da Silveira e Sá et al., 2014). Většina z nich je ukázána na Obrázku 3. Komerční využití některých fenypropenů je popsáno v kapitole 3.4.10.3. Co se týče negativních účinků, myristicin, který je obsažen v muškátovém oříšku (*Myristica fragrans*; Myristicaceae), v historii způsoboval mírné halucinace, a to při požívání spadlých muškátových oříšků. Je pravděpodobné, že se v těle aminovou reakcí metabolizuje za vzniku derivátu podobném amfetaminu (Dewick, 2009).

Obrázek 3 Chemická struktura některých fenypropenů (Dewick, 2009).

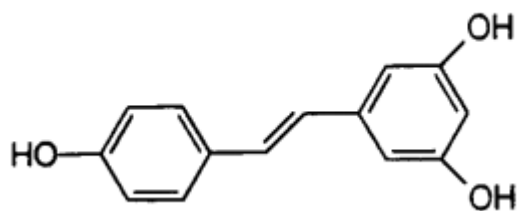


3.1.4 Stilbeny

Stilbeny jsou malá skupina fenypropenoidů charakterizovaná základním kamenem 1,2-difenylethylenem. Většina rostlinných stilbenů jsou deriváty základní jednotky trans-resveratrolu (3,5,4-trihydroxy-transstilben). Tyto sloučeniny mají četné pozitivní důsledky na odolnost rostlin vůči chorobám a na lidské zdraví (Chong et al., 2009).

Mezi stilbeny patří například resveratrol (Obrázek 4) a viniferiny. Jsou přítomné ve vinné révě jako konstitutivní (kořeny, stonky) a jako indukované látky (v listech a plodech), které působí jako fytoalexiny (nízkomolekulární, antimikrobiální látky) v obranných mechanismech vinné révy vůči některým patogenům (Bavaresco et al., 1999).

Obrázek 4 Struktura resveratrolu (Bavaresco et al., 1999).



3.1.5 Lignany

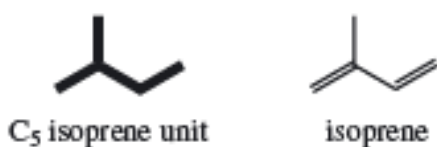
Lignany tvoří skupinu rostlinných fenolů, jejichž struktura je určena spojením dvou zbytků kyseliny skořicové nebo jejich biogenetických ekvivalentů (Ayres and Loike, 1990). Pravděpodobně v důsledku jejich rozmanitých struktur lignany vykazují širokou škálu biologických aktivit. Například existují důkazy, že konzumace potravin bohatých na lignany může snížit riziko vzniku některých forem rakoviny (Ward, 2000).

3.2 Terpeny

V současnosti je v literatuře popsáno přes 30 000 terpenů. Skelet terpenů tvoří zbytky 2-methylbutanu, které jsou častěji označovány jako isoprenové jednotky (Obrázek 5), $(C_5)_n$, z tohoto důvodu jsou terpeny také označovány jako isoprenoidy. V přírodě se terpeny vyskytují převážně jako uhlovodíky, alkoholy a jejich glykosidy, ethery, aldehydy, ketony, karboxylové kyseliny, estery a jsou složky některých esenciálních olejů (Breitmaier, 2006).

Terpeny jsou klasifikovány na hemiterpeny (C_5), monoterpeny (C_{10}), seskviterpeny (C_{15}), sesterterpeny (C_{25}), triterpeny (C_{30}) a tetraterpeny (C_{40}). Vyšší polymery se vyskytují v materiálech, jako je například kaučuk. Samotný isopren byl znám jako rozkladný produkt z různých přírodních cyklických uhlovodíků a byl navržen jako základní stavební blok pro tyto sloučeniny, označované isoprenoidy. Mnoho terpenů lze nalézt ve formě diastereoisomerů, jako například (-)-mentol a (+)-mentol. Diastereoisomery mají odlišné biologické (příklad v Tabulce 1), ale i organoleptické vlastnosti (Dewick, 2009).

Obrázek 5 Chemická struktura isoprenové jednotky (Dewick, 2009).



3.2.1.1 Monoterpeny (C_{10})

Monoterpeny představují skupinu přirozeně se vyskytujících organických sloučenin, jejichž základní struktura se skládá ze dvou navzájem propojených izoprenových jednotek. Jejich molekuly tvoří 90 % silic a mají velké množství rozmanitých struktur, které mají antimikrobiální, hypotenzní, protizánětlivé a antipruritické vlastnosti (Guimarães et al., 2012). Do monoterpenů patří například: citronelol (růžový olej), geraniol (pelargoniový olej), nerol (růžový olej), linalool (koriandrový olej), citronellal (citronelový olej), geranial (*E*-citral; citronová tráva), neral (*Z*-citral; citronová tráva). Některé oleje s těmito monoterpenovými složkami mají účinky proti nadýmání, používají se v aromaterapii, nebo dokonce jako složky v repelentech proti hmyzu (Dewick, 2009). V Tabulce 1 jsou uvedeny příklady některých monoterpenů a jejich účinků na kardiovaskulární systém.

Tabulka 1 Účinky některých monoterpenů na kardiovaskulární systém (Santos et al., 2011).

| Monoterpen | Typ studie | Tkáň / Druh | Účinky |
|--------------|-----------------|--|---|
| Karvakrol | <i>In vitro</i> | Izolované psí a lidské vetrikulární kardiomyocyty | Srdeční arytmie |
| | <i>In vivo</i> | Anestetizovaná krysa | Snížená srdeční frekvence |
| | <i>In vitro</i> | Izolovaná krysí aorta | Vazorelaxace |
| Citronellol | <i>In vivo</i> | Normotenzní krysa | Hypotenze |
| | <i>In vitro</i> | Normotenzní krysa | Hypotenze a tachykardie |
| Limonene | <i>In vivo</i> | Krysa | Snížení a prevence kardiovaskulárních poranění způsobených plicní hypertenzí |
| (+)-Linalool | <i>In vivo</i> | Člověk (inhalace) | Stimulant kardiovaskulárního systému |
| (-)-Linalool | <i>In vivo</i> | Člověk (inhalace) | Tlumící účinek na kardiovaskulární systém |
| Mentol | <i>In vitro</i> | Cévy lidského předloktí a krysí tepny | Vazorelaxace |

3.2.1.2 Seskviterpeny (C₁₅)

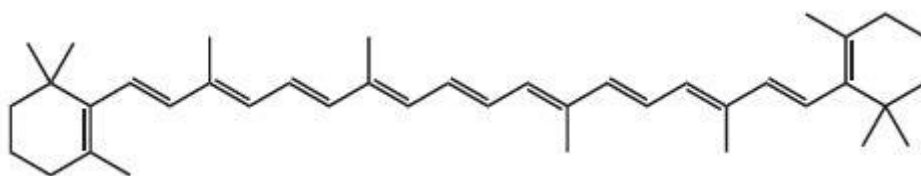
Seskviterpeny jsou tvořeny ze tří isoprenoidových jednotek. Terminologie vychází z latinské předpony *sesqui*: „jeden a půlkrát“. Patří sem například γ -bisabolen, zingiberen, γ -seskvifelandren, kde všechny tři tvoří aroma zázvoru (*Zingiber officinale*; Zingiberaceae), nebo dále α -bisabolol, který je hlavní složkou heřmánku (*Matricaria chamomilla*; Asteraceae) (Dewick, 2009).

3.2.1.3 Tetraterpeny (C₄₀)

Tetraterpeny jsou reprezentovány pouze jednou skupinou látek, karotenoidy, ikdyž je známo několik set přírodních strukturálních variant. Tyto sloučeniny hrají roli při fotosyntéze (Dewick, 2009), ale také se vyskytují v nefotosyntetizujících organismech, jako jsou eubakterie, archea, houby a zvířata, které obsahují karotenoidy především jako ochranu před

škodlivými reaktivními druhy kyslíku (Takaichi, 2013). Lykopen je charakteristický karotenoidní pigment ve zralých plodech rajčat (*Lycopersicon esculente*; Solanaceae). Oranžová barva mrkve (*Daucus carota*; Apiaceae) je způsobena β -karotenem (Obrázek 6), ačkoliv tato sloučenina je více rozšířena ve vyšších rostlinách. Mezi oxygenované karotenoidy neboli xantofyly patří například zeaxanthin, lutein a violaxanthin. Důležitými metabolity karotenoidů jsou vitamíny skupiny A (vitamin A₁, vitamin A₂). Bixin a kroketin jsou sloučeniny klasifikované jako apokarotenoidy. Velké množství (až 10 %) červeného pigmentu bixinu se vyskytuje v semenných obalech annatta (*Bixa orellana*; Bixaceae) (Dewick, 2009).

Obrázek 6 Chemická struktura β -karotenu (Dewick, 2009).

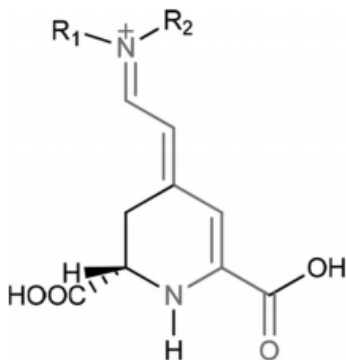


3.3 Betalainy

Betalainy jsou vodorozpustné pigmenty obsahující dusík, které jsou syntetizovány z aminokyseliny tyrosinu na dvě strukturální skupiny: červeno-fialové betacyaniny a žluto-oranžové betaxanthiny (Azeredo, 2009). Základní struktura betalainů je ukázána na Obrázku 7. Mají nízkou stabilitu, a to zejména při zahřívání a jejich skladování (Kazmierczak et al., 2016). Řadí se do třídy vodorozpustných dusíkatých pigmentů. Hromadí se v buněčných vakuolách rostlin, plodech a listech rostlin, které je syntetizují, hlavně v epidermálních nebo subepidermálních tkáních (Kujala et al., 2002). Z mnoha přírodních zdrojů, červená řepa (*Beta vulgaris* var. *vulgaris*) a opuncie (*Opuntia*) jsou jedinými potravinami obsahujícími tyto skupiny sloučenin (Jackman, Smith, 1996).

Betalainy vykazují mnoho funkcí (Tabulka 2), mezi které patří antioxidační aktivita, která zbavuje organismus volných radikálů. Jsou biodostupné pro lidský organismus díky tomu, že přechází z alimentárního traktu do krevního oběhu (Czapski et al., 2009). Antiradikálové vlastnosti betalainů se zvyšují s počtem hydroxylových a imino skupin (Cai et al., 2003).

Obrázek 7 Základní chemická struktura betalainů (Esatbeyoglu et al., 2015).



Tabulka 2 Potenciální zdravotní benefity potravin bohatých na betalainy (Esatbeyoglu et al., 2015).

| Potenciální zdravotní benefity |
|---|
| Likvidace volných radikálů reaktivních druhů kyslíku |
| Ochrana LDL proti oxidaci |
| Prevence poškození DNA |
| Indukce antioxidantů (např. glutathion peroxidáza) |
| Regulační aktivita genů |
| Protizánětlivá aktivita (např. inhibice cyklooxygenázy-2) |

3.3.1 Betaxanthiny

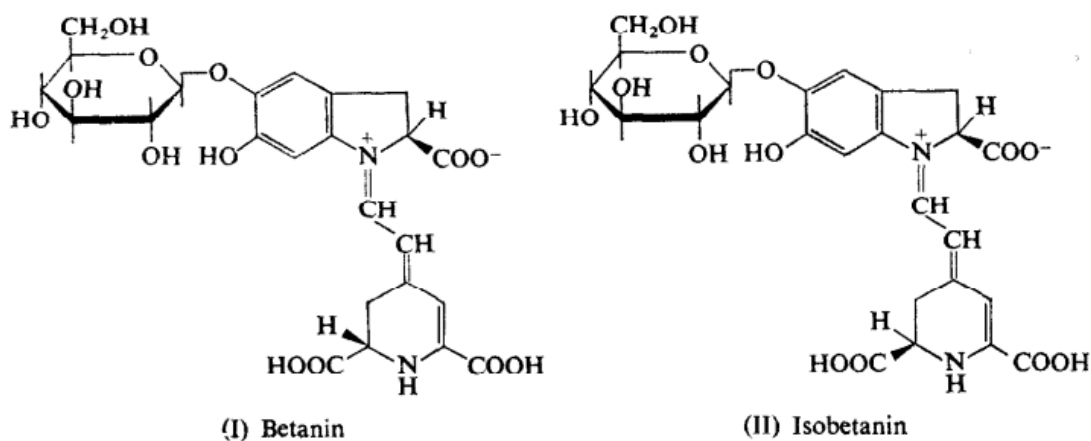
Betaxanthiny jsou konjugální produkty betalamové kyseliny s různými aminokyselinami nebo aminy. Mohou být použity jako prostředky zavádění esenciálních aminokyselin do potravin (Cai et al., 2001). Betaxanthiny mají elektroforetické vlastnosti podobné betakyaninům, ale vykazují viditelné absorpční maximum v rozmezí 474 až 486 nm. Patří mezi ně vulgaxantin I, vulgaxantin II, indikaxantin, miraxantin I nebo miraxantin II (Mabry and Dreiding, 1968).

3.3.2 Betakyaniny a betanin

Ačkoli betakyaniny pokrývají přibližně stejný rozsah barev jako antokyany, nebyly zkoumány tolik, pravděpodobně proto, že je jich v přírodě nedostatek. Avšak na rozdíl od antokyanů lze betakyaniny aplikovat na potraviny s nízkou kyselostí, neboť nejsou tak citlivé na hydrolytické štěpení jako antokyany (Azeredo et al., 2007). Betanin neboli betanidin-5-*O*- β -glukosid (Obrázek 8), a isobetanin jsou nejznámější betakyaniny. Májí fenolovou a cyklickou

aminovou skupinu. Obě tyto skupiny jsou velmi dobrým donorem elektronů a chovají se jako antioxidanty. Jsou hlavní složkou betalainů v červené řepě (Kanner et al., 2001). Betanin vzniká kondenzací kyseliny betalamové s cyklo-3,4-dihydroxyfenylalaninem (cykloDOPA). Je to zároveň jediný betalain, který je povolen pro používání v potravinářství (Gonçalves, 2012). Je povolen v definovaných množstvích v některých potravinách až do „*quantum satis*” (např. v klobáse) jako přírodní potravinářské barvivo s označením E162. Betanin se používá pro barvení mléčných výrobků jako jsou ovocné jogurty a zmrzlin, dále džemů, žvýkaček, omáček a polévek. Kromě toho se betanin používá v kosmetice a léčivech (Esatbeyoglu et al., 2015).

Obrázek 8 Struktura betaninu a isobetaninu (Piattelli and Impellizzeri, 1969).



3.3.2.1 Vliv pH

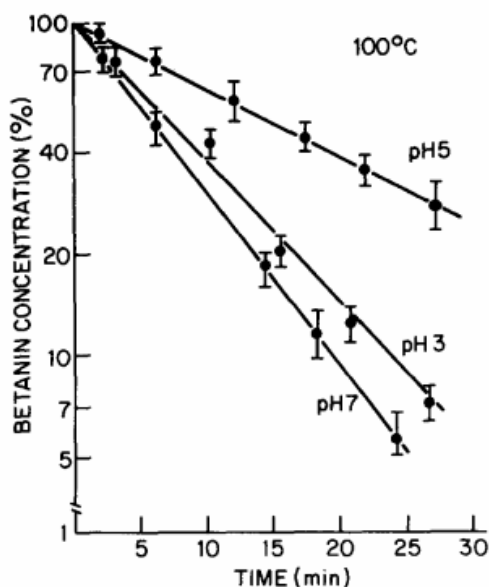
Betanin má v rozmezí pH 3,5–7,0 absorpční vrchol při 537 nm. Při tomto pH je betanin nejstabilnější. Při nižším pH než 3,5 se posunuje absorpční maximum na kratší vlnové délky a při vyšším pH než 7,0 se naopak jeho vlnové délky prodlužují (Havlíková et al., 1983). Hodnoty pH nad a pod těmito hodnotami byly spojeny také se značnými ztrátami betaninu. Většina potravin by však měla ležet v tomto nejstabilnějším rozmezí (von Elbe et al., 1974).

3.3.2.2 Vliv teploty

Teplota je nejdůležitějším faktorem pro stabilitu betalainů při zpracování a skladování potravin (Reshmi et al., 2012). Na Obrázku 9 je znázorněna degradace při 100 °C. Ukázalo se, že rychlost degradace při pH 5 je stále menší než při pH 3 a pH 7 (Von Elbe et al, 1974).

Zahřívání při 65 °C, 70 °C, 75 °C a 80 °C po dobu 20 a 30 minut neukázalo žádný statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$). Ve srovnání s nižšími teplotami byl sledován značný úbytek při teplotě 85 °C po dobu 30 minut (Wong and Siow, 2014).

Obrázek 9 Degradace betaninu při 100 °C a pH 3, 5 a 7 (von Elbe et al., 1974).



3.3.2.3 Vliv světla a vzduchu

Je dokázáno, že světlo i kyslík mají vliv na degradaci betacyaninů a tedy konkrétně i betaninu. Při pH 7 a teplotě 15 °C, přítomnost vzduchu zvýšila hodnoty degradace o 14,6 % a světlo o 15,6 %. Vzduch a světlo dohromady zvýšilo degradaci o 28,6 % (Harmer, 1980). To velmi dobře odpovídá pozorování, které provedl Vilece et al. (1955), že malé množství kyslíku (6 %) v horním prostoru plechovky sterilizovaného pyré z řepy bylo dostatečné stačilo k tomu, aby způsobilo hnědnutí v blízkosti povrchu.

3.4 Konzervace potravin

Používání metod zpracování, uchovávání a konzervování potravin pomáhá předcházet vypuknutí chorob spojených s potravinami, tj. výskytu onemocnění způsobených konzumací kontaminovaných potravin (Prokopov and Tanchev, 2007).

Konzervace je založena v první řadě na zpomalení nebo zamezení mikrobiálního růstu. Musí tedy fungovat prostřednictvím těch faktorů, které nejúčinněji ovlivňují růst a přežití mikroorganismů. Tyto faktory jsou chemické, fyzikální a mikrobiologické a závisí na povaze přítomných mikroorganismů (Gould, 1996).

Na základě působení mohou být hlavní techniky konzervace potravin kategorizovány jako: zpomalující nebo potlačující chemické kažení a růst mikroorganismů; přímo inaktivující bakterie, kvasinky, plísně a enzymy a zabráňující rekontaminaci před a po zpracování (Prokopov and Tanchev, 2007).

3.4.1 Tepelné ošetření

Existují různé stupně konzervace tepelným ošetřením, které nakonec diktují typ vyrobeného konečného výrobku. Používají se termíny pasterizace a sterilizace (Helman and Lund, 1992). Pasterizace, během níž se při dostačujících dobách a teplotách inaktivují formy vegetativních mikroorganismů a sterilizace, která v dostatečných časech a teplotách vede k inaktivaci bakteriálních spor, tvoří základy velkých a důležitých průmyslových odvětví na celém světě (Russell and Gould, 2003). Aby však byly tyto procesy účinné a zajistilo se usmrcení patogenních a nepatogenních mikroorganismů, musí být prováděny v kombinaci s přísnou teplotní a časovou kontrolou. Tyto faktory mohou zároveň způsobit tepelnou inaktivaci potravinářských enzymů a zničení některých složek potravin (Heldman and Lund, 1992). Nadměrné tepelné ošetření může dále způsobit nežádoucí denaturaci bílkovin, neenzymatické hnědnutí a ztrátu vitamínů a těkavých aromatických látek (Beatrice and Yousef, 2002). Nejvíce tepelně odolný patogen, vyskytující se v potravinách, zejména v těch, které jsou konzervovány a skladovány za anaerobních podmínek, je *Clostridium botulinum*. Je to proteolytický sporulující anaerob, který je schopen produkovat nejškodlivější známý toxin (botulotoxin), jenž v množství asi 10^{-6} – 10^{-8} g může způsobit smrt člověka (Prokopov and Tanchev, 2007). Existují rozdíly mezi druhy, mezi kmeny v rámci stejného druhu a mezi spory a vegetativními buňkami. Bakteriální spory jsou tepelně odolnější než vegetativní buňky stejného kmene. Některé jsou schopné přežít po dobu několika minut při 120 °C nebo několik hodin při 100 °C. Spory méně odolné proti teplu mohou mít D hodnotu při 100 °C kratší než 1 min (Farkas, 2007; Montville et al., 1981). Vegetativní buňky bakterií, kvasinek a plísní jsou usmrceny po několika minutách při 70 až 80 °C (Farkas, 2007).

3.4.2 Ošetření chladem

Chlazení obvykle znamená skladování při teplotách nad teplotou mrazu, od asi 16 do -2 °C. Zatímco čistá voda zamrzne při teplotě 0 °C, většina potravin zůstává nezmrzená, dokud nedosáhne teploty asi -2 °C nebo nižší. Je však třeba mít na paměti, že mnoho čerstvého ovoce a zeleniny může být chladem poškozeno, pokud jsou skladovány pod kritickými

teplotami 4 až 12 °C (Zhuang et al., 2003). Symptomy chladového poškození zahrnují zvýšený mikrobiální rozpad, nerovnoměrné nebo nadměrné měknutí a špatné nebo nerovnoměrné zrání (Tasdelen and Bayindirli, 1988).

Ochranný účinek skladování v chladu (chlazení) je založen na skutečnosti, že snížení teploty zpomaluje rychlost chemických reakcí a růst mikroorganismů. Avšak chladírenské teploty umožňují růst psychrofilních a psychrotrofních mikroorganismů, jako jsou například bakterie z rodu *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, méně z čeledi *Enterobacteriaceae*, rody *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus* a *Aeromonas* (Farkas 2007).

3.4.3 Aktivita vody

Voda je jedním z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují míru zhoršování kvality potravin buď mikrobiálními, nebo nemikrobními účinky. Snížení hodnoty A_w v potravinách brání růstu vegetativních mikrobiálních buněk, klíčení spór, tvorbě toxinů plísní a bakterií a aktivitě enzymů. Nízká A_w může také mít sublethální a smrtelné účinky pro mikrobiální buňky. (Erkmen and Bozoglu, 2016).

Termín aktivita vody (A_w) byl zaveden pro vodu, která je k dispozici v potravinovém substrátu a není chemicky vázána. Aktivita vody je definována jako poměr tlaku vodní páry potravin k tlaku páry destilované vody při určité teplotě. Hodnoty aktivity vody se pohybují v rozmezí od 0,00 (suchá látka) do 1,0 (destilovaná voda). Potraviny se podle A_w dělí na tři skupiny: potraviny velmi vlhké s A_w 1,00–0,90 (HMF = High Moisture Foods), středně vlhké s A_w 0,90–0,60 (IMF = Intermediate Moisture Foods) a suché s A_w menší než 0,60 (LMF = Low Moisture Foods) (Čopíková et al., 2006).

3.4.4 Organické kyseliny a pH

Organické kyseliny inhibují růst většiny mikroorganismů a přirozeně se vyskytují v potravinách, proto se stále více používají v mnoha potravinářských výrobcích jako konzervační látky (Theron and Lues, 2007). Jejich použití je regulováno vnitrostátními právními předpisy (Russell and Gould, 2003). Organické kyseliny existují ve dvou základních formách, jako čisté kyseliny nebo pufrované kyseliny. Mezi čisté kyseliny patří například kyselina mravenčí (E236), mléčná (E270), propionová (E280), octová (E260), citrónová (E330) a benzoová (E210), zatímco vápenaté a sodné soli kyselin propionové, octové, citronové a benzoové jsou pufrované organické kyseliny (Theron and Lues, 2007). Vzhledem k tomu, že většina těchto sloučenin má slabou kyselost, je pH považováno za primární faktor, protože

ovlivňuje koncentraci nedisociované kyseliny. Tradičně se předpokládá, že nedisociované formy organických kyselin mohou snadno proniknout do lipidové membrány bakteriální buňky a po vniknutí do neutrálního pH buněčné cytoplazmy se disociuje na anionty a protony. Jak anionty, tak i protony představují problémy pro bakterie, které musí udržovat neutrální pH cytoplazmy pro funkčnost makromolekul. Export nadbytečných protonů vyžaduje spotřebu buněčného adenosintrifosfátu (ATP) a může to vést k vyčerpání buněčné energie (Ricke, 2003). Hlavní výhodou v použití organických kyselin jako konzervantů je zlepšení organoleptických vlastností konzervovaných potravin, zejména jejich nižší vnímaná kyselost. Nevýhoda v jejich použití spočívá v tom, že jsou účinné pouze při snížených hodnotách pH, a proto nemohou být použity ke konzervaci mnoha potravin, které mají blízko k neutrálnímu pH (Russell and Gould, 2003).

3.4.5 Siřičitany, dusitany a dusičnany

Siřičitany jsou multifunkční potravinářská aditiva. Příklady jejich aplikací zahrnují prevenci oxidace, inhibici jiných chemických a enzymatických reakcí, použití jako bělicího činidla, zpomalení nástupu barevných změn v potravinách, stabilizaci vitamínu C a inhibici růstu kvasinek, plísní a bakterií (Vally et al., 2009). Ve srovnání s některými široce používanými konzervačními látkami, například organickými kyselinami, je sulfit v potravinách relativně nestabilní, a proto může během skladování podstatně ztratit účinnost (Russell and Gould, 2003). Používají se tyto siřičitany: oxid siřičitý (E220), siřičitan sodný (E221), hydrogensiřičitan sodný (E222), disiřičitan sodný (E223), disiřičitan draselný (E224), siřičitan draselný (E225), siřičitan vápenatý (E226), hydrogensyřičitan vápenatý (E227) a hydrogensiřičitan draselný (E228) (Gould and Russel, 2003; Yang and Purchase, 1985).

Dusitan draselný (E249), dusitan sodný (E250), dusičnan sodný (E251) a dusičnan draselný (E252), jsou široce používány v potravinářském průmyslu jako konzervační látky a barevná fixativa masných výrobků, jako jsou šunky, klobásy, slanina apod. Dusitany se často přidávají také do směsí při přípravě masa (zvláště šunky a klobásy), aby získaly typickou barvu. Tyto anorganické látky jsou syntetického původu, ale také existují v přírodě jako minerály (Silva and Lidon, 2016).

3.4.6 Konzervace ochrannou atmosférou

Využití řízené atmosféry (dále CA) a modifikované atmosféry (MA) je významné pro skladování ovoce citlivého na chlazení. Snížení koncentrace kyslíku a oxidu uhličitého

v prostředí zpomaluje zrání plodů, snižuje dýchání a produkci ethylenu, předchází měknutí a zpomaluje všechny změny složení spojené s dozráváním (Tasdelen and Bayindirli, 1988). U MA skladování se složení plynu upravuje a dynamicky se mění v závislosti na rychlosti dýchání potravinářského výrobku a propustnosti fólie nebo skladovací struktury obklopující potravinářský výrobek. Při CA skladování je plynová atmosféra plynule řízena po celou dobu skladování (Jayas and Jeyamkondan, 2002).

3.4.7 Vysoký tlak

Se současnou rostoucí poptávkou po bezpečných, čerstvých, výživných a inovativních potravinářských produktech je podněcován výzkum alternativních technologií konzervace, (tj. jiné metody uchování než tepelné zpracování). Jedna z nich je ošetření za působení vysokého tlaku. Odvozeno z materiálních věd, zpracování pod vysokým tlakem je technologie, při které je produkt vystaven tlaku 100 MPa a více (Yuste et al., 2001).

Studie ukázaly, že ošetření vysokým tlakem je schopno ničit většinu mikroorganismů v závislosti na podmínkách aplikace (amplitudě tlaku, době trvání, teplotě a způsobu aplikace), vlastnostech čerstvého a zpracovaného ovoce/zeleniny (pH, živina složení, aktivita vody, stupeň zralosti) a typu mikroorganismů nebo virů (Daher a kol., 2017).

Tlak ovlivňuje konformaci (sekundární, terciární, kvartérní a supramolekulární struktury) makromolekul (nukleové kyseliny, polysacharidy a proteiny), přechodnou teplotu vody a lipidů a některé chemické reakce (Cheftel and Culioli 1997).

3.4.8 Nežádoucí účinky konzervantů

Existují určité škodlivé účinky při používání chemikálií pro konzervaci potravin. Mohou způsobovat bolesti hlavy, palpitace, alergie, a dokonce i rakovinu (Sharma, 2015).

U sorbové kyseliny (E100) a sorbátů byly popsány možné alergie, obvykle viditelné ve formě kopřivky. Protože je kyselina sorbová metabolizována jako některé mastné kyseliny, snižuje se pravděpodobnost dalších nežádoucích účinků (Silva and Lidon, 2016). Avšak bylo zjištěno, že sorbát sodný (0,4–0,8 mg / ml) indukuje *in vitro* chromozomové aberace a některé mutace u čínských křečků (Würgler et al., 1992).

Dusitany také reagují s kyselinami a vedou k tvorbě kyseliny dusité, která může reagovat s určitými aminy (získanými hydrolýzou proteinů) a tvoří nitrosaminy. Nitrosaminy jsou genotoxické karcinogeny a neexistuje prahová hodnota, pod kterou by mohla být

vyloučena tvorba nádorových buněk a nádorů (Silva and Lidon, 2016). Navíc, kyselina dusitá je podezřelá za vznik rakoviny žaludku (Sharma, 2015).

Benzoáty (E211, E212, E213) jsou podezírány, že způsobují alergie, astma a kožní vyrážky (Sharma, 2015). A co víc, benzoát sodný (E211) zřejmě zhoršuje astma a je podezřelý z neurotoxicity a karcinogenity, může způsobit abnormality plodu a hyperaktivitu (Silva and Lidon, 2016).

3.4.9 Přírodní rostlinná barviva

Mnoho barviv je tradičně získáváno z kořenů, plodů, květů, kůry a listů různých rostlin. V současné době se dokonce využívají jako přírodní antioxidanty (Čopíková et al., 2005). Mezi vlastnostmi potravin je barva hlavním lákadlem pro spotřebitele (Gordon et al., 2009). Současné spotřebitelské preference pro přirozená barviva jsou spojeny s představou, že jsou zdravá a kvalitní. Přírodní barviva se stávají stále oblíbenější u spotřebitelů, protože syntetická barviva mají tendence být vnímána jako nežádoucí a škodlivá, přičemž některé z nich jsou u některých osob považována za alergické a intoleranční reakce (Wissgott and Bortlik, 1996). Příklady barviv a jejich přírodních zdrojů je ukázána v Tabulce 3.

Betanin (E162), jak už bylo zmíněno v kapitole betalainů a betaninu, se používá pro barvení mléčných výrobků, jako jsou ovocné jogurty a zmrzliny, dále džemů, žvýkaček, omáček a polévek.

Karoteny patří k významným přírodním oranžovým barvivům, stejně tak k důležitým složkám naší stravy (provitaminy) (Čopíková et al., 2005). Mezi karotenoidy řadíme především β -karoten (E160a), bixin (E160b) a lykopen (E160d). Používají se jako barviva pro potraviny, nápoje, cukrovinky a léčiva. Například bixin se používá jako barvivo do sýrů a jiných mlékárenských produktů (Dewick, 2009).

Kurkumin je znám jako žluté barvivo (E100) z koření kari. Pěstuje se v Indii, Číně a Pakistánu. Používá se v medicíně jako protizánětlivý prostředek a nově i pro potlačování projevů (demenci) Alzheimerovy choroby (Čopíková et al., 2005). Obsahuje karbonylové, methoxyskupiny a hydroxylové skupiny, které mohou přispívat k jeho aktivitě a je řazen do kategorie fenolických antioxidantů. Bylo prokázáno, že kurkumin inhibuje peroxidaci lipidů a u několika zvířecích modelů se prokázala účinná protizánětlivá aktivita. Nedávné pokusy ukázaly preventivní protirakovinné účinky, které korelují s příjmem kurkuminoidů v potravě (Wright, 2002).

Tabulka 3 Příklady barviv a jejich přírodních zdrojů (Wissgott and Bortlik, 1996).

| Barvivo | Zdroj |
|---------------------------------------|---|
| Betanin (E162) | Červená řepa (<i>Beta vulgaris</i>) |
| Karotenoidy (E160) | |
| • β -karoten (E160a) | Mrkev, tmavě zelená listová zelenina (špenát), sladké červené papriky, meruňky |
| • Bixin, norbixin nebo annato (E160b) | Semena oreláníku (<i>Bixa orellana</i>) |
| • Lykopen (E160d) | Různé druhy ovoce (např. rajčata, vodní meloun, růžový grepfruit) |
| Kurkumin (E100) | Oddenek kurkumy (<i>Curcuma longa</i>) |

3.4.10 Silice

Silice neboli esenciální oleje, jsou kapalné, aromatické a těkavé sloučeniny, které jsou extrahovány z rostlinných materiálů jako jsou květy, kořeny, kůra, listy, semena, slupky, plody, dřevo a celé rostliny (Deans and Ritchie, 1987). Jsou po staletí používány v medicíně, parfumerii, kosmetice a byly přidávány do potravin jako součást koření nebo bylinek. Jejich prvotní uplatnění bylo v medicíně, ale v devatenáctém století se začaly používat jako příchutě a vůně různých přísad, a to se stalo jejich hlavní funkcí. Dnes je známo téměř 3000 různých éterických olejů a nejméně 300 se jich komerčně používá na trhu (Burt, 2004).

Silice jsou sekundární metabolity rostlin a jsou důležité pro obranu rostlin, protože mají antimikrobiální vlastnosti (Tajkarimi et al., 2010). Antimikrobiální vlastnosti sekundárních metabolitů poprvé popsal De la Croix v roce 1881 a to pomocí esenciálních olejových par (Burt, 2004). Od té doby se prokázalo, že éterické oleje nebo jejich složky mají nejen antimikrobiální vlastnosti s širokým použitím, ale také antiparazitické, antimykotické a antioxidační vlastnosti. Kromě toho fungují také jako stimulatory růstu u zvířat (Hyldgaard et al., 2012).

Identifikace nejaktivnějších antimikrobiálních složek silic je velmi obtížná, protože silice jsou složité směsi až 45 různých konstituentů (Delaquis et al., 2002). Složení konkrétní silice se může lišit v závislosti na období sklizně a metodách, které se používají k její extrakci (Paibon et al., 2011).

Složky silic patří do skupiny nízkomolekulárních organických sloučenin. Výrazně se liší v antimikrobiální aktivitě. Aktivní složky mohou být rozděleny podle jejich chemické struktury do několika skupin: terpeny, fenypropeny a "ostatní" (Hyldgaard et al., 2012).

3.4.10.1 Terpeny

Mezi monoterpeny patří například α -pinen (rozmarýn), limonen (citrusové plody), sabinen (borůvky, pomeranče, koření), *p*-cymen (kmín římský a tymián) a terpinen (kardamom a majoránka). Jako součást těkavých olejů se používají jako příchutě (např. olej z čerstvého koriandru, kardamomový olej, kmínový olej, bergamotový olej atd.) (Dewick, 2009).

Mezi seskviterpeny patří například β -karyofylen, který se nachází v hřebíčku (*Syzygium aromaticum*) (Hyldgaard et al., 2012).

3.4.10.2 Terpenoidy

Terpenoidy jsou terpeny, které podléhají biochemickým modifikacím díky enzymům, které přidávají molekuly kyslíku a hýbou methylovými skupinami nebo je odstraňují (Caballero et al., 2003).

Terpenoidy mají v rostlinách různorodé funkční role jako hormony (gibereliny, kyselina abscisová), fotosyntetické pigmenty (fytol, karotenoidy), nosiče elektronů (ubichinon, plastochinon), mediátory polysacharidového komplexu (polyprenyl fosfáty) a strukturální složky membrán (fytosteroly). Vedle těchto univerzálních fyziologických, metabolických a strukturálních funkcí slouží mnoho specifických terpenoidních sloučenin ke komunikaci a obraně rostlin, například jako atraktanty pro opylovače, konkurenční fytoxiny, antibiotika, ochrana před herbivory a toxiny (Douglas and Croteau, 1995).

Mezi terpenoidy patří například tymol, karvakrol, linalool, linalyl acetát, citronellal, peperiton, mentol a geraniol (Caballero et al., 2003).

3.4.10.3 Fenypropeny

Cinnamaldehyd je hlavní složkou oleje z kůry skořice (*Cinnamomum zeylanicum*; Lauraceae), široce používaný jako koření a příchut'. Listy skořice obsahují velké množství eugenolu a oproti tomu mnohem méně cinnamaldehydu. Eugenol je také hlavní složkou v hřebíčkovém oleji (*Syzygium aromaticum*; Myrtaceae), který je používám již řadu let jako zubní anestetikum a jako příchut' v potravinách. Anetol je hlavní složkou olejů anýzu (*Pimpinella anisum*, Apiaceae) a fenyklu (*Foeniculum vulgare*; Apiaceae) (Dewick, 2009).

3.4.10.4 Ostatní aktivní složky silic

Silice obsahují řadu různých degradačních produktů pocházejících z nenasycených mastných kyselin, laktonů, terpenů, glykosidů a sloučenin obsahujících síru a dusík (Caballero et al., 2003).

Mezi sloučeniny obsahující síru a dusík patří allicin a allyl isothiokyanát. Allicin je obsažen hlavně v česneku (*Allium sativum*), ze kterého byl poprvé izolován v roce 1944 Cavallitem a jeho kolegy (Ankri and Mirelman, 1999). Vzniká rozdrčením česneku díky enzymu allináze. Kinetika vzniku allicinu se ukázala být závislá na pH a teplotě (Lawson and Hughes, 1991). Čistý allicin je těkavá molekula, která je špatně mísitelná ve vodných roztocích a má typický zápach čerstvě rozdrčeného česneku (Ankri and Mirelman, 1999). Allicin má značné antibakteriální a antifugální vlastnosti. Použití česneku je velmi rozšířené (čerstvý, sušený nebo jako česnekový olej), ať už jako činidlo ke snížení hladiny cholesterolu, nebo snížení rizika vzniku srdečních příhod (Dewick, 2009). Výsledky studie, kterou provedl Leng et al. (2011), ukázaly, že allicin snižuje produkci α -toxinu jak u methicilin-senzitivního *Staphylococcus aureus* (MSSA), tak u methicilin-rezistentního *S. aureus* (MRSA), způsobem závislým na dávce.

Allyl isothiokyanát je přírodní sloučenina přítomná ve všech rostlinách patřících do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Je prokázáno, že má silnou antimikrobiální aktivitu jak v kapalně, tak plynné fázi. U isothiokyanátů bylo zjištěno, že ovlivňují metabolické funkce mikroorganismů (Lin et al, 2000).

3.4.10.5 Biologické účinky

Kvůli velkému počtu konstituentů esenciálních olejů se zdá, že nemají specifické buněčné zaměření (Carson et al., 2002). Způsob účinku závisí na typu mikroorganismu a je spojen se strukturou buněčné stěny a uspořádáním vnější membrány. Například *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negativní bakterie) vykazuje odolnost vůči širokému spektru esenciálních olejů, a to díky hydrofilnímu povrchu vnější membrány, bohaté na lipopolysacharidové molekuly (Kalemba and Kunicka, 2003). Jako typické lipofilní sloučeniny procházejí buněčnou stěnou cytoplazmatické membrány narušují strukturu různých vrstev polysacharidů, mastných kyselin a fosfolipidů a permeabilizují je. U bakterií je permeabilizace membrán spojena se ztrátou iontů a snížením membránového potenciálu, kolapsem protonové pumpy a uvolnění zásob ATP (Bakkali et al., 2008). Esenciální oleje mohou koagulovat

cytoplasmu a poškodit lipidy a proteiny. Poškození buněčné stěny a membrány může vést k úniku makromolekul a k lýze buňky (Gustavson et al., 1998).

Cytotoxické účinky byly pozorovány *in vitro* u většiny patogenních gram-pozitivních a gram-negativních bakterií metodou agarové difúze za použití filtračního papírového kotouče, nebo ředící metodou pomocí agaru nebo kapalných kultivačních medií (Kalemba and Kunicka, 2003). Obecně je cytotoxicická aktivita silic způsobena přítomností fenolů, aldehydů a alkoholů (Bakkali et al., 2008).

3.5 Volné radikály a antioxidanty

Volný radikál je jakýkoli chemický druh schopný samostatné existence, který má jeden nebo více nepárových elektronů (Aruoma and Halliwell, 1991; Bagchi and Puri, 1998; Dilas et al., 2002; Riley, 1994). Díky tomu mají zvýšenou reaktivitu s ostatními molekulami. Tato reaktivita je spojena s tím, jak snadno může iont přijímat elektrony (je redukován) nebo je darovat (je oxidován), což je proces ilustrovaný studií molekulárního kyslíku, který působí jako koncový elektronový akceptor v aerobním životě, a postupně je redukován do molekuly vody, který je ústředním bodem metabolismu (Blake et al., 1987).

Nejdůležitějším akceptorem elektronů v biosféře je molekulární kyslík, který na základě své bi-radikální povaze snadno přijímá nepárové elektrony, čímž vzniká řada částečně redukováných druhů obecně známých jako reaktivní druhy kyslíku (ROS). Do nich patří superoxid ($O_2^{\cdot-}$), hydroxylové radikály (HO^{\cdot}), peroxid vodíku (H_2O_2), peroxilové (ROO^{\cdot}) a alkoxylové (RO^{\cdot}) radikály, které se mohou podílet na iniciaci a šíření řetězových reakcí volných radikálů, což může potenciálně velmi poškozovat buňky (Blake et al., 1987; Riley, 1993).

Dalším skupinou radikálů jsou reaktivní druhy dusíku (RNS). Primárním zdrojem RNS v biologických organismech je oxid dusnatý (NO). Nejvýznamnější reakce NO, ke kterým dochází při relativně nízkých koncentracích, jsou s centry přechodných kovů, železem a mědí, bílkovinami nebo reakcemi s jinými volnými radikály a kyslíkem (Patel et al., 1999).

Jak ROS, tak i RNS jsou produkty normálního buněčného metabolismu (Caballero, 2003). Patří sem například oxidační fosforylace (v mitochondriích) a fotosyntéza (Halliwell, 1994). ROS i RNS dokáží být pro živé organismy škodlivé i prospěšné. Při nízkých nebo středních koncentracích ROS se projevují příznivé účinky (Caballero, 2003; Valko et al., 2007). Zahrnují fyziologické role v buněčných reakcích na toxicitu, kde Valko et al. (2007) uvádí jako příklad obranu buněk proti infekčním činitelům a ve funkci mnoha buněčných signalizačních systémech. Fagocyty, jako jsou neutrofily a makrofágy produkují ROS během fagocytózy

(Forman and Torres, 2002). Nadměrně vysoké hladiny volných radikálů způsobují poškození buněčných proteinů, membránových lipidů a nukleových kyselin, a nakonec buněčnou smrt (Wolff and Dean, 1987).

Lidský organismus si proti těmto volným radikálům vyvinul antioxidační obranu (Halliwell, 1994). Termín antioxidant je široce používán, ale zřídka kdy definován. Definice podle Halliwell (1995) spočívá v tom, že antioxidant je látka, která při nízkých koncentracích, v porovnání s oxidovatelným substrátem, významně zpožďuje nebo znemožňuje oxidaci tohoto substrátu. Funkce antioxidantů zahrnují snižování oxidačního stresu, mutace DNA, maligní transformace a dalších parametrů, které poškozují buňky. Epidemiologické studie vedly k tomu, že antioxidanty mají schopnost omezovat účinky ROS a snižují výskyt rakoviny a dalších degenerativních onemocnění. Přesto, především při vytrvalém radikálovém působení může být obranný systém proti ROS přemožen, což vede k výskytu choroby (Pisoschi and Pop, 2015).

Biologické antioxidanty rozdělujeme na enzymatické (např. superoxid dismutázy (SOD), kataláza a glutathionperoxidáza) a neenzymatické antioxidanty, jako jsou inhibitory oxidativních enzymů (např. aspirin, ibuprofen), kofaktory antioxidačních enzymů (Se, Koenzym Q₁₀), vychytávače ROS / RNS (vitamín C a E) a chelátory přechodových kovů (EDTA) (Huang et al, 2005). Například SOD převádějí superoxid na peroxid vodíku: $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ (Halliwell, 1994). Přestože peroxid vodíku je silnějším oxidačním činidlem než superoxid, je poměrně nereaktivní vůči většině biologických substrátů, pokud není přítomen v nefyziologicky vysokých koncentracích (Conner and Grisham, 1996).

3.6 Oxidace a oxidační stres

Vzhledem k tomu, že antioxidační obranyschopnost není zcela účinná, zvýšená tvorba volných radikálů v těle zvyšuje způsobenou škodu. Termín oxidační stres se proto často používá k označení tohoto účinku (Halliwell, 1994). Oxidace v lidském těle a v potravinách již byla široce prozkoumána. Oxidační metabolismus je nezbytný pro přežití buněk. Vedlejším účinkem této závislosti je produkce volných radikálů a reaktivních druhů kyslíku, které způsobují oxidační změny (Antolovich et al., 2001). Právě ROS modulují funkci všech tříd biomolekul a zaměřuje se na téměř všechny substráty v buňce. Nejvýznamnější endogenní zdroje oxidačních druhů zodpovědných za stárnutí byly identifikovány v mitochondriích,

zejména v řetězci transportu elektronů a reakcích katalyzovaných syntázami oxidu dusnatého (Pisoschi and Pop, 2015).

Stále více se objevují důkazy, že oxidační stres, zejména ROS a RNS, jsou spojeny s několika zánětlivými a degenerativními onemocněními (Rice-Evans and Diplock, 1993). Pro zachování zdraví organismu je považováno za důležité, aby v těle byla rovnováha mezi tvorbou těchto reaktivních sloučenin a tvorbou ochranných mechanismů (Valko et al., 2006). V některých případech je však vznik oxidačního stresu sekundárním účinkem, který je výsledkem oslabení organismu jiným faktorem. S oslabením antioxidantních obranných prostředků, oxidační stres může zvyšovat a zhoršovat vývoj onemocnění. U některých onemocnění oxidační stres hraje centrální roli. V některých případech je však oxidační stres jednou ze skupin faktorů, které mohou onemocnění způsobit (Spector, 2009).

3.6.1.1 Atheroskleróza

Atheroskleróza je onemocnění spojené s procesy ztlustění nejnvnitřnější vrstvy cév, akumulací lipidů a tvorbou charakteristických plátů. To způsobuje ztenčení cév a vede k dalším potížím, které vyústí až k infarktu myokardu, mozkové příhodě a trombózám (Ross and Glomset, 1976). Velké množství studií ukázalo, že běžné rizikové faktory pro atherosklerózu, mezi které patří například kouření, sedavý životní styl, hypertenze, diabetes, hypercholesterolemie a stárnutí (Berenson et al., 1998), zvyšují produkci volných kyslíkových radikálů, nejen endoteliálními buňkami, ale také buňkami hladkého svalstva cév a buňkami zevní vazivové vrstvy (Harrison et al., 2003). Podle hypotézy oxidativní modifikace, LDL (low density lipoprotein) ve svém přirozeném stavu není atherogenní. Nejvíce pravděpodobná a biologicky relevantní modifikace LDL je oxidace. LDL může být oxidačně modifikována všemi hlavními buňkami arteriální stěny (Singh and Jialal, 2006).

3.6.1.2 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus je komplexní syndrom zahrnující těžkou inzulinovou dysfunkci ve spojení s abnormalitami glukózové homeostázy a metabolismu lipidů. Toto onemocnění je rozděleno na dvě podskupiny. První skupinou je diabetes závislý na inzulinu (IDDM), označován také jako diabetes I. typu. Druhá skupina je označována jako diabetes mellitus nezávislý na inzulinu (NIDDM), který se také nazývá diabetes II. typu (Wolff, 1993). Zvýšený oxidační stres je široce akceptovaným účastníkem vývoje a progresu diabetu. Diabetes je obvykle doprovázen zvýšenou produkcí volných radikálů nebo narušenou antioxidantní

obranou. Mechanismy, kterými je zvýšený oxidační stres zapletený do diabetických komplikací jsou částečně známé, což zahrnuje aktivaci transkripčních faktorů, pokročilých glykovaných konečných produktů (AGEs) a proteinkinázy C (Maritim et al., 2002). Ukázalo se také, že hyperglykemie podporuje peroxidaci LDL, cestou závislou na superoxidu, která vede k tvorbě volných radikálů (Kawamura et al., 1994). Podle Halliwella (2012) se zdá, že ROS způsobuje cukrovku (např. poškozením β -buněk), ale odstranění příliš mnoha ROS (například podáváním nadměrného množství antioxidantů) může samo o sobě vést k metabolické disfunkci a predispozici k diabetu.

3.6.1.3 Rakovina

Rakovina je jen velmi obecný pojem, který zahrnuje mnoho forem zhoubného buněčného bujení (Zemanová, 2008). Je druhá nejčastější příčina smrti v rozvinutých i rozvojových zemích světa. Vyskytuje se u lidí různého věku, ale zatížení se zvyšuje především s věkem. Důležitou roli hrají psychologické, behaviorální a sociální faktory (Raudenská, 2011). Karcinogeneze je vícestupňový proces zahrnující mutaci a následnou selektivní klonální expanzi mutované buňky. Bylo zjištěno několik způsobů účinku, kterým karcinogeny indukují rakovinu, včetně tvorby ROS (Klaunig et al., 2010). ROS může podporovat mnoho aspektů vývoje a progresu nádoru, které mohou být rozděleny do následujících biologických procesů: buněčná proliferace, vyhnutí se apoptóze, invaze tkáně, metastázy a angiogeneze (Sosa et al., 2013).

3.6.1.4 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je nejběžnější formou senilní demence, která postihuje 10 % osob starších 65 let a téměř 50 % osob starších 85 let (Imbimbo et al., 2005). Je to neurodegenerativní porucha, klinicky charakterizovaná progresivním zhoršením kognitivního chování a funkčnosti, která výrazně narušuje každodenní činnost postiženého (Swerdlow, 2007). Patofyziologie AD je spojena s řadou faktorů, včetně extracelulárního ukládání β -amyloid plaků, akumulace intracelulárních neurofibrilárních uzlů, oxidativního neuronového poškození a zánětlivých kaskád (Imbimbo et al., 2005). Protože je mozek z velké části složen ze snadno oxidovatelných lipidů, má vysokou spotřebu kyslíku a postrádá silnou antioxidační obranu, je poměrně citlivý na oxidační poškození. Bylo prokázáno, že stárnutím dochází ke zvýšení oxidace v mozku, což je nejvíce konzistentní rizikový faktor pro AD (Markesbery, 1999).

3.6.1.5 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba, stejně jako Alzheimerova choroba, patří do skupiny neurodegenerativních onemocnění. Typicky je charakterizována ztrátou dopaminergních neuronů *substantia nigra* (černá substance). Charakteristickým a na věku závislým rysem těchto neuronů a *substantia nigra* je akumulace neuromelaninu. Oxidační stres spojený s Parkinsonovou chorobou je důsledkem rozpadu regulace dopaminu (neuromelaninu) a železa (Barnham et al., 2004). Dopamin je neurotransmiter, zajišťuje tedy přenos signálu mezi nervovými buňkami (neurony). Deregulace dopaminergního systému byla spojena s nejen s Parkinsonovou chorobou, ale také s Tourettovým syndromem, schizofrenií, hyperaktivní poruchou pozornosti (ADHD) a nádory hypofýzy (Vallone et al., 2000).

3.7 Jablečno-řepná šťáva

Ovoce a zelenina má důležitou roli v lidské výživě. WHO/FAO a nutriční specialisté po celém světě doporučují zvýšení jejich konzumace. V tomto kontextu hraje velmi důležitou roli zpracované ovoce a zelenina (Kazimierczak et al., 2016). Dále také doporučují zvýšení konzumace zeleninových šťáv místo nahrazování přírodních produktů synteticky vyrobených suplementů (Liu, 2013). Pozitivní také je, že pití šťáv poskytuje pohodlnější alternativu ke konzumaci celé zeleniny (Wootton-Beard and Ryan, 2011).

3.7.1 Řepná složka

Červená řepa (*Beta vulgaris*) se řadí mezi velmi ceněnou zeleninu, pokud jde o nutriční složení a stále více se používá při výrobě šťáv a džusů (Kazimierczak et al., 2016). Řepná šťáva obsahuje vysoké hladiny biologicky přístupných antioxidantů. Mimo jiné také obsahuje další sloučeniny podporující zdraví jako je draslík, hořčík, kyselina listová, železo, zinek, vápník, fosfor, sodík, niacin, biotin, B6 a rozpustnou vlákninu (Wootton-Beard and Ryan, 2011).

Vznikl velký zájem o šťávu z červené řepy, protože je bohatým zdrojem množství polyfenolických sloučenin (Kaur and Kapoor, 2002). Červená řepa je nejdůležitějším zdrojem betaninu. Koncentrace betaninu klesá v následujícím pořadí: slupka, korunka a dužina. Červená řepa obsahuje asi 300–600 mg/kg betaninu (Kanner et al., 2001). Hlavní betalainové a fenolické sloučeniny jsou shrnuty v Tabulce 4. Červená řepa také obsahuje menší množství jiných sloučenin jako jsou karotenoidy a kyselina askorbová, která mohou také zvýšit její antioxidační kapacitu (Wootton-Beard and Ryan, 2011). Na druhou stranu, červená řepa obsahuje velké

množství dusičnanů. Jejich koncentrace je srovnatelná se salátem, ředkvičkou nebo špenátem. (Esatbeyoglu et al., 2015).

Tabulka 4 Přehled hlavních betalainových a fenolických složek (Kujala et al., 2002).

| Klasifikace | Sloučenina |
|-----------------------------|---|
| Betalainy | |
| Betaxantiny | Vulgaxantin I Vulgaxantin II |
| Betakyaniny | Betainin Isobetainin |
| Fenoly | |
| Konjugáty kyseliny ferulové | 5,5',6,6'-tetrahydroxy-3,3'-biindolyl-feruloyglukósa β -d-fructofuranosyl-a-d-(6-O-(E)-feruloylglukopyranosid) |
| Fenolické amidy | N-trans-Feruloyltyramin N-trans-Feruloylhomovanillylamin |
| Flavonoidy | Betagarin Betavulgarin Cochliophilin A Dihydroisorhamnetin |

3.7.2 Jablečná složka

Čerstvá jablka mohou obsahovat až 100 mg/kg vitamínu C, ale v průběhu zpracování šťáv a džusů se jeho obsah rychle ztrácí (Lea, 1992). Přídavek vitamínu C zabraňuje oxidaci polyfenolů, což je hlavní zdroj hnědnutí jablečného džusu během zpracování (Miller et al., 1995).

3.7.2.1 Polyfenoly jablek

Jablka mohou obsahovat až 2 g polyfenolů/kg čerstvého ovoce. Stejně jako polyfenoly červené řepy, polyfenoly jablek vykazují vysokou antioxidační kapacitu *in vitro* (Kahle et al., 2005), a díky tomu bylo mnohokrát hlášeno, že konzumace jablečné šťávy zvyšuje obsah

antioxidantů v krvi (Bitsch et al., 2001). Kromě toho je také známo, že polyfenoly jablek ovlivňují vstřebávání sacharidů (Crespy et al., 2001). Dále bylo prokázáno, že inhibují proliferaci rakovinných buněk a snížením oxidace lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) vykazují anti-arteriosklerotickou aktivitu (Kahle et al., 2005). V jablku najdeme šest druhů polyfenolů. Patří do nich fenolické kyseliny (k. chlorogenová, k. *p*-kumaroyl chinová), dihydrochalkony (phloretin, phloridzin), katechiny ((-) epicatechin), prokyanidiny, anthokyaniny (kyanidin-3-glukosid) a flavonové glykosidy (quercetin-3-glukosid). Anthokyaniny a flavonové glykosidy jsou pouze ve slupce jablek, ve šťávě se nevyskytují (Miller et al., 1995).

4 Materiál a metody

4.1 Mošty

Pro účely experimentální části byl použit jablečno-řepný mošt, zakoupený od pana Větrovce, sady Truskovice. Tento mošt byl vyroben smícháním jablek (odrůda Spencer; 80 %) s červenou řepou (*Beta vulgaris* var. *vulgaris*; 20 %) a následným lisováním obou surovin. Před přípravou vzorků nebyl nijak ošetřen, pouze skladován v mrazáku při -20 °C.

4.2 Chemikálie

2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH), (\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kys. (Trolox), kys. benzoová, kys. gallová, Folin-Ciocalteu fenolové činidlo (FC), sorbát sodný a betanin byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha, Česká Republika). Metanol (MeOH) *p.a.* kvality byl obdržen od PENTA (Praha, Česká Republika). Uhličitan sodný byl zakoupen od Lach-Ner (Neratovice, česká Republika)

4.3 Příprava vzorků

Jablečno-řepný mošt byl ošetřen následujícími způsoby: přidáním dvou různých silic různých koncentracích a použitím tří různých teplot (Tabulka 5). Jako metodu kontroly jsme použili ošetření kyselinou benzoovou, sorbátem sodným, tepelné ošetření a vzorky bez ošetření (Tabulka 6). U každé z těchto variant byly provedeny tři opakování.

Tabulka 5 Varianty připravených vzorků.

| Varianta | Silice | Teplota | Koncentrace silice ($\mu\text{g/mL}$) |
|----------|-----------------|---------|---|
| 1 | Skořice | 54 | 256 |
| 2 | | | 128 |
| 3 | | | 64 |
| 4 | | 60 | 256 |
| 5 | | | 128 |
| 6 | | | 64 |
| 7 | | 64 | 256 |
| 8 | | | 128 |
| 9 | | | 64 |
| 10 | Citronová tráva | 54 | 256 |
| 11 | | | 128 |
| 12 | | | 64 |
| 13 | | 60 | 256 |
| 14 | | | 128 |
| 15 | | | 64 |
| 16 | | 64 | 256 |
| 17 | | | 128 |
| 18 | | | 64 |

Pro všechny varianty bylo odměřeno 560 mL ovocného moštu. Ke vzorkům byly přidány silice skořice pravé (*Cinnamomum verum*; Lauraceae) a citronové trávy (*Cymbopogon citratus*; Poaceae). Byl připraven zásobní roztok silic o koncentraci 512 mg/L, který byl následně podroben homogenizaci po dobu deseti vteřin, pomocí přístroje T18 digital Ultra-Turrax firmy IKA, za účelem vzniku nanoemulze voda-silice. Tento zásobní roztok byl použit pro přípravu finálních koncentrací 256 mg/L, 128 mg/L a 64 mg/L obou silic. Varianty s těmito koncentracemi byly připraveny do penicilinek s gumovým septem, do kterých byl napipetován objem 20 mL. Po dokončení přípravy a aseptickém uzavření penicilinových lahvíček byly takto připravené vzorky protřepány na třepačce Vortex při 2500 ot./min po dobu pěti vteřin.

Následně byla provedena tepelná ošetření při teplotách 54 °C, 60 °C, 64 °C po dobu deseti minut. Pro tepelné ošetření byla použita vodní lázeň Medingen W12 a pro kontrolu teploty uvnitř penicilinky byl použit digitální teploměr Heidolph EKT Hei-Con. Vzorky byly následně skladovány při pokojové teplotě a temnu.

Pro varianty kontrol byla použita kyselina benzoová v koncentraci 150 mg/L, dále sorbát sodný v koncentraci 300 mg/L, teplota 64 °C po dobu 10 minut a jako poslední varianta bez ošetření.

Tabulka 6 Varianty kontrol.

| Varianta kontroly | Způsob ošetření |
|-------------------|-------------------------|
| 1 | K. benzoová (150 mg/L) |
| 2 | Sorbát sodný (300 mg/L) |
| 3 | 64 °C |
| 4 | Bez ošetření |

Pro účely experimentu byly všechny vzorky odebírány v předem určených intervalech: 1., 2., 3., 4., 6., 8., 12., 18. a 29. den.

Pro měření degradace betaninu byl jablečno-řepný mošt připraven do tří různých variant (Tabulka 7). Z důvodu lepších antimikrobiálních účinků byla vybrána silice z citrónové trávy (*Cymbopogon citratus*; Poaceae). Tepelné ošetření, příprava a přidání silice bylo provedeno stejně jako v předchozím experimentu. Pro účely sledování degradace betaninu v čase byly určeny dny pro odebírání: 1., 2., 8., 14., 26. a 36. den.

Tabulka 7 Varianty pro měření degradace betaninu.

| Varianta | Způsob ošetření |
|----------|--------------------------|
| 1 | Bez ošetření |
| 2 | 64 °C |
| 3 | 64 °C + 256 µg/mL silice |

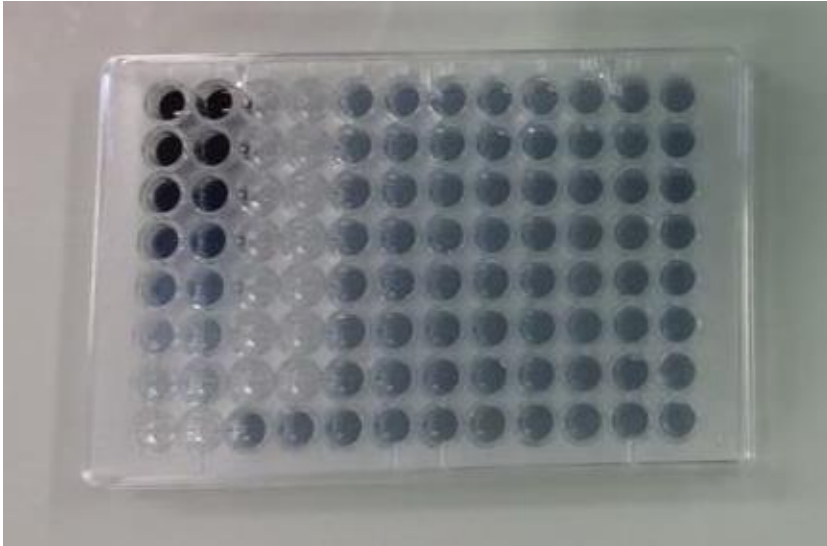
4.4 Celkový obsah fenolických látek a antioxidační aktivita

4.4.1 Stanovení obsahu fenolických látek

Celkový obsah fenolických látek (TPC) byl stanoven spektrometrickou metodou pomocí FC činidla, dříve popsanou Singletonem et al. (1998). Byl připraven standardní roztok gallové kyseliny o koncentraci 256 µg/mL, ze kterého se na jednorázové mikrotitrační destičce (96 jamek s plochým dnem) vytvořila ředící řada 128 až 0,125 µg/mL. Vzorky všech variant jablečno-řepného moštu byly 50krát naředěny (20 µL vzorku + 980 µL vody) a následně bylo nanášeno 100 µL každého vzorku na mikrotitrační destičku. Poté se do každé jamky nanášelo 25 µL FC činidla a destička se nechala 10 minut třepat na orbitální třepačce. Po míchání se do každé jamky přidalo 75 µL Na₂CO₃ a destička se dala v temnu (obalená alobalem) inkubovat na 120 minut při teplotě 37 °C. Absorbance modro-zeleného zbarvení (obrázek 6) byla změřena

při 700 nm za pomoci spektrofotometru (Cytation 3, BioTech Instruments, Praha, Česká Republika). Výsledky byly vyjádřeny pomocí ekvivalentů kyseliny gallové (g GAE/L moštu).

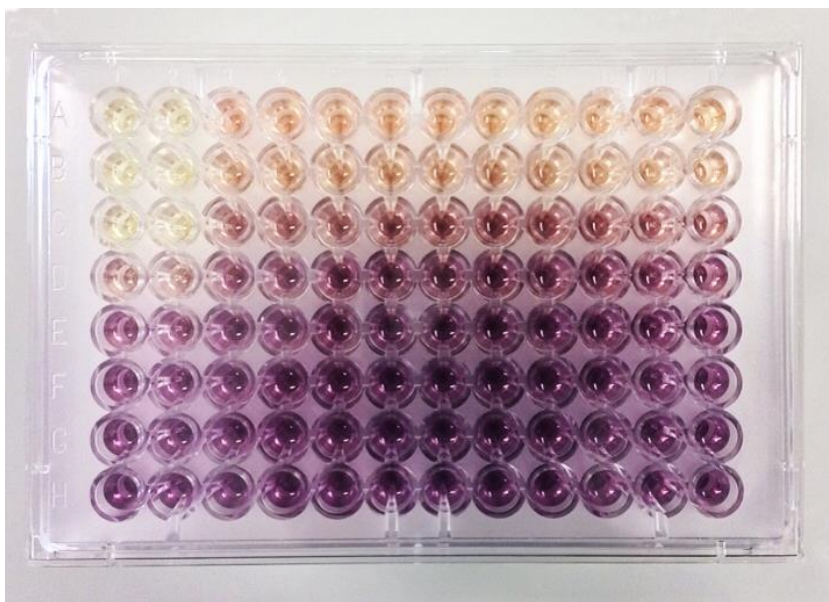
Obrázek 10 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření.



4.4.2 Antioxidační aktivita

Celková antioxidační aktivita byla změřena pomocí mírně upravené metody založené na zachytávání DPPH radikálu dle Sharma and Bhat (2009). Odebrané vzorky všech variant byly 5krát naředěny (200 μ L vz. + 800 μ L MeOH) a z důvodu vzniklých sraženin vortexovány (5000 ot./min po dobu 90 vteřin). Následně byly na mikrotitrační destičce u jednotlivého vzorku provedeny ředící řady dvojnásobným ředěním (7 koncentrací; 2,0 – 125,0 μ L/mL) v 100 μ L MeOH. Oxidační reakce byla iniciována přidáním 100 μ L DPPH (0.25 mM). Takto připravené destičky byly ponechány 30 minut v temnu (laboratorní teplota). Jako standard byl použit Trolox (koncentrační rozpětí: 1,0 – 64,0 μ g/mL); jako negativní kontrola (blank) čistý MeOH. Absorbance byla měřena při 517 nm. Výsledky byly vyjádřeny pomocí 50% inhibičních koncentrací (IC_{50}) v μ L/mL.

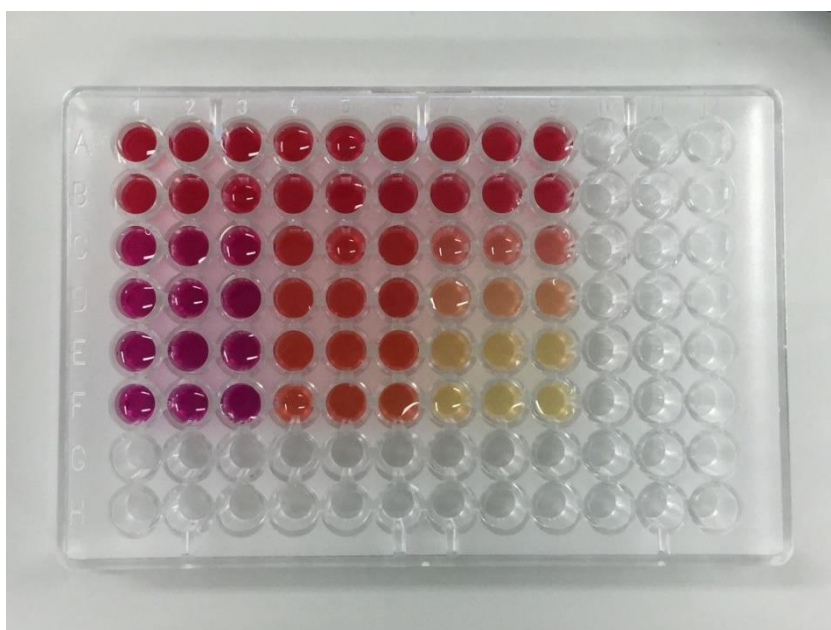
Obrázek 11 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření.



4.5 Degradace betaninu

Připravené a odebrané vzorky ovocné šťávy byly vortexovány a centrifugovány (5000 ot./min po dobu 90 vteřin). Následně bylo odebráno a naředěno 100 μL vzorku se 100 μL vody. Ředění bylo provedeno z důvodu přesnějších výsledků. Naředěné vzorky byly napipetovány na mikrotitrační destičku s plochým dnem (Obrázek 8). Jako standard byl použit čistý betanin (koncentrační rozpětí: 0,1–20 mg/mL); jako blank čistá voda. Měření degradace betaninu bylo provedeno spektrofotometricky při vlnové délce 537 nm.

Obrázek 12 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření.



4.6 Statistická analýza

Výsledky ze změřených třech opakování od každého vzorku byly vyjádřeny jako průměr se směrodatnou odchylkou (průměr \pm SD). Pro statistické zhodnocení byly použity tyto typy analýz: Jednofaktorová ANOVA, ANOVA hlavních efektů a Hierarchická ANOVA. Pro zhodnocení jednotlivých faktorů byl použit Tukeyův test. Všechny analýzy byly provedeny v programu STATISTICA 12 (StatSoft Inc., USA).

5 Výsledky

5.1 Celkový obsah fenolických látek

Výsledky celkového obsahu fenolických látek v jablečno-řepném moštu jsou ukázány v Tabulce 10 a Tabulce 11. U vzorků, měřených první den byly nejnižší koncentrace zaznamenány při ošetření 64 °C a koncentraci 64 µg/mL silice z citronové trávy (664,14 ± 44,34 mg GAE/L). Nejvyšší koncentrace byly zaznamenány při ošetření 54 °C a koncentraci 64 µg/mL silice ze skořice (794,56 ± 9,06 mg GAE/L). Varianty, které nebyly teplotně ošetřeny, měly vyšší obsah fenolických látek, než varianty ošetřené na 54–64 °C (Tabulka 8). Mezi jednotlivými koncentracemi obou silic statisticky průkazný rozdíl nevznikl. Statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi dny je ukázán v Tabulce 9. Silice z kůry skořice měla průměrnou hodnotu ze všech měření 666,86 mg GAE/L a silice z citronové trávy 621,02 mg GAE/L. Kontrolní varianta s kys. benzoovou měla průměrnou hodnotu 668,66 mg GAE/L, kontrolní varianta se sorbátem sodným 802,85 mg GAE/L, kontrolní varianta ošetřená pouze teplotou 64 °C 677,68 mg GAE/L a varianta neošetřená žádným způsobem 768,64 mg GAE/L. V posledním dni měření měla nejvyšší obsah fenolických látek varianta ošetřená na 54 °C a koncentrací 256 µg/mL silice ze skořice (646,08 ± 25,54 mg GAE/L), následována variantou ošetřenou na 60 °C a koncentrací 256 µg/mL silice z citronové trávy (637 ± 45,04 mg GAE/ ml). Nejmenších hodnot v posledním dni měření dosáhly vzorky varianty ošetřené na 54 °C a koncentrací 64 µg/mL silice z citronové trávy (477,46 ± 12,12 mg GAE/L), následované vzorky se stejnou silicí v koncentraci 256 µg/mL a ošetřené na 64 °C (529,77 ± 8,22 mg GAE/L). Průběh hodnot nevykazoval žádný trend u prvních tří dní měření, poté se začal obsah fenolických látek mírně snižovat.

Tabulka 8 Vliv teploty na TPC testovaných variant.

| 0 °C | 54 °C | 60 °C | 64 °C |
|------|-------|-------|-------|
| A | B | B | B |

*Různá písmena v tabulce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 9 Srovnání použitých silic a kontrolních variant bez nich.

| Bez silice | Skořice | Citrónová tráva |
|---------------|---------|--------------------|
| A | B | C |

*Různá písmena v tabulce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 10 Výsledky celkového obsahu fenolických látek ve zkoumaných variantách, vyjádřeny v mg GAE/L moštu.

| Var. | 1. den ^a | 2. den ^a | 3. den ^a | 4. den ^c | 6. den ^c | 8. den ^c | 12. den ^c | 18. den ^b | 29. den ^c |
|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 760,24 ± 14,88 | 865,73 ± 39,28 | 833,92 ± 39,21 | 619,32 ± 19,25 | 716,64 ± 69,45 | 515,1 ± 134,79 | 623,15 ± 23,26 | 777,25 ± 27,58 | 646,08 ± 25,54 |
| 2 | 694,34 ± 57,72 | 834,19 ± 15,80 | 794,01 ± 17,27 | 600,92 ± 32,09 | 689,2 ± 54,08 | 593,78 ± 24,89 | 674,6 ± 65,48 | 686,11 ± 47,07 | 601,56 ± 10,41 |
| 3 | 794,56 ± 9,06 | 830,61 ± 41 | 797,71 ± 25,43 | 596,05 ± 14,89 | 671,69 ± 10,92 | 541,98 ± 41,22 | 526,82 ± 30,99 | 643,82 ± 140,03 | 564,83 ± 18,15 |
| 4 | 753,10 ± 12,49 | 837,06 ± 23,32 | 784,41 ± 33,49 | 591,18 ± 18,85 | 657,09 ± 10,8 | 598,68 ± 24,45 | 616,04 ± 32,19 | 700,93 ± 82 | 568,17 ± 13,99 |
| 5 | 723,99 ± 40,94 | 829,18 ± 29,19 | 778,49 ± 16,59 | 559,25 ± 5,78 | 602,8 ± 37,91 | 579,62 ± 19,78 | 583,2 ± 32,35 | 664,14 ± 25,25 | 562,05 ± 62,47 |
| 6 | 777,81 ± 31,27 | 797,63 ± 30,46 | 739,32 ± 16,43 | 576,57 ± 13,41 | 648,92 ± 1,65 | 567,89 ± 28,76 | 620,42 ± 14,34 | 665,79 ± 76,95 | 571,51 ± 6,44 |
| 7 | 705,88 ± 55,17 | 835,63 ± 45,12 | 777,01 ± 18,49 | 560,34 ± 20,38 | 667,6 ± 77,57 | 552,25 ± 25,85 | 532,29 ± 87,06 | 592,75 ± 8,4 | 540,9 ± 23,65 |
| 8 | 741,57 ± 39,93 | 829,89 ± 40,92 | 744,49 ± 12,84 | 586,31 ± 14,6 | 655,34 ± 13,11 | 558,6 ± 18,64 | 624,79 ± 19,48 | 603,73 ± 31,18 | 577,07 ± 11,91 |
| 9 | 756,39 ± 41,25 | 796,92 ± 31,43 | 774,79 ± 28,64 | 609,04 ± 20,63 | 640,75 ± 28,4 | 562,02 ± 6,22 | 587,03 ± 35,55 | 619,11 ± 13,25 | 533,67 ± 30,67 |
| 10 | 672,38 ± 32,74 | 787,59 ± 5,64 | 677,97 ± 60,22 | 558,71 ± 5,98 | 594,05 ± 40,27 | 569,84 ± 37,9 | 551,99 ± 33,99 | 568,59 ± 17,3 | 558,17 ± 25,95 |
| 11 | 698,19 ± 34,58 | 778,18 ± 21,29 | 747,45 ± 78,89 | 520,83 ± 30,73 | 566,61 ± 56,12 | 555,18 ± 20,95 | 518,61 ± 66,67 | 581,22 ± 79,29 | 570,4 ± 45,87 |
| 12 | 700,93 ± 30,59 | 725,95 ± 30,73 | 828,75 ± 64,39 | 607,41 ± 20,03 | 661,76 ± 17,88 | 629,47 ± 73,06 | 634,1 ± 66,46 | 745,14 ± 7,41 | 477,46 ± 12,12 |
| 13 | 681,16 ± 55,89 | 672,19 ± 9,01 | 692,02 ± 29,14 | 533,82 ± 2,02 | 560,77 ± 45,2 | 507,28 ± 31,5 | 548,71 ± 10,24 | 547,17 ± 44,82 | 554,81 ± 13,92 |
| 14 | 732,24 ± 30,68 | 647,09 ± 45,75 | 731,93 ± 32,18 | 573,86 ± 47,4 | 615,65 ± 22,8 | 562,51 ± 20,61 | 616,58 ± 39,29 | 570,79 ± 38,43 | 637,73 ± 45,04 |
| 15 | 707,52 ± 36,45 | 691,54 ± 11,95 | 719,36 ± 8,56 | 532,19 ± 40,52 | 685,7 ± 38,64 | 584,99 ± 43,91 | 613,85 ± 39,37 | 565,29 ± 41,36 | 540,9 ± 29,71 |
| 16 | 670,73 ± 81,71 | 683,66 ± 21,36 | 717,15 ± 36,63 | 526,7857 ± 20,7 | 648,34 ± 52,97 | 549,8 ± 50,4 | 546,52 ± 92,25 | 609,77 ± 48,58 | 529,77 ± 8,22 |
| 17 | 777,81 ± 16,60 | 664,30 ± 28,91 | 757,79 ± 9,29 | 562,5 ± 20,58 | 596,96 ± 60,42 | 548,83 ± 13,49 | 595,79 ± 44,27 | 642,72 ± 6,64 | 574,85 ± 68,84 |
| 18 | 664,14 ± 44,34 | 659,28 ± 6,65 | 709,02 ± 17,58 | 552,22 ± 15,81 | 617,98 ± 19,2 | 507,28 ± 12,8 | 516,97 ± 78,59 | 550,74 ± 15,65 | 595,99 ± 13,42 |

*Var. 1-9 – se skořicí; Var. 10-18 s citr. trávou; Var. 1-3 & 10-12 – 54 °C; Var. 4-6 & 13-15 – 60 °C; Var. 7-9 & 16-18 – 64 °C; Var. 1,4,7,10,13,16 – 256 µg/mL;

*Var. 2,5,8,11,14,17 – 128 µg/mL; Var. 3,6,9,12,15,18 – 64 µg/mL

*Různá písmena v názvu každého sloupce ukazují statisticky významné rozdíly (p < 0,05; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 11 Výsledky celkového obsahu fenolických látek u variant kontrol, vyjádřeny v mg GAE/L moštu.

| Varianty kontrol | 1. den ^a | 2. den ^a | 3. den ^a | 4. den ^c | 6. den ^c | 8. den ^c | 12. den ^c | 18. den ^b | 29. den ^c |
|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 724,55 ± 49,22 | 743,87 ± 55,33 | 815,45 ± 15,39 | 609,58 ± 17,83 | 618,56 ± 15,92 | 597,21 ± 67,52 | 734,26 ± 90,18 | 603,46 ± 65,07 | 570,95 ± 50,98 |
| 2 | 781,11 ± 49,06 | 773,26 ± 1,01 | 842,05 ± 12,05 | 663,69 ± 18,57 | 748,74 ± 59,56 | 628 ± 29,4 | 792,28 ± 24,63 | 1382,7 ± 109,56 | 613,80 ± 48,79 |
| 3 | 717,41 ± 62,49 | 690,11 ± 12,66 | 719,36 ± 57,94 | 562,5 ± 30,37 | 667,02 ± 19,31 | 585,48 ± 11,79 | 589,22 ± 18,3 | 926,36 ± 15,65 | 641,62 ± 14,32 |
| 4 | 695,99 ± 9,92 | 808,39 ± 21,93 | 697,19 ± 82,46 | 605,79 ± 61,16 | 726,56 ± 28,25 | 575,22 ± 6,67 | 842,36 ± 10,67 | 1376,38 ± 365,81 | 589,87 ± 75,4 |

*Varianta 1 – bez teploty + kys. benzoová (150 mg/L); Varianta 2 – bez teploty + sorbát sodný (300 mg/L); Varianta 3 – 64 °C; Varianta 4 – bez ošetření

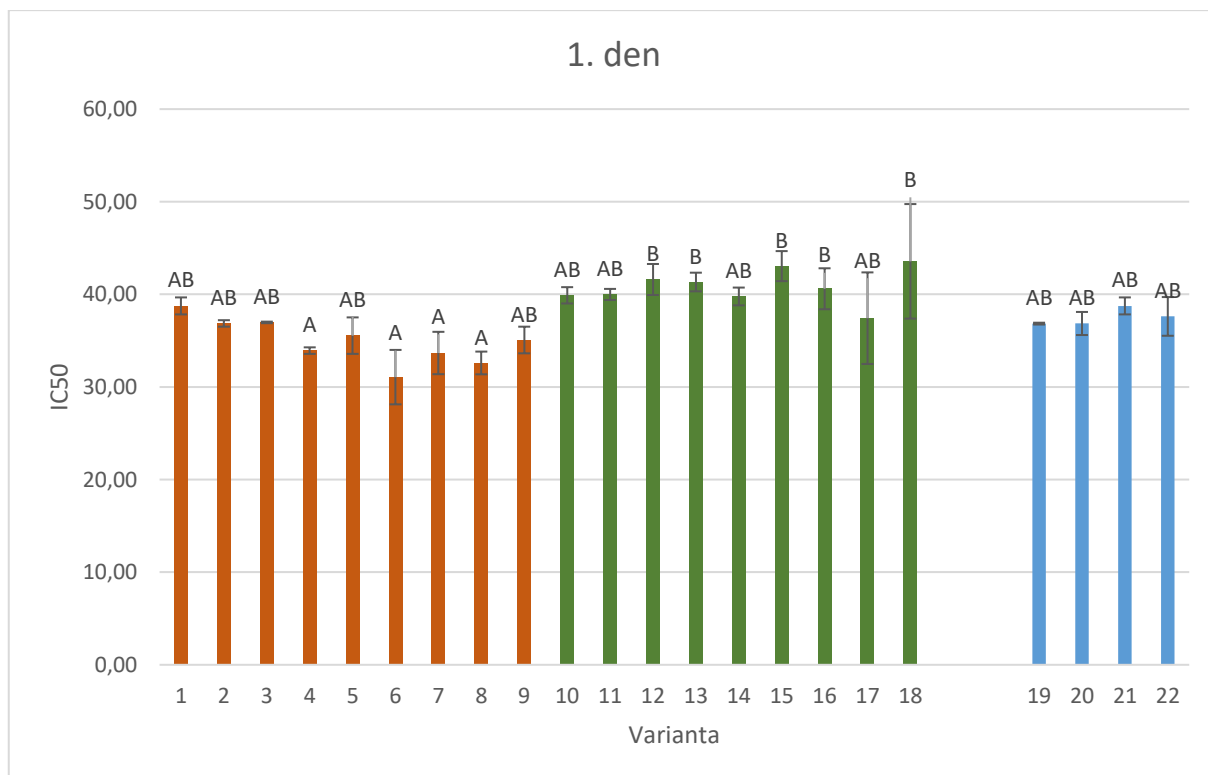
*Různá písmena v názvu každého sloupce ukazují statisticky významné rozdíly (p < 0,05; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

5.2 Antioxidační aktivita

V rámci prvního dne měření (Obrázek 13) byla nejnižší IC_{50} zjištěna u varianty vzorků ošetřených 60 °C a koncentrací 64 $\mu\text{g/mL}$ silice ze skořice ($31,06 \pm 2,94 \mu\text{L/mL}$), následované variantou vzorků ošetřených 64 °C a koncentrací 128 $\mu\text{g/mL}$ silice ze skořice ($32,59 \pm 1,23 \mu\text{L/mL}$) a variantou vzorků ošetřených na 64 °C a koncentrací 256 $\mu\text{g/mL}$ silice ze skořice ($33,67 \pm 2,29 \mu\text{L/mL}$). Vyšší antioxidační aktivitu tedy dosahovaly vzorky se silicí ze skořice, které byly srovnatelné s kontrolními vzorky neošetřených teplotou (Tabulka 12), což byl trend ve všech měřených dnech. Kompletní výsledky antioxidační aktivity všech testovaných variant jsou shrnuty v Tabulce 14 a Tabulce 15.

Z výsledků všech měřených dní měly tepelně neošetřené vzorky vyšší antioxidační aktivitu než vzorky ošetřené na 54–64 °C. Statistický rozdíl teplotních variant je ukázán v Tabulce 13.

Obrázek 13 Obrázek grafu výsledků DPPH prvního dne měření, vyjádřené jako IC_{50} v $\mu\text{L/mL}$ moštu.



*Var. 1-9 – se skořicí; Var. 10-18 s citr. trávou; Var. 1-3 & 10-12 – 54 °C; Var. 4-6 & 13-15 – 60 °C; Var. 7-9 & 16-18 – 64 °C; Var. 1,4,7,10,13,16 – 256 $\mu\text{g/mL}$;

*Var. 2,5,8,11,14,17 – 128 $\mu\text{g/mL}$; Var. 3,6,9,12,15,18 – 64 $\mu\text{g/mL}$

Tabulka 12 Srovnání použitých silic a kontrolních variant bez nich.

| Bez silice | Skořice | Citrónová tráva |
|------------|---------|-----------------|
| A | A | B |

*Různá písmena v tabulce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 13 Rozdíl jednotlivých tepelných ošetření na antioxidační aktivitu.

| 0 °C | 54 °C | 60 °C | 64 °C |
|------|-------|-------|-------|
| A | B | B | B |

*Různá písmena v tabulce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 14 Výsledky antioxidační aktivity ve zkoumaných variantách, vyjádřeny jako IC50 v $\mu\text{L}/\text{mL}$ moštu.

| Varianta | 1. den ^{cde} | 3. den ^a | 4. den ^b | 6. den ^f | 8. den ^{ce} | 12. den ^{cd} | 18. den ^{cde} | 29. den ^g |
|----------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|
| 1 | 38,75 ± 0,92 | 34,06 ± 2,27 | 32,4 ± 1,03 | 42,03 ± 1,76 | 40,43 ± 1,37 | 41,9 ± 1,45 | 37,82 ± 1,37 | 52,78 ± 6,14 |
| 2 | 36,86 ± 0,35 | 34,78 ± 1,71 | 34,62 ± 4,1 | 44,35 ± 0,24 | 38,96 ± 0,57 | 41,71 ± 1,67 | 41,04 ± 2,2 | 49,62 ± 2,12 |
| 3 | 36,97 ± 0,08 | 38,18 ± 1,13 | 34,59 ± 2,34 | 49,43 ± 2,02 | 41,6 ± 3,07 | 42,14 ± 3,18 | 44,43 ± 3,24 | 52,63 ± 3,42 |
| 4 | 33,92 ± 0,35 | 26,12 ± 2,69 | 32,59 ± 1,7 | 43,32 ± 1,39 | 39,66 ± 1,89 | 43,41 ± 2,46 | 39,49 ± 1,49 | 50,53 ± 1,83 |
| 5 | 35,54 ± 1,97 | 25,84 ± 1,62 | 33,12 ± 1,07 | 47,34 ± 2,01 | 41,17 ± 2,11 | 43,38 ± 3,62 | 39,99 ± 1,54 | 50,7 ± 1,55 |
| 6 | 31,06 ± 2,94 | 26,53 ± 1,88 | 33,24 ± 0,76 | 47,37 ± 2,14 | 40,03 ± 1,24 | 42,48 ± 1,23 | 42,78 ± 2,06 | 56,58 ± 3,03 |
| 7 | 33,67 ± 2,29 | 28,17 ± 0,66 | 33,21 ± 2,28 | 43,09 ± 2,53 | 40,33 ± 2,86 | 41,38 ± 3,15 | 40,26 ± 2,32 | 50,75 ± 4,96 |
| 8 | 32,59 ± 1,23 | 28,84 ± 0,92 | 34,1 ± 0,27 | 43,43 ± 2,54 | 44,63 ± 0,41 | 41,33 ± 1,48 | 38,13 ± 0,48 | 51,31 ± 1,83 |
| 9 | 35,07 ± 1,44 | 29,31 ± 0,14 | 36,14 ± 0,67 | 45,48 ± 1,4 | 44,34 ± 1,23 | 37,76 ± 1,21 | 41,44 ± 1,36 | 59,49 ± 1,81 |
| 10 | 39,9 ± 0,88 | 31,22 ± 1,63 | 39,51 ± 1,44 | 48,41 ± 2,13 | 44,13 ± 0,18 | 39,95 ± 2,22 | 41,65 ± 0,95 | 60,03 ± 2,32 |
| 11 | 39,99 ± 0,6 | 28,94 ± 1,41 | 36,77 ± 1,42 | 56,31 ± 4 | 40,3 ± 1,88 | 39,96 ± 2,15 | 37,49 ± 1,11 | 53,42 ± 2,13 |
| 12 | 41,6 ± 1,67 | 30,19 ± 0,77 | 36,45 ± 2,9 | 53,71 ± 0,46 | 37,5 ± 2,64 | 40,03 ± 1,5 | 40,51 ± 1,13 | 56,76 ± 3,59 |
| 13 | 41,33 ± 1,01 | 30,17 ± 2,21 | 37,59 ± 0,42 | 60,76 ± 10,01 | 44,02 ± 1,36 | 50,18 ± 0,71 | 47,04 ± 1,1 | 59,89 ± 1,39 |
| 14 | 39,77 ± 0,96a | 29,06 ± 0,9 | 35,1 ± 1,21 | 52,19 ± 1,2 | 43,97 ± 1,34 | 46,5 ± 1,98 | 41,24 ± 0,85 | 58,68 ± 2,34 |
| 15 | 43,05 ± 1,62 | 28,36 ± 0,69 | 38,11 ± 2,43 | 52,5 ± 5,96 | 44,98 ± 2,01 | 49,11 ± 2,36 | 42,54 ± 0,73 | 62,58 ± 5,06 |
| 16 | 40,6 ± 2,21 | 27,76 ± 0,18 | 46,11 ± 5,36 | 52,24 ± 0,55 | 44,08 ± 2,44 | 47,55 ± 1,69 | 45,96 ± 1,44 | 64,04 ± 3,6 |
| 17 | 37,43 ± 4,94a | 27,7 ± 1,38 | 43,45 ± 9,06 | 53,16 ± 6,98 | 44,12 ± 2,19 | 52,12 ± 6,18 | 40,1 ± 2,99 | 57,34 ± 5,63 |
| 18 | 43,56 ± 6,18 | 27,03 ± 0,04 | 41,12 ± 5,57 | 64,54 ± 10,93 | 44,43 ± 1,19 | 49,61 ± 0,83 | 43,71 ± 2,02 | 58,98 ± 5,65 |

*Var. 1-9 – se skořicí; Var. 10-18 s citr. trávou; Var. 1-3 & 10-12 – 54 °C; Var. 4-6 & 13-15 – 60 °C; Var. 7-9 & 16-18 – 64 °C; Var. 1,4,7,10,13,16 – 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$;

*Var. 2,5,8,11,14,17 – 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Var. 3,6,9,12,15,18 – 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$

*Různá písmena v názvu každého sloupce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Tabulka 15 Výsledky antioxidační aktivity ve variantách kontrol, vyjádřeny jako IC50 v $\mu\text{L}/\text{mL}$ moštu.

| Varianty kontrol | 1. den ^{cde} | 3. den ^a | 4. den ^b | 6. den ^f | 8. den ^{ce} | 12. den ^{cd} | 18. den ^{cde} | 29. den ^g |
|------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|
| 1 | 36,84 ± 0,1 | 26,92 ± 1,72 | 32,95 ± 1,73 | 52,01 ± 7,18 | 33,64 ± 1,57 | 34,7 ± 0,27 | 33,11 ± 2,15 | 43,22 ± 2,61 |
| 2 | 36,85 ± 1,25a | 23,77 ± 0,46 | 28,01 ± 0,52 | 37,21 ± 2,25 | 32,47 ± 2,14 | 35,77 ± 1,6 | 32,6 ± 0,98 | 44,61 ± 1,93 |
| 3 | 38,75 ± 0,92a | 36,23 ± 1,31 | 39,26 ± 0,43 | 47,8 ± 0,56 | 43,31 ± 2,3 | 46,6 ± 0,39 | 46,75 ± 1,64 | 56,43 ± 1,11 |
| 4 | 37,62 ± 2,09a | 34,86 ± 1,18 | 30,46 ± 0,49 | 44,21 ± 0,51 | 32,2 ± 1,69 | 36,32 ± 0,64 | 29,76 ± 0,41 | 41,7 ± 0,39 |

*Varianta 1 – bez teploty + kys. benzoová (150 mg/L); Varianta 2 – bez teploty + sorbát sodný (300 mg/L); Varianta 3 – 64 °C; Varianta 4 – bez ošetření

*Různá písmena v názvu každého sloupce ukazují statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

5.3 Degradace betaninu

Výsledky celkového obsahu betaninu v jablečno-řepném moštu jsou ukázány v Tabulce 16. Statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) byl prokázán u všech sledovaných parametrů – času skladování, teplotě a obsahu silice z citrónové trávy. V prvním dni měření byl nejvyšší obsah betaninu naměřen u neošetřených vzorků ($49,9 \pm 0,62$ mg/mL). Vzorky ošetřené teplotou $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu deseti minut měly obsah $45,25 \pm 1,02$ mg/mL a vzorky ošetřené teplotou $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ a koncentrací $256\text{ }\mu\text{g/mL}$ silice z citrónové trávy měly obsah betaninu $38,35 \pm 0,87$ mg/mL. Degradace betaninu v čase je ukázána v Obrázku 14. Na začátku i v průběhu pokusu měly nejvyšší obsah betaninu vzorky varianty vzorků bez ošetření (Tabulka 16). Nejmenší hodnoty změřeného betaninu po celou dobu měření dosahovaly vzorky varianty vzorků ošetřených na $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ a koncentrací $256\text{ }\mu\text{g/mL}$ silice z citrónové trávy, kde zároveň došlo k jeho největší degradaci (78,85%), ve variantě vzorků ošetřených na $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ došlo k 66,9% degradaci a ve variantě vzorků bez ošetření došlo k 42,93% degradaci.

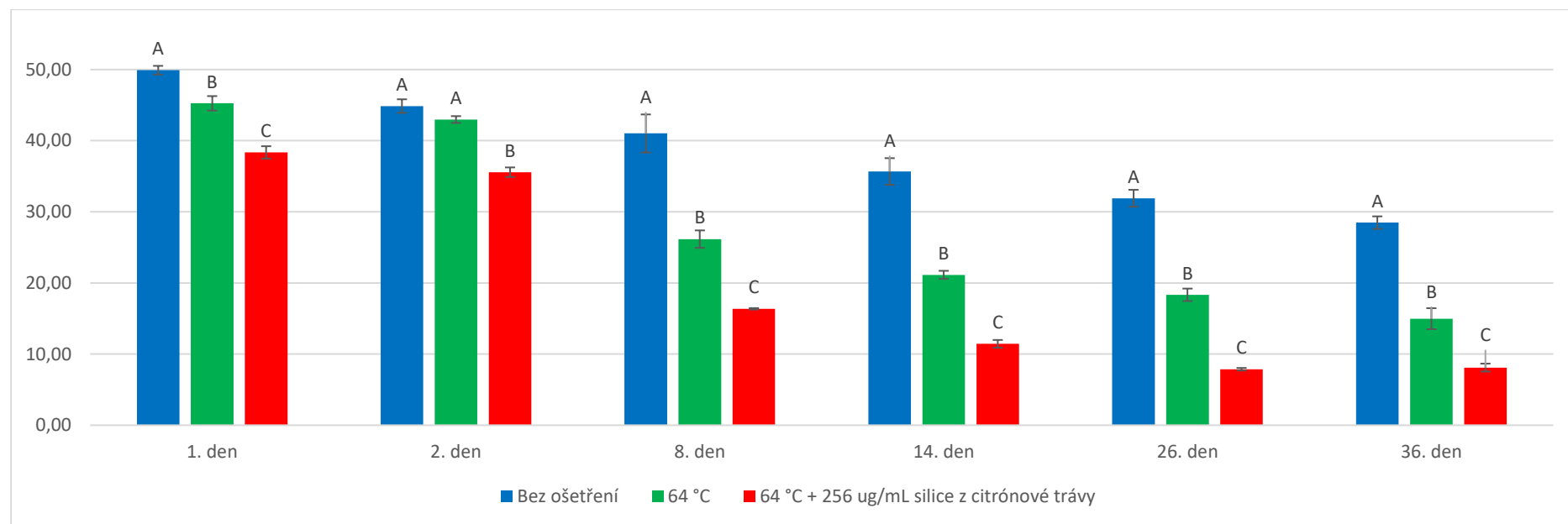
Tabulka 16 Výsledky obsahu betaninu ve zkoumaných variantách, vyjádřeny v mg/mL.

| Varianta | 1. den ^a | 2. den ^a | 8. den ^b | 14. den ^{bc} | 26. den ^{bc} | 36. den ^c |
|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| 1 ^a | 49,9 ± 0,62 | 44,86 ± 0,95 | 41,02 ± 2,67 | 35,66 ± 1,88 | 31,91 ± 1,19 | 28,48 ± 0,89 |
| 2 ^b | 45,25 ± 1,02 | 42,98 ± 0,47 | 26,16 ± 1,23 | 21,14 ± 0,57 | 18,34 ± 0,88 | 14,98 ± 1,47 |
| 3 ^c | 38,35 ± 0,87 | 35,57 ± 0,67 | 16,37 ± 0,1 | 11,44 ± 0,55 | 7,87 ± 0,18 | 8,11 ± 0,56 |

*Varianta 1 – bez ošetření; Varianta 2 – 64 °C; Varianta 3 – 64 °C + 256 µg/mL silice z citrónové trávy

*Různá písmena ukazují statisticky významné rozdíly (p <0,05; ANOVA s Tuckeyho Post-hoc testem)

Obrázek 14 Degradace betaninu ve třech různých variantách v závislosti na čase.



*Různá písmena v názvu každého sloupce ukazují statisticky významné rozdíly v každém dni zvlášť (p <0,05)

6 Diskuze

Používání esenciálních olejů jako funkčních složek v potravinách, nápojích a kosmetických výrobcích získává stále větší popularitu jak pro rostoucí zájem spotřebitelů o přísady z přírodních zdrojů, tak i pro rostoucí obavy z potenciálně škodlivých syntetických přísad (Sacchetti et al., 2005). Cílem této práce je zhodnotit vliv silic na celkový obsah fenolických látek a antioxidační aktivitu v jablečno-řepném moštu. Existuje mnoho studií, které porovnávají antimikrobiální vlastnosti silic, ale jejich vliv na dříve zmíněné parametry v ovocných a zeleninových šťávách není mnoho prozkoumán.

6.1 Celkový obsah fenolických látek

Výsledky obsahu fenolických látek v jablečno-řepném moštu ukazují, že se jejich obsah může lišit v závislosti na použité silici a tepelném ošetření. Vzorky se silicí z kůry skořice měly vyšší obsah fenolických látek než vzorky, kde byla použita silice z citrónové trávy. Obě silice však měly menší obsah fenolických látek než kontrolní varianty bez nich. Z výsledků dále vyplývá, že teplota hrála důležitou roli v obsahu fenolických látek. Kontrolní varianty, které nebyly tepelně ošetřeny měly vyšší obsah fenolických látek než všechny tři teplotní kombinace. Toto tvrzení potvrzuje studie Klimczaka et al. (2007), kteří konstatovali, že obsah polyfenolů v pomerančových šťávách byl nejvíce ovlivněn teplotou a časem skladování. Tuto teorii také potvrzuje studie, kterou provedli Larrauri et al. (1997) ve které zjistili, že při tepelném zahřívání (100–140 °C) výlisků z červených hroznů, došlo k významné redukci obsahu polyfenolů a konstatovali, že tepelný rozklad je hlavní mechanismus jejich degradace.

Výsledek prvního dne měření u neošetřeného jablečno-řepného moštu byl $695,99 \pm 9,92$ mg GAE/L. Gardner et al. (2000) měřil obsah fenolických látek v některých ovocných džusech a u jablečného džusu naměřil 358 ± 5 mg GAE/L a u pomerančového džusu 755 ± 18 mg GAE/L. Wootton-Beard et al. (2011) také měřil obsah fenolických látek a naměřil u dvou druhů džusů z červené řepy $977,2 \pm 5,2$ až $1450,3 \pm 42,1$ mg GAE/L. Z toho je vidět, že džusy z červené řepy mají vyšší obsah fenolických látek. To odpovídá hodnotám naměřeným v této práci, jelikož řepná složka obsahovala pouze 20 % a zbytek tvořila složka jablečná. Rekha et al. (2012) porovnávali obsah fenolických látek šťáv z nezralých a zralých citrusů, a jejich výsledky se pohybovaly mezi 532 až 960 mg GAE/L, což má srovnatelné výsledky s jablečno-

řepným moštem. Vyšší hodnoty obsahoval grepový džus, který měřili Burin et al. (2010), jejichž hodnoty se pohybovali od 1117,10 do 3433,04 mg GAE/L.

6.2 Antioxidační aktivita

Hlavní důvod, proč se v některých studiích (Friedman et al., 2004; Raybaudi-Massilia et al., 2006) testovaly silice v ovocných šťávách, je jejich antimikrobiální činnost. Příkladem je studie Friedmana et al. (2004), kde testovali 17 rostlinných silic v jablečné šťávě proti *Escherichia coli* a *Salmonella enterica*. Silice z citrónové trávy a skořice patřily mezi 10 nejaktivnějších. Několik studií prokázalo, že silice mohou mít také antioxidační vlastnosti. Tyto vlastnosti jsou způsobeny vlastní schopností některých jejich složek, zejména fenolických látek, které mohou zastavit nebo zpomalit aerobní oxidaci organické hmoty (Amorati et al., 2013). V poslední době bývají srovnávány se syntetickými antioxidanty, mezi které patří například butylovaný hydroxyanisol (BHA) a butylovaný hydroxytoluen (BHT). Na oba syntetické antioxidanty jsou rozporuplné názory. Babich (1982) uvádí, že laboratorní testy na zvířatech způsobily jak škodlivé, tak i příznivé účinky BHT. Výzkum, který provedl Yu et al. (2018), prokázal, že při dávce 2,32-23,8 mg BHT/kg váhy/den se u Okounka pstruhového (*Micropterus salmoides*) zlepšil metabolismus tuků a antioxidační a jejich anti-apoptická odezva. Panicker et al. (2014) naopak svým výzkumem na myších konstatovali, že BHT indukuje silný hepatotoxický účinek. Kahl et al. (1993) publikovali toxikologii BHA i BHT a uvádí, že BHA i BHT jsou promotéry nádorů, ale zároveň i mají antikancerogenní vlastnosti. Nicméně konstatovali, že koncentrace obou antioxidantů, které se používají v potravinách, jsou pravděpodobně neškodné.

Baratta et al. (1998) testovali antimikrobiální a antioxidační vlastnosti silic ze skořice, bazalky, citrónové trávy, citrónu, kadidla, majoránky a rozmarýnu, a zároveň tyto silice porovnávali s α -tokoferolem (vitamin E) a BHT. Zjistili, že silice z majoránky měla nejvyšší antioxidační aktivitu, která byla vyšší než α -tokoferol a srovnatelná s BHT. V jejich studii silice z citrónové trávy vykazovala silnou prooxidační aktivitu ve všech testovaných koncentracích. Antioxidační aktivita rozdílných silic se tedy může podle složení lišit. To dokazuje výsledek této studie, silice z kůry skořice měla v průměru vyšší antioxidační aktivitu než silice z citrónové trávy a zároveň měla srovnatelné výsledky se všemi variantami použitých kontrol. Silice z citrónové trávy měla v průměru nižší antioxidační aktivitu než kontrolní varianty.

Víno je díky velkému obsahu fenolických sloučenin považováno za silný antioxidant (Teixeira et al., 2014). Tauchen et al. (2015) testovali antioxidační aktivitu gruzínských,

středoevropských a západoevropských vín. Výsledky ukázaly, že vína měla přibližně čtyřikrát větší antioxidační aktivitu v porovnání s jablečno-řepným moštem, použitým v této práci. Wootton-Beard et al. (2011) testovali antioxidační kapacitu 23 komerčně dostupných zeleninových šťáv a zjistili, že šťávy z červené řepy nejlépe inhibovaly radikál DPPH a v porovnání s moštem v našem experimentu měly o mnoho vyšší antioxidační aktivitu. Naopak porovnání tohoto moštu a pomerančové šťávy, který testovali Stella et al. (2011), ukázalo, že pouze jeden ze tří testovaných pomerančových šťáv měl srovnatelnou antioxidační aktivitu. Zbylé dvě pomerančové šťávy měly nižší antioxidační aktivitu.

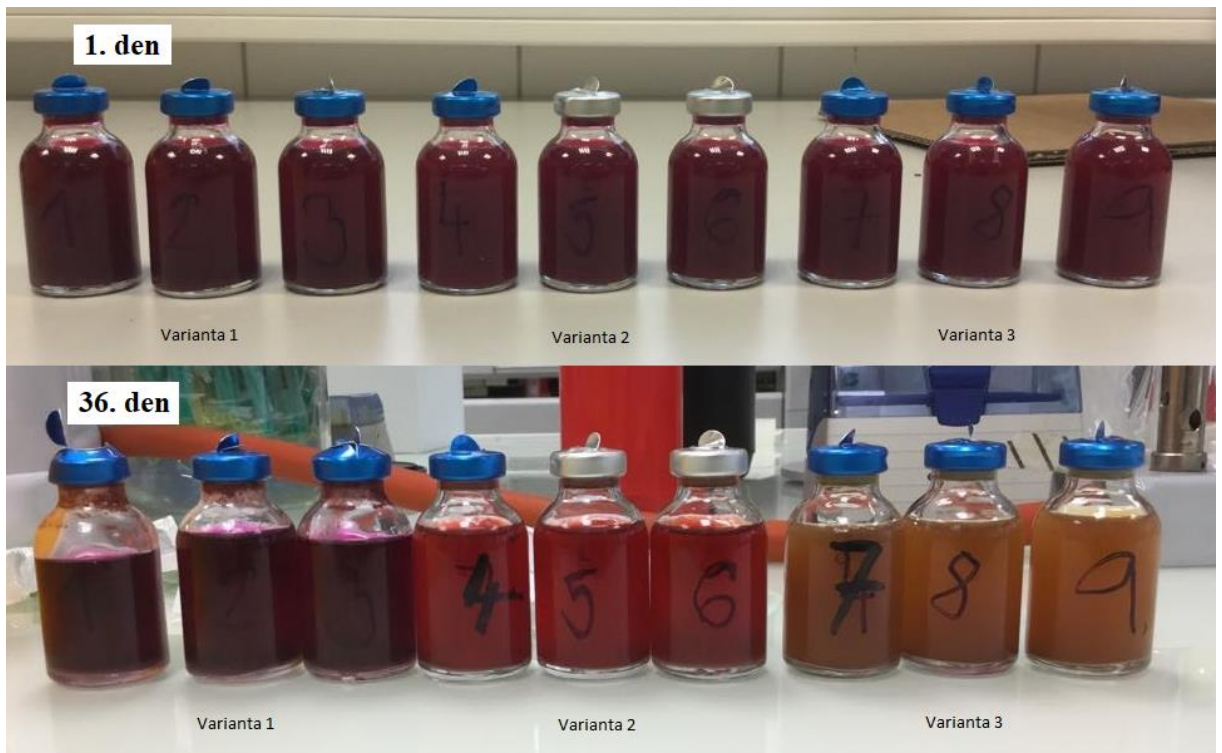
Variety ošetřené na všechny tři druhy teplot (54, 60, 64 °C) měly v průměru nižší antioxidační aktivitu než kontrolní varianty bez tepelného ošetření, což potvrzuje očekávání, že teplota může negativně ovlivnit obsah antioxidantů. Podle studie, kterou provedl Larrauri et al. (1997), se v sušených slupkách červeného vína, snížila antioxidační aktivita při sušení slupek na 100 °C a 140 °C o 28 % a 50 %.

6.3 Degradace betaninu

V dřívějších studiích bylo zaznamenáno, že zvýšená teplota může urychlit degradaci betaninu, který regeneruje do dvou produktů v nestabilní formě, žlutou kyselinu betalainovou a bezbarvý cyklo-dopa-5-*O*-glykosid. Během tepelného zpracování se betanin může degradovat izomerací, dekarboxylací nebo štěpením, což vede k postupnému snížení červené barvy, a nakonec k světle hnědé barvě (Reshmi et al., 2012). To bylo potvrzeno v našem experimentu a barevná změna je viditelná na Obrázku 15. Von Elbe et al. (1974) zahřívali betaninové roztoky a zjistili, že zahřívání způsobilo ztrátu červené barvy a roztoky nakonec zbledly do světle hnědé. Zároveň došlo při zahřívání na 129 °C po dobu 30 minut k degradaci betaninu o 52 %. V této diplomové práci došlo při zahřívání vzorků varianty vzorků ošetřených 64 °C po dobu deseti minut k degradaci betaninu v průměru o 9,32 % více než u vzorků tepelně neošetřených a u vzorků varianty vzorků zahříváných na 64 °C po dobu deseti minut a koncentrací 256 µg/mL silice z citrónové trávy k degradaci v průměru o 23,15 % více. Karthiga et al. (2012) testovali stabilitu betakyaninových pigmentů a zjistili, že pokud byly vzorky skladovány při světle, docházelo k vyšším hodnotám degradace než při skladování v temnu. Podle studie Vilece et al. (1955) docházelo ke zvýšení degradace betakyaninů v přítomnosti světla o 15,6 %. Všechny vzorky v této práci byly skladovány v temnu, tudíž se dá předpokládat, že pokud by byly skladovány na světle po celou dobu sledování, došlo by k větší degradaci. Během experimentu se u neošetřených vzorků objevilo bouřlivé kvašení, které ovlivnilo vlastnosti daných vzorků.

Zvyšující koncentrace ethanolu způsobila usmrcení mikroorganismů v ovocném moštu a způsobila konzervaci daných vzorků. O alkoholu je známo, že má dezinfekční nebo antiseptické vlastnosti a má destruktivní účinky proti vegetativním buňkám a v menší míře tak působí i proti sporám (Russell and Gould, 2003). Wybraniec et al. (2013) však uvádí, že přítomnost organických rozpouštědel (methanol, ethanol a acetonitril) a kovových kationtů způsobuje vyšší degradační účinek betaninu než ve vodných roztocích. Nicméně, jak již bylo zmíněno výše, většina teorií souhlasí s tím, že nejvyšší vliv na degradaci betaninu má teplota, a nejspíše proto byl betanin v tepelně ošetřených vzorcích více degradován.

Obrázek 15 Porovnání barevných změn připravených vzorků.



*Varianta 1 – bez ošetření; Varianta 2 – 64 °C Varianta 3 – 64 °C + 256 µg/mL silice z citrónové trávy

7 Závěr

V několika posledních desetiletích se stále více objevují tendence nahrazovat látky chemické či uměle vyrobené látkami přírodními. Jednou z možností je využití rostlinných silic, u kterých bylo mimo jiné dokázáno, že mají antioxidační vlastnosti a díky svým fenolickým funkčním skupinám mohou zlepšovat polyfenolický profil upravovaných potravin a nápojů, což má za následek snížení pravděpodobnosti vzniku některých onemocnění.

Mezi nápoje, kde by se mohly uplatnit rostlinné silice, patří ovocné a zeleninové šťávy, a právě to se stalo předmětem této diplomové práce.

Z výsledků vyplynulo, že hlavním faktorem, který ovlivňoval obsah fenolických látek v jablečno-řepném moštu byla teplota. Neošetřené vzorky, v porovnání a s ohledem na statistické vyhodnocení, vykazovaly vyšší obsah fenolických látek jak proti nejnižší (54 °C), tak i proti nejvyšší (64 °C) použité teplotě. Varianty, ve kterých byly použity silice, měly menší obsah fenolických látek a z použitých silic měly vyšší obsah varianty se silicí z kůry skořice. Mezi použitými koncentracemi silic nebyl žádný významný rozdíl.

Výsledky antioxidační aktivity ukázaly, že stejně jako v případě obsahu fenolických látek, antioxidační aktivita je ve velké míře ovlivněna teplotou. Bylo statisticky potvrzeno, že teplotně neošetřené varianty se od ostatních významně lišily, ale mezi 54 až 64 °C žádný rozdíl nevznikl. Varianty, ve kterých byla použita silice ze skořice měly vyšší antioxidační aktivitu, a i když byly všechny její varianty tepelně ošetřeny, ukázaly, že mají srovnatelnou antioxidační aktivitu jako vzorky tepelně neošetřené. Varianty s přidanou silicí z citrónové trávy měly nižší antioxidační aktivitu než všechny výše zmíněné varianty. Z toho se dá odvodit, že silice z kůry skořice, která se používá v potravinářství hlavně kvůli své typické vůni, by mohla být využita pro konzervování potravin s tepelnou úpravou.

Dále byla prokázána termolabilita betaninu. Tepelně ošetřené vzorky měly vyšší procento degradace v porovnání s neošetřenými. Přidání silice z citrónové trávy do tepelně ošetřených vzorků měly ještě vyšší procento degradace.

Hypotéza této diplomové práce zní: Jablečno-řepný mošt ošetřený nižší pasterační teplotou s přidáním silic bude vykazovat vyšší antioxidační aktivitu i celkový obsah fenolických látek. Vzhledem ke zjištěným výsledkům nelze tuto hypotézu potvrdit. Obsah fenolických látek byl nižší u obou použitých silic a v případě antioxidační aktivity pouze silice ze skořice ukázala srovnatelné výsledky s neošetřenými variantami a variantou ošetřenou pouze na 64 °C.

Stojíme na počátku cesty, která může vést k nahrazení syntetických konzervantů a antioxidantů. Do budoucnosti bude potřeba prozkoumat více kombinací teplot, použitých silic a jejich kombinací. Výběr silic je důležitý sloučit se sensorickými vlastnostmi, ať už se jedná o barevnou změnu, chuť nebo vůni výsledných výrobků. Zároveň bude důležité vybrat takové postupy a kombinace, které budou použitelné i v praxi.

8 Seznam použité literatury

Abdalla, A. E., Roozen, J. P. 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*. 64. p. 323–329.

Agullo, G., Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Viala, C., Rémésy, Ch., Chap, H., Payrastre, B. 1997. Relationship Between Flavonoid Structure and Inhibition of Phosphatidylinositol 3-Kinase: A Comparison with Tyrosine Kinase and Protein Kinase C Inhibition. *Biochemical Pharmacology*. 53. p. 1649–1657.

Akri, S., Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*. 2. p. 129–129.

Amorati, R., Foti, M. C., Valgimigli, L. 2013. Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61 (46). p. 10835–10847.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. 2001. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*. 127. p. 183–198.

Aruoma, O. I., Halliwell, B. 1991. *Free Radicals and Food Additives*. New York: Taylor & Francis. p. 201. ISBN: 0-85066-766-6.

Ayres, D. C., Loike, J. D. 1990. *Lignans: chemical, biological, and clinical properties*. New York: Cambridge University Press. p. 402. ISBN: 0521304210 9780521304214.

Azeredo, H. M. C., Santos, A. N., Souza, A. C. R. 2007. Betacyanin Stability During Processing and Storage of a Microencapsulated Red Beetroot Extract. *American Journal of Food Technology*. 2 (4). p. 307–312.

Azeredo, H. M. C. 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability. *International Journal of Food Science & Technology*. 44 (12). p. 2365–2376.

Babich, H. 1982. Butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *Environmental Research*. 29. p. 1–29.

Bagchi, K., Puri, S. 1998. Free radicals and antioxidants in health and disease. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*. 4 (2). p. 350–360.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46. p. 446–475.

Baratta, M. T., Dorman, D., Deans, S. G., Figueiredo, C., Barroso, J. G., Ruberto, G. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 13. p. 235–244.

Barnham, K. J., Masters, C. L., Bush, A. I. 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Reviews Drug Discovery*. 3. p. 205–214.

Bavaresco, L., Fregoni, C., Cantú, E., Trevisan, M. 1999. Stilbene compounds: from the grapevine to wine. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*. 25 (2-3). p. 57–63.

Berenson, G. S., Srinivasan, S. R., Bao, W., Newman, W. P., Tracy, R. E., Wattigney, W. A. 1998. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. *The New England Journal of Medicine*. 338. p. 1650–1656.

Bitsch, R., Netzel, M., Carlé, E., Strass, G., Kesenheimer, B., Herbst, M., Bitsch, I. 2001. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 1. p. 245–249.

Breitmaier, E. 2006. Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. Wiley-VCH. p. 223. ISBN: 9783527609949

Blake, D.R., Allen, R.E., Lunec, J. 1987. Free radicals in biological systems- a review orientated to inflammatory processes. 43 (2). p. 371–385.

- Burin, V. M., Falcao, L. D., Gonzaga, L. V., Fett, R., Rosier, J. P., Bordignon-Luiz, M. T. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. *Food Science and Technology*. 30 (4).
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94. p. 223-253.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*. 56. p. 317-333.
- Caballero, B., Trugo, L.C., Finglas, P.M. 2003. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Amsterdam: Academic Press. Vol. 1-10. ISBN 012227055X.
- Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W., Corke, H. 2001. Stability and Colorant Properties of Betaxanthin Pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (9). p. 4429-4435.
- Cai, Y., Sun, M., Corke, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 51. p. 2288-2294.
- Carson, C.F., Mee, B.J., Ryley, T.V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46. p. 1914-1920.
- Cirillo, G., Kraemer, K., Fuessel, S., Puoci, F., Curcio, M., Spizzirri, U. G., Altamari, I., Iemma, F. 2010. Biological Activity of a Gallic Acid-Gelatin Conjugate. *Biomacromolecules*. 11 (12). p. 3309-3315.
- Conner, E. M., Grisham, M. B. 1996. Inflammation, Free Radicals, and Antioxidants. *Nutrition*. 12 (4). p. 274-277.
- Cook, N. C., Samman S. 1996. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 7 (2). p. 66-76.

Crespy, V., Aprikian, O., Morand, C., Besson, C., Manach, C., Demigné, C., Rémésy, C. 2001. Bioavailability of Phloretin and Phloridzin in Rats. *The Journal of Nutrition*. 131. p. 3227–3230.

Crozier, A., Jaganath I. B., Clifford, M. N. 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*. 8 (26). p. 965–1096.

Czapski, J., Mikolajczyk, K., Kaczmarek, M. 2009. Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 59 (2). p. 119–122.

Čopíková, J., Uher, M., Lapčík, O., Moravcová, J., Drašar, P. 2005. Přírodní barevné látky. *Chemické Listy*. 99. 802–816 s.

Čopíková, J., Lapčík, O., Uher, M., Moravcová, J., Drašar, P. 2006. Cukerná nesacharidová sladidla a příbuzné látky. *Chemické listy*. 100. 778–783 s.

Daher, D., Le Gourrierc, S., Pérez-Lamela, C. 2017. Effect of High Pressure Processing on the Microbial Inactivation in Fruit Preparations and Other Vegetable Based Beverages. *Agriculture*. 7. p. 1–18.

De Cássia da Silveira e Sá, R., Nalone Andrade, L., Dos Reis Barreto de Oliveira, R., Pergentino de Sousa, D. 2014. A Review on Anti-Inflammatory Activity of Phenylpropanoids Found in Essential Oils. *Molecules*. 19. p. 1459–1480.

Deans, S., Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 5. p. 165–180.

Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eukalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74. p 101–109.

Dewick, P. M. 2009. Medicinal natural products: A biosynthetic approach, 3rd ed. Wiley & Sons, Chichester, UK. p. 509.

Dilas, S. M., Čanadanović-Brunet, J. M., Četković, G.S. 2002. Antioxidants in food. *Hemijska industrija*. 56. p 105–112.

Duthie, G. G., Gardner, P. T., Kyle J. A. M. 2003. Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*. 62 (3). p. 599–603.

Endell, W., Seidel, G. 1978. Coumarin Toxicity in Different Strains of Mice. *Agents and Actions*. 8 (3). p. 299–300.

Erkmen, O., Bozoglu, T.F. 2016. Food Preservation by Reducing Water Activity. *Food Microbiology: Principles into Practice*. p. 44–58.

Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B., Rimbach, G. 2015. Betanin- A food colorant with biological activity. *Mol. Nutr. Food Res*. 59. p. 36–47.

Farkas, J. 2007. Physical Methods of Food Preservation. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. p. 685–712.

Forman, H. J., Torres, M. 2002. Reactive Oxygen Species and Cell Signaling Respiratory Burst in Macrophage Signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 166. p. S4–S8.

Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., Mandrell, R. E. 2004. Antibacterial Activities of Plant Essential Oils and Their Components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in Apple Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (19). p. 6042–6048.

Fujii, J., Luchi, Y., Matsuki, S., Ishii, T. 2003. Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. *Asian Journal of Andrology*. 5. p. 231–242.

Gardner, P. T., White, T. A. C., McPhail, D. B., Duthie, G. G. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*. 68. p. 471–474.

Gonçalves, L. C. P., Trassi, M. A. S., Lopes, N. B., Dörr, F. A., dos Santos, M. T., Baader, W. J., Oliveira Jr., V. X., Bastos, E. L. 2012. A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry*. 131. p. 231–238.

Gordon, H. T., Bauernfeind, Ch., Furia, T. E. 2009. Carotenoids as food colorants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 18 (1). p. 59–97.

Gould, G.W. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*. 33. p. 51–64.

Guimarães, A. G., Quintans, J. S. S., Quintans-Júnior, L. J. 2012. Monoterpenes with analgesic Activity – A systematic review. *Phytotherapy Research*. 27 (1). p. 1–15.

Gustafson, J.E., Liew, Y.C., Chew, S., Markham, J.L., Bell, H.C., Wyllie, S.G., Warmington, J.R. 1998. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol.* 26. p. 194–198.

Halliwel, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*. 344. p. 721–724.

Halliwel, B. 1995. How to characterize and antioxidant: and update. *Biochemical Society Symposia*. 61. p. 73–101.

Harrison, D., Griedling, K. K., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. 91 (3). p. 7–11.

Harmatha, J. 2002. Fenylylpropanoidy, lignany a jejich biologické účinky. *Chemie a biochemie přírodních látek. Cyklus Organická chemie*. 27 (4). 117–142 s.

- Harmer, R. A. 1980. Occurrence, chemistry and application of betanin. *Food Chemistry*. 5. p. 81–90.
- Havlíková, L., Míková, K., Kyzlink, V. 1983. Heat Stability of Betacyanins. *Z Lebensm Unters Forsch*. 177. p. 247–250.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem*. 53. p. 1841–1856.
- Huang, D., Luo, L., Jiang, C., Han, J., Wang, J., Zhang, T., Jiang, J., Zhou, Z., Chen, H. 2011. Sinapine Detection in Radish Taproot Using Surface Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59 (6). p. 2148–2156.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*. 3 (13). p. 1–24.
- Cheftel, J.C., Coulioli, J. 1997. Effects of High Pressure on Meat : A Review. *Meat Science*. 46. p. 211–236.
- Chong, J., Poutaraud, A., Huguene, P. 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*. 177. p. 143–155.
- Imbimbo, B. P., Lombard, J., Pomara, N. 2005. Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *Neuroimaging Clinics of North America*. 15 (4). p. 727–753.
- Inoue, M., Suzuki, R., Koide, T., Sakaguchi, N., Ogihara, Y., Yabu, Y. 1994. Antioxidant, gallic acid, induces apoptosis in HL-60RG cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 204 (2). p. 898–904.
- Jackman, R. L., Smith, J. L. 1996. Anthocyanins and betalains. *Natural Food Colorants*. p. 244–309.

- Jacob, R. A. 1995. The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*. 15. p. 755–766.
- Jayas, D. S., Jeyamkondan, S. 2002. Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. *Biosystems Engineering*. 82. p. 235–251.
- Kahl, R., Kappus, H. 1993. Toxikologie der synthetischen Antioxidantien BHA und BHT im Vergleich mit dem natürlichen Antioxidans Vitamin E. *Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 196. p. 329–338.
- Kahle, K., Kraus, M., Richling, E. 2005. Polyphenol profiles of apple juices. *Mol. Nutr. Food Res.* 49. p. 797–806.
- Kalemba, D., Kunicka, A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10. p. 813–829.
- Kanner, J., Harel, S., Granit, R. 2001. Betalains- A New Class of Dietary Cationized Antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 49. p. 5178–5185.
- Karthiga, R., Avarindhan, K. M., Devi, P. S. 2012. The effect of light, temperature, pH on stability of betacyanin pigments in *Bassella alba* fruit. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 5 (4). p. 107–110.
- Kaur, C., Kapoor, H. C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 37. p. 153–161.
- Kawamura, M., Heinecke, J. W., Chait, A. 1994. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *The Journal of Clinical Investigation*. 94 (2). p. 771–778.
- Kazimierzak, R., Silakiewicz, A., Hallmann, E., Średnicka-Tober, D., Rembalkowska, E. 2016. Chemical Composition of Selected Beetroot Juices in Relation to Beetroot Production System and Processing Technology. 44 (2). p. 491–498.

Klaunig, J. E. Kamendulis, L. M., Hocevar, B. A. 2010. Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis. *Toxicologic Pathology*. 38. p. 96–109.

Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M., Gliszczyńska-Świgło, A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20. p. 313–322.

Krebbers, B. Master, A.M., Koets, M., Van den Berg, R.W. 2001. Quality and storage-stability of high-pressure preserved green beans. *Journal of Food Engineering*. 54. p. 27–33.

Kujala, T. S., Vienola, M. S., Klika, K. D. 2002. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *Eur Food Res Technol*. 2014. p. 505–510.

Larrauri, J. A., Rupérez, P., Saura-Calixto. 1997. Effect of Drying Temperature on the stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45 (4). p. 1390–1393.

Lado, B.H., Yousef, A.E. 2002. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes and Infection*. 4. p. 433–440.

Lautié, E., Rozet, E., Hubert, P., Vandelaer, N., Billard, F., Felde, T. Z., Grüneberg, W. J., Quetin-Leclercq, J. 2013. Fast method for the simultaneous quantification of toxic polyphenols applied to the selection of genotypes of yam bean (*Pachyrhizus sp.*) seeds. *Talanta*. 117. p. 94–101.

Lawson, L.D., Hughes, B.G. 1991. Characterization of the Formation of Allicin and Other Thiosulfinates from Garlic. *Planta Medica*. 58 (4). p. 345–350.

Lea, A.G.H. 1992. Flavor, color and stability in fruit products: the effect of polyphenols. In *Plant Polyphenols*. 59. p. 827–847.

- Leng, B. F., Qiu, J. Z., Dai, X. H., Dong, J., Wang, J. F., Luo, M. J., Li, H. E., Niu, X. D., Zhang, Y., Ai, Y. X., Deng, X. M. 2011. Allicin Reduces the Production of α -Toxin by *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 16. p. 7958–7968.
- Lin, C.M., Preston III, J.F., Wei, C.I. 2000. Antibacterial Mechanism of Allyl Isothiocyanate. *Journal of Food Protection*. 63. p. 727–734.
- Liu, R. H. 2013. Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*. 4 (3). p. 384–392.
- Mabry, T. J., Taylor, A., Turner, B. L. 1963. The betacyanins and their distribution. *Phytochemistry*. 2 (1). p. 61–64.
- Mabry, T. J., Dreiding, A. S. 1968. The betalains. *Recent advances in Phytochemistry*. 1 (4). p. 145–159.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., Garg, M. L. 2006. Review Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86. p. 2046–2056.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, Ch., Rémésy, Ch. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 79. p. 727–747.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., Watkins, J. B. 2002. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 17 (1). p. 24–38.
- Markesbery, W. R. 1999. The Role of Oxidative Stress in Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 56. p. 1449–1452.
- Masella, R., Santangelo, C., D'Archivio, M., LiVolti, G., Giovannini, C., Galvano, F. 2012. Protocatechuic Acid and Human Disease Prevention: Biological Activities and Molecular Mechanisms. *Current Medicinal Chemistry*. 19 (18). p. 2901–2917.

- McGarvey, D.J., Croteau 1995. Terpenoid Metabolism. *The Plant Cell*. 7. p. 1015–1026.
- Miller, N., Diplock, A.T., Rice-Evans, C.A. 1995. Evaluation of the Total antioxidant Activity as a Marker of the Deterioration of Apple Juice on Storage. *J. Agric. Food. Chem.* 43. p. 1794–1801.
- Montville, T. J., and G. M. Sapers. 1981. Thermal resistance of spores from pH elevating strains of *Bacillus licheniformis*. *J. Food Sci.* 46. p. 1710–1712.
- Paibon, W., Yimmoi, C.A., Tembab, N., Boonlue, W., Jampachaisri, K., Nuengchammong, N., Waranuch, N., Ingkaninan, K. 2011. Comparison and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. *Int. J. Cosmet. Sci.* 33. p. 150–156.
- Patel, R. P., McAndrew, J., Sellak, H., White, C. R., Jo, H., Freeman, B. A., Darley-Usmar, V. M. 1999. Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1411. p. 385–400.
- Petersen, M., Simmonds, M. S. J. 2003. Rosmarinic acid. *Phytochemistry*. 62 (2). p. 121–125.
- Piattelli, M., Impellizzeri, G. 1969. Betacyanins from *Lampranthus* sp. (*Aizoaceae*). *Phytochemistry*. 8. p. 1595–1596.
- Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63. p. 1035–1042.
- Pisoschi, A. M., Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a Review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97. p. 55–74.
- Prokopov, T., Tanchev, S. 2007. *Methods of Food Preservation*. p. 23.
- Raudenská, J. 2011. Biopsychosociální model onkologického onemocnění. *Onkologie*. 5 (4). 244–246 s.

Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., Martín-Belloso, O. 2006. Antimicrobial Activity of Essential Oils on *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in Fruit Juices. *Journal of Food Protection*. 69 (7). p. 1579-1586.

Rekha, C., Poornima, G., Manasa, M., Abhipsa, V., Devi, J. P., Kumar, H. T. V., Kekuda, T. R. P. 2012. Ascorbic Acid, Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Fresh Juices of Four Ripe and Unripe Citrus Fruits. *Chemical Science Transactions*. 1 (2). p. 303-310.

Reshmi, S. K., Aravindhan, K. M., Devi, P. S. 2012. The effect of light, temperature, pH on stability of betacyanin pigments in *Basella Alba* fruit. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 5 (4). p. 107-110.

Rice-Evans, C. A., Diplock, A. T. 1993. Current status of antioxidant therapy. *Free Radical Biology and Medicine*. 15. p. 77-96.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20 (7). p. 933-956.

Ricke, S. C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*. 82 (4). p. 632-639.

Riley, P. A. 1994. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int. J. Radiant. Biol.* 65 (1). p. 27-33.

Ross, R., Glomset, J. A. 1976. The Pathogenesis of Atherosclerosis. *The New England Journal of Medicine*. 295 (7). p. 369-377.

Russell, N. J., Gould, G. W. 2003. *Food Preservatives*. Springer Science & Business Media. p. 380.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. 91. p. 621-632.

Santos, M. R. V., Moreira, F. V., Fraga, B. P., Souza, D. P., Bonjardim, L. R., Quintans-Junior, L. J. 2011. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 21 (4). p. 764–771.

Scalbert, A., Williamson, G. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *The Journal of Nutrition*. 130. p. 2073–2085.

Shahidi, F., Naczk, M. 1995. *Food Phenolics: Sources Chemistry Effects Applications*. Lancaster: Technomic. p. 331. ISBN: 1566762790.

Sharma, S. 2015. Food Preservatives and their harmful effects. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 5 (4). p. 1–2.

Sharma, O. P., Bhat, T. K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113. p. 1202–1205.

Schmidt, Š., Šardzíková, I., Sekretár, S. 2002. Výskyt, štruktúra a účinok prírodných antioxidantov. *Bulletin potravinárskeho výskumu*. 41 (4). 221–239 s.

Schwartz, S. J., von Elbe J. H. 1983. Identification of betanin degradation products. *Eur Food Res Technol*. 176. p. 448–453.

Silva, M. M., Lidon, F. C. 2016. Food preservatives – An overview on applications and side effects. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 28 (6). p. 366–373.

Singh, U., Jialal, I. 2006. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*. 13. p. 129–142.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152–178.

Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H. 2003. Oxidative stress and cancer: An overview. *Ageing Research Reviews*. 12. p. 376–390.

Spector, A. 2009. Review: Oxidative Stress and Disease. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 16 (2). p. 193–201.

Stella, S. P., Ferrarezi, A. C., dos Santos, K. O., Monteiro, M. 2011. Antioxidant Activity of Commercial ready-to-Drink Orange Juice and Nectar. *Journal of Food Science*. 76 (3). p. 392–397.

Süli, J., Homzová, K., Sobeková, A. Bujdošová, Z., Hruskova, T. 2014. Polyphenolic compounds in foods. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Vyziva*. 17. p. 162–170.

Swerdlow, R. H. 2007. Pathogenesis of Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aging*. 2 (3). p. 347–359.

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 21. p. 1199–1218.

Takaichi, S. 2013. Tetraterpenes: Carotenoids. *Natural Products*. p. 3251–3283.

Tasdelen, O., Bayindirli, L. 1998. Controlled Atmosphere Storage and Edible Coating Effects on Storage Life and Quality of Tomatoes. *Journal of Food Processing and Preservation*. 22. p. 303–320.

Tauchen, J., Maršík, P., Kvasničková, M., Maghradze, D., Kokoška, L., Vaněk, T., Landa, P. 2015. In vitro antioxidant activity and phenolic composition of Georgian, Central and West European wines. *Journal of Food Composition and Analysis*. 41. p. 113–121.

Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., Garcia-Viguera, C. 2014. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 15. p. 15638–15678.

- Theron, M. M., Lues, J. E. R. 2007. Organic Acids and Meat Preservation: A review. *Food Reviews International*. 23 (2). p. 141–158.
- Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., Almássy, K., Krisch, J. 2011. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. *International Journal of Food Microbiology*. 144 (3). p. 480–486.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stressinduced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160. p. 1–40.
- Vallone, D., Picetti, R., Borrelli, E. 2000. Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 24 (1). p. 125–132.
- Vally, H., Misso, N. L. A., Madan, V. 2009. Clinical effects of sulphite additives. *Clinical & Experimental Allergy*. 39 (11). p. 1643–1651.
- Vegara, S., Martí, N., Mena, P., Saura, D., Valero, M. 2013. Effect of pasteurization proces and storage on color and shelf-life of pomegranate juices. *LWT – Food Science and Technology*. 54. p. 592–596.
- Vilece, R. J., Fagerson, I. S., Esselen, W. B. 1955. Darkening of food purees and concurrent changes in composition in headspace gas. *J. Agr. Food Chem.* 3. p. 433.
- Von Elbe, J. H., Maing I. Y., Amundson, C. H. 1974. Color stability of betanin. *Journal of Food Science*. 39 (2). p. 334–337.
- Ward, R. S. 2000. Recent Advances in the Chemistry of Lignans. *Studies in Natural Products Chemistry*. 24. p. 739–798.
- Wibraniec, S., Starzak, K., Skopińska, A., Szaleniec, M., Slupski, J., Mitka, K., Kowalski, P., Michalowski, T. 2013. Effect of metal cations on betanin stability in aqueous-organic solutions. *Food Science and Biotechnology*. 22 (2). p. 353–363.

- Wissgott, U., Bortlik, K. 1996. Prospects for natural food colorants. *Trends in Food Science & Technology*. 7 (9). p. 298–302.
- Wolff, S. P., Dean, R. T. 1987. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of ‘autoxidative glycosylation’ in diabetes. *Biochemical Journal*. 245 (1). p. 243–250.
- Wolff, S. P. 1993. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *British Medical Bulletin*. 49 (3). p. 642–652.
- Wong, Y. M., Siow, L. F. 2014. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. *Journal of Food Science and Technology*. 52 (5). p. 3086–3092.
- Wootton-Beard, P.C., Ryan, L. 2011. A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. *Journal of Functional Foods*. 3. p. 329–334.
- Wright, J. S. 2002. Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *Journal of Molecular Structure*. 591. p. 207–217.
- Würgler, F. E., Schlatter, J., Maier, P. 1992. The genotoxicity status of sorbic acid, potassium sorbate and sodium sorbate. *Mutation Research*. 283. p. 107–111.
- Yang, W. H., Purchase, E. C. R. 1985. Adverse reactions to sulfites. *Can Med Assoc J*. 133 (9). p. 865–867, 880.
- Yu, L. L., Yu, H. H., Liang, X. F., Li, N., Wang, X., Li, F. H., Wu, X. F., Zheng, Y. H., Xue, M., Liang, X. F. 2018. Dietary butylated hydroxytoluene improves lipid metabolism, antioxidant and anti-apoptotic response of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish & Shellfish Immunology*. 72. p. 220–229.

Yuste, J., Capellas, M., Pla, R., Fung, D.Y.C., Mor-Mur, M. 2001. High Pressure Processing For Food Safety And Preservation: A Review. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*. 9. p. 1-10.

Zemanová, M. 2008. Psychoterapie v onkologii. *Onkologie*. 2 (4). 249-252 s.

Zhuang, H., M. M. Barth, and T. R. Hankinson. 2003. Microbial safety, quality, and sensory aspects of fresh-cut fruits and vegetables, p. 255–278.

9 Seznam použitých obrázků a grafů

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 Chemická struktura fenolických kyselin (Schmidt et al., 2002)..... | 6 |
| Obrázek 2 Základní struktura flavonoidů (Cook and Samman, 1996)..... | 7 |
| Obrázek 3 Chemická struktura některých fenypropenů (Dewick, 2009)..... | 8 |
| Obrázek 4 Struktura resveratrolu (Bavaresco et al., 1999). | 8 |
| Obrázek 5 Chemická struktura isoprenové jednotky (Dewick, 2009). | 9 |
| Obrázek 6 Chemická struktura β -karotenu (Dewick, 2009)..... | 11 |
| Obrázek 7 Základní chemická struktura betalainů (Esatbeyoglu et al., 2015)..... | 12 |
| Obrázek 8 Struktura betaninu a isobetaninu (Piattelli and Impellizzeri, 1969). | 13 |
| Obrázek 9 Degradace betaninu při 100 °C a pH 3, 5 a 7 (von Elbe et al., 1974)..... | 14 |
| Obrázek 10 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření. | 33 |
| Obrázek 11 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření. | 34 |
| Obrázek 12 Fotografie připravené mikrotitrační destičky pro měření. | 35 |
| Obrázek 13 Obrázek grafu výsledků DPPH prvního dne měření, vyjádřené jako IC50 v $\mu\text{L}/\text{mL}$ moštu. | 40 |
| Obrázek 14 Degradace betaninu ve třech různých variantách v závislosti na čase..... | 45 |
| Obrázek 15 Porovnání barevných změn připravených vzorků..... | 49 |
| | |
| Tabulka 1 Účinky některých monoterpenů na kardiovaskulární systém (Santos et al., 2011). | 10 |
| Tabulka 2 Potenciální zdravotní benefity potravin bohatých na betalainy (Esatbeyoglu et al., 2015). | 12 |
| Tabulka 3 Příklady barviv a jejich přírodních zdrojů (Wissgott and Bortlik, 1996)..... | 20 |
| Tabulka 4 Přehled hlavních betalainových a fenolických složek (Kujala et al., 2002)..... | 28 |
| Tabulka 5 Varianty připravených vzorků..... | 31 |
| Tabulka 6 Varianty kontrol. | 32 |
| Tabulka 7 Varianty pro měření degradace betaninu..... | 32 |
| Tabulka 8 Vliv teploty na TPC testovaných variant. | 36 |
| Tabulka 9 Srovnání použitých silic a kontrolních variant bez nich. | 37 |
| Tabulka 10 Výsledky celkového obsahu fenolických látek ve zkoumaných variantách, vyjádřeny v mg GAE/L moštu. | 38 |

| | |
|--|----|
| Tabulka 11 Výsledky celkového obsahu fenolických látek u variant kontrol, vyjádřeny v mg GAE/L moštu. | 39 |
| Tabulka 12 Srovnání použitých silic a kontrolních variant bez nich. | 41 |
| Tabulka 13 Rozdíl jednotlivých tepelných ošetření na antioxidační aktivitu. | 41 |
| Tabulka 14 Výsledky antioxidační aktivity ve zkoumaných variantách, vyjádřeny jako IC50 v $\mu\text{L}/\text{mL}$ moštu. | 42 |
| Tabulka 15 Výsledky antioxidační aktivity ve variantách kontrol, vyjádřeny jako IC50 v $\mu\text{L}/\text{mL}$ moštu. | 43 |
| Tabulka 16 Výsledky obsahu betaninu ve zkoumaných variantách, vyjádřeny v mg/mL. | 45 |