



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## KVALITA PEPŘE Z HLEDISKA OBSAHU PIPERINU

PEPPER QUALITY IN TERMS OF PIPERINE CONTENT

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marek Lamplot

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2023

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1831/2022 Akademický rok: 2022/23  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Marek Lamplot**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Kvalita pepře z hlediska obsahu piperinu

### Zadání bakalářské práce:

- 1) vypracujte literární rešerši k řešené problematice
- 2) proveďte základní validaci HPLC pro stanovení obsahu piperinu v pepři
- 3) analyzujte různé vzorky pepře, stanovte obsah piperinu ve vzorcích
- 4) zpracujte a diskutujte získaná data
- 5) formulujte závěry práce

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

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

-----  
Marek Lamplot  
student

-----  
doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit kvalitu pepře dostupného v obchodní síti ČR. Kvalita vzorků pepře byla zjišťována na základě obsahu piperinu. Piperin byl ze vzorků pepře extrahován pomocí acetonu a extrakty byly následně analyzovány pomocí vysoko-účinné kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem. Ve všech vzorcích byl stanoven obsah vody titračně podle Karl-Fishera a obsah piperinu ve vzorcích byl následně přepočten na sušinu. Obsah piperinu v pepři se pohyboval od 49 do 90 mg/g a splňoval požadavky platné legislativy, která udává minimální obsah piperinu v pepři 4 %. Statistická analýza prokázala, že mezi jednotlivými vzorky pepře je z hlediska obsahu piperinu statisticky významný rozdíl, což poukazuje na fakt, že pepř od různých výrobců pochází z rozdílných zdrojů.

## **ABSTRACT**

The aim of this bachelor's thesis was to determine the quality of pepper available in the commercial network of the Czech Republic. The quality of the pepper samples was determined based on the piperine content. Piperine was extracted from pepper samples using acetone and the extracts were subsequently analyzed using high-performance liquid chromatography with a mass detector. In all samples, the water content was determined by Karl-Fisher titration, and the piperine content in the samples was subsequently converted to dry matter. The content of piperine in pepper varied from 49 to 90 mg/g and met the requirements of the current legislation, which specifies a minimum piperine content of 4 % in pepper. Statistical analysis showed that there is a statistically significant difference between individual pepper samples in terms of piperine content, which points to the fact that pepper from different producers comes from different sources.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Černý pepř, piperin, HPLC, extrakce, Karl-Fisher titrace, sušina

## **KEYWORDS**

Black pepper, piperine, HPLC, extraction, Karl-Fisher titration, dry matter

## CITACE

LAMPLOT, Marek. *Kvalita pepře z hlediska obsahu piperinu* [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-05-22]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148290>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, PhD. za jeho vstřícnost, ochotu, rady, vedení a poskytnutý čas v průběhu zpracování mé bakalářské práce.

# OBSAH

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>7</b>
<b>2. TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>8</b>
2.1. Definice koření podle potravinářské vyhlášky .....	8
2.1.1. Smyslové požadavky na jakost jednotlivých druhů pepře dle legislativy .....	8
2.1.2. Fyzikální a chemické požadavky na jakost pepře dle legislativy .....	9
2.2. Historie pepře .....	9
2.2.1. Pepř ve staré Indii a Číně .....	9
2.2.2. Pepř v Římské říši .....	10
2.2.3. Pepř ve středověku .....	10
2.2.4. Pepř v 17. století .....	10
2.3. Pepřovník černý .....	10
2.3.1. Použití .....	11
2.3.2. Základní požadavky na pěstování pepřovníku černého .....	11
2.3.3. Množení .....	11
2.4. Statistiky produkce a exportu pepře .....	11
2.4.1. Země s největším exportem pepře po celém světě.....	12
2.5. Druhy pepře .....	12
2.5.1. Černý pepř.....	12
2.5.2. Bílý pepř.....	13
2.5.3. Zelený pepř .....	13
2.5.4. Falešné pepře .....	13
2.6. Chemické složení černého pepře .....	14
2.6.1. Biologicky aktivní látky obsažené v pepři.....	14
2.6.2. Alkaloidy.....	15
2.6.3. Esenciální oleje .....	17
2.6.4. Fenolické látky.....	18
2.7. Nutriční hodnoty.....	20
2.7.1. Nutriční hodnoty černého pepře.....	21
2.8. Průmyslové zpracování černého pepře .....	22
2.8.1. Mletý pepř.....	23
2.8.2. Pepřový olej .....	23
2.8.3. Oleoresin .....	23
2.9. Působení černého pepře na lidské zdraví.....	24

2.9.1. Alergie .....	25
2.10. Skladování pepře .....	26
2.11. Analýza pepře .....	26
2.11.1. Metody extrakce piperinu z černého pepře .....	26
2.11.2. HPLC.....	27
2.11.3. Detekce.....	28
<b>3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>29</b>
3.1. Použité přístroje, zařízení a pomůcky.....	29
3.2. Použité chemikálie.....	29
3.3. Použitý materiál.....	29
3.4. Parametry vysokoúčinného kapalinového chromatografu .....	30
3.5. Stanovení extrakční metody .....	30
3.5.1. Extrakční metoda s rozpouštědlem – ethanol (99,8%) .....	30
3.5.2. Extrakční metoda s rozpouštědlem – ethanol (50%) .....	30
3.5.3. Extrakční metoda s rozpouštědlem – aceton (99,8%).....	31
3.6. Příprava kalibračních roztoků.....	31
3.7. Příprava reálných vzorků.....	31
3.8. Příprava vzorků na stanovení vody titračně podle Karl-Fishera .....	32
<b>4. VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>33</b>
4.1. Statistické zpracování dat .....	33
4.2. Vyhodnocení extrakčních metod.....	33
4.3. Výsledky kalibrační řady .....	35
4.4. Výsledky reálných vzorků .....	36
4.5. Výsledky vzorků po stanovení vody titračně podle Karl-Fishera .....	39
<b>5. ZÁVĚR.....</b>	<b>43</b>
<b>6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>	<b>44</b>
<b>7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ OBRÁZKŮ .....</b>	<b>48</b>
<b>8. PŘÍLOHY .....</b>	<b>49</b>

# 1. ÚVOD

Pepř je již stovky let považován za jedno z nejdůležitějších a nejrozšířenějších koření na světě. Využívá se hlavně v kuchyni k dochucování pokrmů, za účelem zlepšení chuti. Další využití má například v aromaterapii, lékařství, výrobě pepřových sprejů nebo, díky svým antioxidačním vlastnostem jako konzervační látka. V poslední době se pepř často vyskytuje v pokrmech v podobě celých kuliček, kvůli jejich estetickému vzhledu a následnému zvýšení atraktivity daného pokrmu, jako jsou různé omáčky ke steakům či k rybám.

Pepř je velmi ojedinělý plod rostliny v tom smyslu, že z jedné rostliny pepřovníku černého se v závislosti na době zrání získává po určitých technologických úpravách černý, bílý a zelený pepř. Tyto pepře se následně dále zpracovávají a putují k zákazníkům buď v podobě celých kuliček nebo se kuličky melou, či drtí.

Nejdůležitější látkou obsaženou v černém, bílém i zeleném pepři, která stojí za štiplavostí a aromaticností a celkové chuti je alkaloid piperin. Jedná se o látku, která má velké využití v lékařství, díky svým protizánětlivým, antioxidačním a dalším účinkům na lidské zdraví, mnoho dalších účinků se stále studuje například v boji proti rakovině.

Cílem bakalářské práce je seznámení se s pepřem v širším slova smyslu než jen jako koření, které se používá v kuchyni. Dalším cílem je vyhodnocení nejlepší metody extrakce. Dále také s fungováním a nastavením ideálních parametrů pro mou analýzu vysokoúčinného kapalinového chromatografu, kterým budou všechny analyzované vzorky měřeny. Konkrétně bude zkoumáno množství piperinu v mletém černém pepři od různých výrobců (s obsahem vlhkosti i bez, pouze jako sušina). Následně budou tyto vzorky porovnávány s aktuální legislativní vyhláškou a také mezi sebou.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. Definice koření podle potravinářské vyhlášky

Přesnou definici koření udává vyhláška Ministerstva zemědělství č. 398/2016 Sb. ze dne 2. prosince 2016 o požadavcích na koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky, ochucovadla, studené omáčky, dresinky a hořčici [1].

Ministerstvo zemědělství stanoví podle § 18 odst. 1 písm. a), b) a g) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 119/2000 Sb., zákona č. 306/2000 Sb., zákona č. 146/2002 Sb., zákona č. 131/2003 Sb., zákona č. 274/2003 Sb., zákona č. 316/2004 Sb., zákona č. 120/2008 Sb., zákona č. 139/2014 Sb. a zákona č. 180/2016 Sb., (dále jen „zákon“). Pro účely této vyhlášky se rozumí podle § 3: [1]

- a) kořením části rostlin, zejména kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, plody, semena nebo jejich části, uvedené v příloze č. 1 k této vyhlášce, v nezbytné míře technologicky zpracované a užívané k ovlivňování chutě a vůně potravin,
- b) směsí koření směs jednotlivých druhů koření uvedených pod písmenem a),
- c) kořenicím přípravkem směs jednotlivých koření uvedených pod písmenem a), zeleniny, soli nebo hub a případně dalších složek,
- d) vlastními organickými příměsemi příměsí pocházející z vlastní rostliny koření, zejména zlomky stonků, lodyh, větviček, bobulí, plodů, listů a plody prázdné,
- e) cizími organickými příměsemi části rostlin, plody a semena pocházející z jiné rostliny,
- f) anorganickými příměsemi příměsí jiného než rostlinného původu, zejména hrudky hlíny, kaménky nebo písek,

#### 2.1.1. Smyslové požadavky na jakost jednotlivých druhů pepře dle legislativy

Pepř černý celý, pocházející z rostliny pepřovníku černého (*Piper nigrum*), má podobu nezralých plodů. Tyto plody jsou sušené, tvrdé bobule, neloupané, svraštělé, bez stopek, které smí obsahovat nejvýše 15 % lehkých bobulí. Barva plodů je hnědočerná až šedočerná až černá s kořenitou vůní a palčivě ostrou chutí. Drcený nebo mletý černý pepř je definován jako jemně mletý sypký prášek, případně se znatelným zrněním nebo drť, vizuálně má barvu šedobílou se žlutým až zeleným odstínem, ostře kořenitou vůní a palčivě ostrou chutí [1].

Pepř bílý celý, pocházející ze stejné rostliny, avšak má podobu zralých plodů, které jsou loupané, sušené, tvrdé, na povrchu hladké, kulovité bobule, smí obsahovat nejvýše 10 % černých bobulí. Mají šedobílou, temně šedou barvu se světlými pruhy, vůně je kořenitá a chuť palčivě ostrá. Drcený nebo mletý bílý pepř je definován jako prášek se znatelným zrněním nebo drť s šedobílou barvou s nažloutlým odstínem, kořenitou vůní a palčivě ostrou chutí [1].

Pepř zelený celý, pocházející také z rostliny pepřovníku černého, má podobu sušených nezralých plodů. Plody jsou typicky svraštělé tvrdé bobule nebo plody s tenkou křehkou povrchovou slupičkou. Barva plodů je šedozelená, zelená až hnědozelená, vůně kořenitá, aromatická a chuť výrazně kořenitá, pálivá [1].



Pepř červený/růžový celý, pocházející z rostliny pepřovce obecného (*Schinus molle* L) má podobu sušených nezralých plodů. Plody jsou hladké bobule, které mají křehkou vnější slupku uzavírající ne zcela vyvinuté semeno (vnitřní část bobule). Barva plodů je červená až bleďě růžová, vůně jemná, kořenitá a chuť jemně kořenitá, nasládlá [1].

### **2.1.2. Fyzikální a chemické požadavky na jakost pepře dle legislativy**

Pro černý pepř celý jsou povolena maximální množství: vlhkosti (14 % hmotnosti), celkového popelu sušiny (6 %), silic v sušině (nejméně 2 % (ml/100 g)). Maximální množství příměsí: organické vlastní (4 %), organické cizí (0,5 %), anorganické (0,5 %). Pro mletý, drcený černý pepř je minimální množství silic (0,8 % (ml/100 g)) v sušině a maximálně 1,2 % hmotnosti sušiny popelu nerozpustného v kyselině. Množství vlhkosti a celkového popelu se neliší, příměsí nejsou stanoveny. V celém i mletém černém pepři musí být obsaženo nejméně 4,0 % hmotnosti piperinu [1].

Pro bílý pepř celý jsou povolena maximální množství: vlhkosti (15 % hmotnosti), celkového popelu sušiny (3,5 %), silic v sušině (nejméně 1 % (ml/100 g)). Maximální množství příměsí: organické vlastní (4 %), organické cizí (0,5 %), anorganické (0,5 %). Pro mletý, drcený bílý pepř je minimální množství silic (0,6 % (ml/100 g)) v sušině a maximálně 0,3 % hmotnosti sušiny popelu nerozpustného v kyselině. Množství vlhkosti a celkového popelu se neliší, příměsí nejsou stanoveny. V celém i mletém bílém pepři musí být obsaženo nejméně 4,0 % hmotnosti piperinu [1].

Pro zelený pepř celý i mletý (drcený) jsou povolena maximální množství: vlhkosti (12 % hmotnosti), celkového popelu sušiny (5 %) a 0,3 % hmotnosti sušiny popelu nerozpustného v kyselině. Maximální množství příměsí: organické vlastní (4 %), organické cizí (0,5 %), anorganické (0,5 %). Maximálně 0,3 % hmotnosti sušiny popelu nerozpustného v kyselině [1].

Pro červený/růžový pepř celý i mletý (drcený) je povolena maximální množství vlhkosti (15 % hmotnosti) a silic (nejméně 1 % (ml/100 g)) v sušině. Maximální množství příměsí: organické vlastní (4 %), organické cizí (0,5 %), anorganické (0,5 %). Maximálně 0,3 % hmotnosti sušiny popelu nerozpustného v kyselině [1].

## **2.2. Historie pepře**

Od starověku byl pepř vždy velmi důležitým kořením na světě. Hrál ústřední roli v medicíně starověké Indie a Číny, stal se důležitou složkou římského jídla a zůstal ústředním kořením kuchyně středověké Evropy [2].

### **2.2.1. Pepř ve staré Indii a Číně**

Pěstování pepře začalo již před tisíci lety v Indii, odkud pepř pochází, a brzy jej obchodníci zavedli na velké ostrovy Indonésie. V této době se pěstovaly dva druhy pepře: pepř dlouhý (*Piper longum*) na severovýchodě Indie a pepř černý (*Piper nigrum*) na jihozápadě. Dlouhý pepř byl velmi oblíbený v Římě kvůli jeho větší štiplavosti. Černý pepř naopak dominoval ve středověké Evropě, protože byl pro obchodníky snadněji dostupný [2].

Existuje mnoho záznamů o používání pepře v Indii za lékařskými účely. Pepř byl nezbytnou součástí starověkého ajurvédského systému medicíny. V 2. století př. n. l. se s pepřem obchodovalo po souši z Indie do čínské provincie Sichuan, původně pro léčebné účely, ale velmi rychle se stal důležitým kořením v jídle [2].

### **2.2.2. Pepř v Římské říši**

Pepř dlouhý i černý byl v Řecku znám ve 4. století př. n. l. jako surovina, za kterou si lidé museli připlatit. Stala se tak surovinou dostupnou pouze pro bohatší společnost. Pravděpodobně se pepř používal kromě dochucování také v lékařství a k obohacování chuti vína. Popularita pepře v Evropě dramaticky vzrostla v roce 30 př. n. l. po dobytí Egypta Římem a jeho použití se rychle rozšířilo do římské Galie (dnešní Francie a Německo) a římské Británie. Pepř se stal nezbytnou složkou jídla v římském světě [2].

### **2.2.3. Pepř ve středověku**

Obliba pepře v kuchyni i medicíně dosáhla svého historického vrcholu v období středověku v Evropě. Pepř a další koření byly nejen považovány za zdravé, ale byly také široce používány k obohacení přirozených vlastností potravin. Panovníci si předávali pepř jako dar [2].

### **2.2.4. Pepř v 17. století**

Trh s pepřem a kořením zůstal v Evropě silný a stabilní až do poloviny 17. století. Ve druhé polovině 17. století v Evropě nastal výrazný pokles používání koření, jelikož bohatí lidé přestali mít rádi pálivá a aromatická jídla. To vedlo k dramatické změně v tom, co bylo vyváženo z Indie a jihovýchodní Asie do Evropy. Koření bylo nahrazeno nejprve bavlnou a poté čajem a kávou. Velká část holandského a anglického obchodu se také přesunula do Atlantského oceánu, kvůli začínajícímu obchodování s cukrem, tabákem a hlavně otroky [2].

## **2.3. Pepřovník černý**

Pepřovník černý (*Piper nigrum*), je popínavá vytrvalá rostlina z čeledi Piperaceae, která se pěstuje pro své plody. Plody této rostliny se používají k výrobě černého, bílého a zeleného pepře, který se běžně používá jako koření při vaření. Pepřovník černý může být popínavý nebo mít keřovité, dřevnaté stonky. Listy rostliny jsou jednoduché, tmavě zelené, střídavé nebo srdčité a vytváří hrozny nebo klasy s 50 až 150 květy. Plody se vyvíjejí na květním klasu jako malé kulovité plody, které mají zelenou barvu a dozrávají do červené. Plody se mohou sklízet až třikrát za rok v závislosti na různém stupni zralosti. Každý stonek může produkovat 20–30 hroznů. Pepřovník černý může dorůst až do výšky 10 m, ale při pěstování je obvykle omezen na 3–4 m. Jedná se o vytrvalou rostlinu, která se může dožít více než 30 let, avšak s komerční životností se doba zkracuje na 12–20 let [4,5].

Ideální podmínky pro růst pepřovníku černého je vlhké tropické klima s dobře rozloženými ročními srážkami mezi 2000–4000 mm. Průměrná teplota vzduchu by se měla pohybovat v rozmezí 25–30 °C s relativní vlhkostí 65–95 %. [3,4,5].

Plodině se daří pod 500 m nadmořské výšky, ideálně na rovníku, ale může růst i ve výškách až 1500 m. Pepřovník roste nejlépe na půdách od těžkých jílu až po lehké písčité jíly. Půdy by měly být hluboké, dobře odvodněné, ale s dostatečnou kapacitou zadržování vody, aby se zabránilo vodnímu stresu během období sucha. Minerální omezení jsou běžná, s výjimkou panenských půd. V hnědočervených latosolech (půdní typ vlhkého klima) nebo andosolech jsou často limitující prvky dusíku, fosforu a hořčíku. Plodina může dobře růst také na hlubokých písčítých jílovitých červenožlutých podzolech, pokud jsou pečlivě spravovány a jsou dostatečně vybaveny minerálními živinami a organickou hmotou [3].

### **2.3.1. Použití**

Rostliny pepřovníku černého se používají k výrobě černého, bílého a zeleného pepře. Černý pepř se získává sklizní nedozrálých bobulí. Tyto bobule se poté suší 5 až 10 dnů, než dostanou hnědočernou barvu. Bílý pepř se vyrábí namáčením plodů ve vodě po dobu přibližně jednoho týdne, aby se z plodu lehce sloupila svrchní část a zbylo pouze bílé semeno. Zelený pepř se vyrábí sušením nezralých plodů tak, aby si zachovaly zelenou barvu. Zelený pepř se často konzervuje mořením [4,5].

### **2.3.2. Základní požadavky na pěstování pepřovníku černého**

Pepřovník černý je tropická rostlina, které nevyhovují mrazivé teploty. Rostliny nesou teploty pod 12°C. Rostlinám se nejlépe daří ve vlhkém tropickém podnebí při okolní teplotě mezi 25 a 30 °C v hluboké, dobře odvodněné půdě s dobrou schopností zadržovat vodu. Půda by měla být bohatá na organickou hmotu s pH mezi 5,5 až 6,0. Rostliny vyžadují roční srážky přibližně 2000 mm a v sušších oblastech budou vyžadovat dodatečné zavlažování [5].

### **2.3.3. Množení**

Pepřovník černý lze množit ze suchých semen nebo, jak je u komerční produkce nejběžnější, z řízků nebo stolonů (šlahounů) zavedených rostlin. Nejčastěji se řízky odebírají ze sekundárních výhonů rostliny, které by měly mít jeden nebo dva listy. Řízky se pak nechají zakořenit na semeništi. Rostlina se dále přesadí, až když má 4-7 nových listů. Při pěstování se k podpoře rostliny používá mřížovina. Mřížka by měla být alespoň 4 m vysoká. Černý pepř by měl být zasazen do vzdálenosti 8 × 8 m (tj. 8 m mezi jednotlivými rostlinami a 8 m mezi řadami) [5].

## **2.4. Statistiky produkce a exportu pepře**

Celosvětová produkce pepře v roce 2020 zaznamenala nárůst za posledních 10 let o 72 procent na 561 500 tun oproti 234 418 tunám v roce 2010, což značí velký zájem o toto koření [6].

Podle IPC (International Pepper Organization) Vietnam vyvezl více než 282 000 tun, což představuje téměř 60 % celého světa. Na celém světě v roce 2021 došlo k nárůstu vývozních cen černého pepře hlavních producentských zemí kromě Indonésie [7].

Podle některých prognóz byla celosvětová poptávka v roce 2021 na hodnotě 510 000 tun pepře ročně a zvyšuje se o 2-3 % každý rok, zatímco produkce pepře celosvětově stoupá o 8-10 %. Produkce pepře na celém světě dosáhne v roce 2021 více než 660 000 tun, předpovídá se až 1

milion tun v roce 2050, a poptávky po celosvětovém pepři by měli také růst, ovšem ne v míře dodávky. Největšími dovozci pepře jsou Spojené státy, Čína a Korea [7].

#### **2.4.1. Země s největším exportem pepře po celém světě**

Dle K-Agriculture Factory je země s největším objemem exportu pepře v roce 2020 Vietnam s 232 tisíci tunami, následovaný Brazílií s více než 56 tisíci tunami. Třetí pozici obsadila Indonésie s více než 23 tisíci tunami [7].

##### *2.4.1.1. Vietnam*

Vietnam vede s největším objemem vývozu pepře na světě. Ve Vietnamu se pepř pěstuje hlavně v centrálních oblastech. Vietnam má příznivé podmínky (půda, počasí) vhodné pro pěstování pepře, což je velká výhoda a velký potenciál pro export. Hlavním exportním produktem Vietnamu je černý pepř, bílý pepř tvoří pouze malé množství asi 10-15% produkce [7].

##### *2.4.1.2. Brazílie*

Zvýšená nabídka způsobuje, že objem vývozu pepře z Brazílie stoupá. Dominantním produktem z pepře v Brazílii je černý pepř. Pokud jde o exportní trh, brazilský vývoz pepře do USA a Vietnamu má tendenci klesat, ale do Německa, Pákistánu a zejména Spojených arabských emirátů výrazně vzrůstá [7].

##### *2.4.1.3. Indonésie*

V Indonésii tvoří asi 47 % indonéského vývozu pepř bílý a 37 % celozrnný černý pepř, zbývající podíl tvoří ostatní. Vietnam a Čína jsou dva největší trhy spotřeby pepře v Indonésii. Indonéský vývoz pepře v posledních letech výrazně vzrostl do Nizozemska, Německa a Indie [7].

### **2.5. Druhy pepře**

Zrnka pepře (*Piper nigrum*) původně pocházela pouze z Indie, ale nyní se pěstuje také v Indonésii, Malajsii, Číně, na Srí Lance, na Madagaskaru a v Jižní Americe. Indie je stále brána za hlavního producenta tohoto koření, jelikož více než polovina produktů pochází z této země [3, 9].

Z keře pepřovníku černého se sklízí tři druhy pepře: černý, zelený a bílý. Rozdíl v zrnkách pepře pochází z toho, kdy se bobule keře sklízí a jak se zpracovávají [3, 9].

#### **2.5.1. Černý pepř**

Je nejčastěji používaný. Zrnka černého pepře jsou sušené bobule, které mají nejštiplavější a nejsilnější chuť ze všech druhů pocházejících z *Piper nigrum*. Zrnka černého pepře začínají jako zelené bobule, které rostou v trsech. Jakmile trs bobulí dozraje a první bobule přejde ze zelené do tmavě červené barvy, trsy se sklídí a sluncem se usuší a scvrknou do svaštělých, tmavě nahnědlých kuliček, kterým říkáme „černá“ zrnka pepře. Pepř při procesu vysychání uvolňuje enzym, který ztmavuje slupku bobulí od tmavě hnědé po uhlově černou barvu. Uvnitř slupky je světlejší semeno, které způsobuje odchylky v barvě mletého pepře. V jednom trsu se nachází mnoho bobulí a v závislosti na umístění jednotlivých bobulí se liší jejich velikost. Na hrotu trsu vznikají větší bobule. To také způsobuje rozdílnou velikost zrn černého pepře v obchodech

v podobě celých kuliček. Černý pepř je k dostání ve formě mleté, drcené nebo celé kuličky [8,9,11].

### 2.5.2. Bílý pepř

Tato zrnka pepře jsou zralé bobule, které jsou namáčeny na krátkou dobu do vodní lázně, aby se odstranily jejich slupky. Poté se zbývající semeno vysuší na slunci. Odstranění slupek zabraňuje tvorbě tmavé barvy pepře během procesu sušení. Při procesu dozrávání bobulí na pepřovníku, získávají jasně červenou barvu, která během procesu sušení zbledá. V souvislosti s takto červenou barvou zrn mluvíme o červeném (růžovém) pepři, ovšem jedná se o jakýsi mezistupeň před vznikem bílého pepře. Druhým způsobem sklizně bílého pepře je sklizeň zelených bobulí, které jsou několik dní namočené a poté se jim setře vnější obalová vrstva. Zbývající semeno se poté buď suší pro použití celých zrn, nebo se mele. Toto je také hlavní důvod, proč jsou zrnka bílého pepře menší než zrnka černého pepře. Má jemnější vůni, ale silnou a štiplavou chuť. Protože je zbaven slupky, která obsahuje cukr, nemá nasládlé aroma, a proto intenzivněji vnímáme čisté pepřové aroma. Tento pepř má dlouhotrvající chuť, která přetrvává. Bílý pepř se nejčastěji používá mletý, především do smetanových a sýrových omáček, kde by černý pepř pokazil vzhled pokrmu [8,9,11].

### 2.5.3. Zelený pepř

Zrnka zeleného pepře jsou zelené bobule sbírané dlouho předtím, než jsou zralé. Zrnka se suší mrazem, aby se zachovala hladká textura a jasná barva. Následně se vloží do nádob s nálevem. Zelený pepř postrádá komplexnost chuti, kterou obsahuje černý pepř, což je způsobeno jeho nezralostí. Oproti černému pepři má jemné aroma, svěží chuť a je o něco ostřejší a hořčejší. Zelený pepř dává zpočátku silnou kyselou chuť, ale v ústech dlouho nezůstane. Bobule zeleného a černého pepře se ve skutečnosti sbírají přibližně ve stejnou dobu, ale zelený se nenechá vyschnout, což zabrání aktivaci enzymu a vzniku černého pepře. Zelený pepř se dodává pouze balený ve slaném nálevu, vodě nebo v lyofilizované podobě. Používá se především jako celé bobule, málokdy v drcené podobě. Celé kuličky pepře jsou měkké, proto se nejčastěji přidávají do různých paštik, nádivek, sýrů a rolád. Drcený pepř se používá hlavně při přípravě omáček, polévek a masa [8, 9, 11].

### 2.5.4. Falešné pepře

Existuje několik odrůd pepře, které nepocházejí z rostliny pepřovníku černého (*Piper nigrum*). Tyto náhražky pepře pocházejí z několika různých druhů rostlin. Jejich chuť se liší od rostliny *Piper nigrum*, ale většinou bývají ostré, nebo mají podobný tvar, což může vypadat jako že se jedná o pepř. Falešnými pepři se v historii nahrazovaly plody z pepřovníku černého, byla to jakási levnější a dostupnější varianta. Některé jsou následující: [9].

#### 2.5.4.1. Červený pepř (*Schinus molle*)

Červený pepř, mnohdy označován jako růžový, jsou ve skutečnosti sušené bobule ze stromu pepřovce brazilského nebo peruánského, které se obvykle vyskytují v teplejších podnebích (Kalifornie, Arizona, Florida a Texas). Jediným důvodem, proč jsou pojmenovány jako zrnka pepře, je to, že se tvarem a chutí podobají zrnkám pepře, proto se v minulosti používal jako levnější verze pepře. Zrnka růžového pepře se často vyskytují ve směsi se zeleným, černým a bílým pepřem, protože jsou příliš měkká na to, aby se sama umlela v mlýnku na pepř. Světle

růžové bobule se sklízí v létě. Má křehkou vnější skořápku, která se snadno drolí. Zpočátku má pepřovou příchuť, ale na konci chutná sladce s lehkým ovocným nádechem. Je dobrý pro dochucení zeleniny a mořských plodů, ale není dobrou náhradou běžného pepře. Může u dětí způsobit alergickou reakci. Existuje i další růžový pepř, který pochází z rostliny růže Baies (*euonymus phellomanus*), která pochází z Madagaskaru [9,20].

#### 2.5.4.2. Dlouhý pepř (*Piper longum*)

Pochází ze střední Afriky, ale nyní se nachází v Indii, Africe a východní Číně. Tyto neobvykle vypadající zrnka pepře, která vypadají jako mák lze snadno identifikovat podle jejich neobvyklého tvaru. Sklízí se v létě. Plod má válečkovitý tvar a skládá se ze spousty drobných černých a šedých semen. Chuť je pálivější a sladší než černý pepř, dodává špetku pikantnosti připomínající štiplavou chuť po zázvoru. Toho se běžně používalo ve středověku. Tento pepř může nahradit běžný pepř, nejlépe se používá ve sladkých horkých receptech zdůrazňujících chuť zázvoru. I když tento pepř v západní kuchyni není snadné sehnat, běžně se používá v indické, nepálské, severoafrické, malajské a indonéské kuchyni [9,19].

#### 2.5.4.3. Sečuánský pepř

Nepochází z čeledi pepřovníku, ale pochází z plodů pichlavého žlutodřevu čínského z čínské provincie Szechuan. Sečuánský pepř má velmi charakteristickou chuť a aroma, které se dají popsat jako lehce citrusové a kořeněné. Může být mírně hořký, ale často také přináší mírnou pikantnost. Plody sečuánského pepře jsou sušené tobolky, které jsou mnohem aromatictější a mají pronikavější chuť než pepř černý. Sečuánský pepř je v čínské kuchyni nezbytnou součástí mnoha pokrmů [9,19].

## 2.6. Chemické složení černého pepře

Ostrou chuť a aroma pepře způsobují hlavně pryskyřice, éterický olej a alkaloid piperin, čím více je těchto látek obsaženo v pepři, tím aromatictější a kvalitnější pepř je. Černý pepř obsahuje asi 5–9 % alkaloidů piperin a piperettin a asi 1,2–5 % těkavého oleje. Esenciální olej je malá část rostlinného materiálu, který se skládá převážně z terpenů, seskviterpenů a jejich derivátů. Obsahuje různé chemické složky, jako jsou piperolidy, propenylfenoly, amidy, neolignany, lignany, flavonoidy, terpeny a steroidy. Hlavními součástmi éterického oleje jsou: sabinen, limonen, beta-karyofylen, alfa a beta-pinen, D-3-karen, myrcen, alfa-thujen, alfa-fellandren, p-cymen, beta-bisabolen, 1,8-cineol, piperonal, kyselina máselná a 3-metyl máselná a další. Ostrou chuť způsobuje asi 60 různých amidů. 50 % zrna pepře tvoří škroby a 6 až 8 % tuky [12,15].

### 2.6.1. Biologicky aktivní látky obsažené v pepři

- alkaloid piperin a izomer chavicin
- éterický olej – sabinen, limonen, beta-karyofylen, alfapinen, betapinen, D-3-karen, myrcen, alfa-thujen, alfa-fellandren, p-cymen, beta-bisabolen, 1,8-cineol, piperonal, kyselina máselná a kyselina 3-methylmáselná
- amidy
- škroby
- tuky
- minerální látky a vitaminy

- pryskyřice
- enzymy [14].

*Tabulka 1 Průměrné složení sušeného černého pepře [13]*

Obsah	Složení v %
Vlhkost	8,7–14,0
Celkový dusík	1,5–2,6
Těkavý etherový extrakt	0,3–4,2
Netěkavý etherový extrakt	3,9–11,5
Alkoholový extrakt	4,4–12,0
Škrob	28,0–49,0
Hrubá vláknina	8,7–18,0
Piperin	1,7–7,4
Celkový popel	3,6–5,7
Popel rozpustný v kyselinách	0,03–0,55

### 2.6.2. Alkaloidy

Alkaloidy patří mezi přírodní dusíkaté a neaktivnější látky obsažené v rostlinách. Název alkaloidu je většinou odvozen od latinského rodového jména rostliny, z nichž je tato látka izolována. Jsou to sekundární metabolity rostlin, které vznikají při biosyntéze v rostlině z některých aminokyselin (lysin, ornithin, fenylalanin, tyrosin, tryptofan a histidin), případně z meziproductů jiných látek (např. steroidů, terpenoidů či purinů). V rostlinách není přítomen pouze jeden typ alkaloidu, ale vyskytuje se v nich více typů [27].

V lidském těle se vyskytuje jako zásaditá sůl karboxylových kyselin. Alkaloidy mají ve své struktuře většinou heterocyklickou sloučeninu. V organismech plní alkaloidy funkci ochrannou. Jejich chuť je hořká. Vynikají silnou toxicitou. Některé účinky mohou vést až k smrti. Některé alkaloidy jsou silně návykové, ne však zcela všechny. Běžně je výraz alkaloid chápán jako jedovatá látka, ale biologický účinek těchto látek se značně liší a závisí také na dávce a délce jejich příjmu. V nízkých dávkách určité druhy působí často jako léčiva nebo jako stimulant nervové soustavy, ve vysokých dávkách nebo dlouhodobém příjmu jako prudké jedy. Alkaloidy působí primárně na centrální nervový systém, protože se svou strukturou podobají neurotransmiterům a mohou je nahrazovat. Vážou se na jejich receptory a následně působí pomocí centrálního a vegetativního nervstva [27, 28, 29].

Alkaloidy lze rozdělit na pravé alkaloidy, pseudoalkaloidy a protoalkaloidy.

Pravé alkaloidy jsou přírodní organické sloučeniny, které obsahují dusíkový atom vázaný na alespoň jednu aromtickou nebo heteroaromtickou skupinu. Tyto látky jsou většinou produktem metabolismu rostlin a některých mikroorganismů. Pravé alkaloidy jsou často jedovaté a mají různé biologické účinky, včetně analgetických, psychotropních, kardiostimulačních nebo antineoplastických účinků. Mezi příklady pravých alkaloidů patří morfin, který se vyskytuje v opiu z makovic máku, chinin, který se nachází v kůře chinovníku a který se používá k léčbě malárie a kofein, který se nachází v kávových bobech. Jiné příklady pravých alkaloidů zahrnují například nikotin, kokain, atropin a ergotamin [29, 44].

Pseudoalkaloidy jsou látky, které mají podobnou strukturu jako alkaloidy, ale nejsou syntetizovány z aminokyselin. Pseudoalkaloidy jsou obvykle vytvářeny enzymatickou modifikací jiných přirozených sloučenin v rostlinách, jako jsou například fenoly, terpeny nebo steroidy. Pseudoalkaloidy mají často biologickou aktivitu podobnou alkaloidům a mohou být užitečné v lékařství nebo v potravinářství. Mezi známé příklady patří efedrin. Další příklady pseudoalkaloidů jsou například kofein, theobromin a theofylin, které se vyskytují v čajovníku a kakaovníku a jsou známé pro své povzbuzující účinky [29, 44].

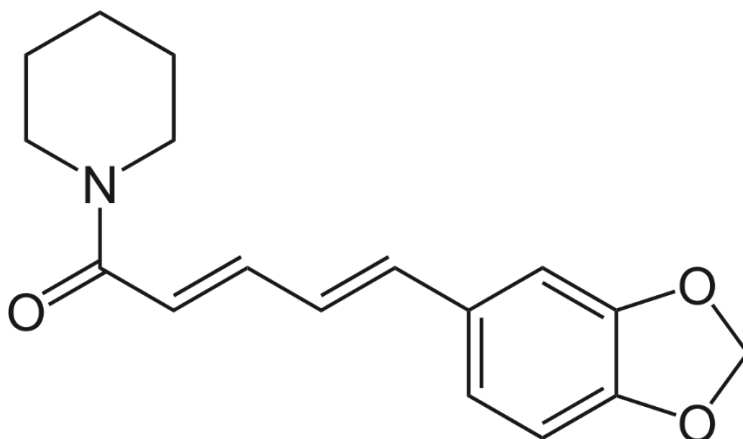
Protoalkaloidy jsou organické sloučeniny, které obsahují alespoň jeden dusíkový atom, ale nejsou vázány na aromatický nebo heteroaromatický kruh. Protoalkaloidy jsou přítomny v mnoha rostlinách a jsou často metabolizovány enzymatickou přeměnou na pravé alkaloidy. Protoalkaloidy se také často vyskytují v potravinách, jako jsou například rajčata, brambory a papriky-kapsaicin. Tyto sloučeniny mohou mít prospěšné účinky na lidské zdraví, jako jsou například antioxidační a protizánětlivé účinky [29, 44].

#### *2.6.2.1. Piperin*

Piperin je alkaloid, který se extrahuje z rostliny *Piper nigrum* (Peprovník černý) čeledi Piperaceae. Je schopný inhibovat monoaminoxidázu. V extraktech této rostliny se nacházejí i další alkaloidy, jako například piperetin, piperanin nebo pipericin. Piperin je málo rozpustný ve vodě, ale vysoce rozpustný v alkoholu, chloroformu, acetonu a etheru. V čisté formě je to světle žlutý krystalický prášek s ostrým štiplavým aromatem. Tento alkaloid se vyskytuje kromě černého pepře i v bílém a zeleném. Piperin existuje ještě v dalších třech stereoizomerních formách – isopiperin, chavicin a isochavicin a jejich strukturu tvoří molekula dusíku. Tento alkaloid způsobuje štiplavou chuť a má celou řadu účinků, jako například protizánětlivé, antioxidační, protiprůjmové, imunomodulační, protirakovinné, antihypertenzní, antimalarické a další farmakologické vlastnosti. Kromě toho se piperin využívá také jako látka, která zlepšuje účinnost jiných léčiv. Přidáním piperinu se zvyšuje vstřebávání a biologická dostupnost mnoha léčiv, jako jsou například nesteroidní protizánětlivé léky, antidepresiva, antipsychotika a mnoho dalších. Ukazuje se, že by piperin mohl být účinným prostředkem na léčbu Parkinsonovy nemoci [30, 31].

Obsah piperinu se v černém pepři pohybuje v rozmezí okolo 3-8 g/100 g. Obecně jsou piperiny důležité v neuroprotektci hlavně tím, že snižují oxidační stres, zánětlivé cytokiny nebo mitochondriální poškození. Některé studie prokázaly, že kombinovaná léčba piperinu s jinými fotochemikáliemi, jako je například kurkumin, má pozitivní účinky na zdraví člověka. Piperin umožňuje snižovat zánik neuronů v ischemické penumbrální zóně pomocí protizánětlivého účinku [30].

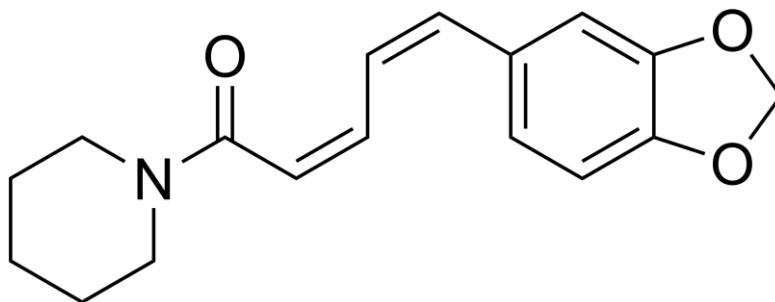




Obrázek 1 Chemická struktura piperinu [1]

#### 2.6.2.2. Chavicin

Chavicin je alkaloid obsažený v pepři. Je to jeden ze čtyř diastereomerních geometrických izomerů piperinu, má stejný vliv na chuť, vůni a štiplavost jako piperin [32].



Obrázek 2 Chemická struktura chavicinu [2]

### 2.6.3. Esenciální oleje

Éterické (esenciální) oleje jsou vonné látky, získávané z rostlin. Nejvíce éterických olejů mívají rostliny v listech, plodech nebo kořenech. Jejich nejčastější využití je v aromaterapii dále pak v přírodní kosmetice, masážních olejích, eko-drogerii i v přírodních parfémeh. Nejvýznamnější účinky éterických olejů v alternativní medicíně se využívají v aromaterapii neboli léčbě pomocí vůní. Tyto oleje mají relaxační a stimulační účinky. Esenciální oleje se také používají k léčbě řady zdravotních problémů, včetně bolesti hlavy, kongesce, nevolnosti a dalších. Je důležité si uvědomit, že esenciální oleje jsou silně koncentrované a mohou mít vedlejší účinky, pokud se používají nesprávně nebo příliš hojně. Éterické oleje se získávají ze sekrečních buněk siličnatých rostlin. Každá rostlina obsahuje jiný počet i velikost sekrečních buněk. Pro získání oleje z rostliny se používá hned několika metod: destilace, macerace, lisování nebo extrakce [33].

#### 2.6.3.1. Esenciální olej z černého pepře

Esenciální olej z pepře je směsí velkého množství těkavých chemických sloučenin. Obsahuje mnoho aromatických látek, z nichž nejvýznamnější jsou piperin, limonen, myrcen a karyofylen. Vůně je dána souhrnem složek. V pepřovém esenciálním oleji bylo popsáno více než 80 složek. Díky svým zahřívacím, protizánětlivým vlastnostem působí olej z černého pepře na snížení

svalových problémů a příznaků artritidy a revmatismu. Jeho silné účinky mohou způsobit podráždění pokožky a sliznic, a proto by měl být vždy ředěn s nosičovým olejem a používán pouze v malých dávkách. Olej z černého pepře může pomoci zmírnit nepohodlí při zácpě, průjmeh a plynatosti. Snižuje hladinu cholesterolu, má protivirové vlastnosti a vykazuje protinádorovou aktivitu [13, 34].

#### 2.6.3.2. Monoterpenové uhlovodíky

Monoterpeny jsou sekundární metabolity, látky produkované rostlinami, bakteriemi či plísněmi, které se přímo nepodílejí na jejich normálním růstu, vývoji nebo rozmnožování. Tyto sloučeniny přispívají k chuti a vůni rostlin. Tyto látky často představují jedinou možnost, jak se některé rostliny mohou bránit proti býložravcům (chutnají hořce, zapáchají nebo jsou dokonce toxické). K sekundárním metabolitům se řadí například flavonoidy, fytoestrogeny, fytosteroly, glukosinoláty, inhibitory proteáz, karotenoidy, saponiny, sulfidy a také některá antibiotika (produkovaná plísněmi). Lidé využívají některé sekundární metabolity rostlin k různým účelům (léky, ochucovadla, barviva, ilegální drogy). Monoterpeny by mohly být považovány za účinné, netoxické dietní protinádorové látky, které jsou slibné jako nová třída protirakovinných léků [35, 37].

Mezi monoterpenové uhlovodíky řadíme: kamfen, 3-karen, p-cymen, limonen, myrcen, cis-ocimen,  $\alpha$ -felandren,  $\beta$ -felandren,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen,  $\alpha$ -thujene [13, 34].

Hlavní složky pepře z hlediska monoterpenových uhlovodíků patří  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, sabinen a limonen. V pepřovém esenciálním oleji je také mnoho okysličených monoterpenoidních sloučenin je známo asi 43. Nejdůležitější jsou: borneol, kafr, karvakrol, cis-karveol, trans-karveol, karvon, karventanaceton, krypton [13, 34].

#### 2.6.3.3. Seskviterpenové uhlovodíky

Seskviterpenové uhlovodíky jsou organické sloučeniny, obsahují tři molekuly isoprenu, které patří mezi terpeny. Tyto sloučeniny se vyskytují přirozeně v mnoha druzích rostlin a jsou charakterizovány svým intenzivním aromatem, které se často používá v kosmetice a parfumerii. Mezi nejznámější seskviterpenové uhlovodíky patří například zingiberen, který se nachází v kořenové zelenině, jako je zázvor, humulen zastoupený v silicích chmelu nebo karyofylen, který se vyskytuje v mnoha rostlinách, včetně černého pepře a kaštanu. Seskviterpenové uhlovodíky mají také mnoho využití v lékařství. Karyofylen je známý svými protizánětlivými a antibakteriálními účinky [35].

Seskviterpenové uhlovodíky a kyslíkaté sloučeniny. Asi 25 seskviterpenů uhlovodíky jsou přítomny v pepřovém oleji, z nichž nejdůležitější je karyofylen. Dále pak cis-bergamonten, trans-bergamonten, bisabolen, kadinen, calamenen,  $\alpha$ -copaen,  $\alpha$ -cubeben,  $\beta$ -cubeben a další [13].

### 2.6.4. Fenolické látky

Fenolické látky jsou skupinou organických sloučenin, které obsahují fenolický hydroxylový funkční skupin (-OH) vázaný na aromtické jádro. Tyto látky se vyskytují v mnoha rostlinách a jsou důležité pro různé biologické procesy. Jsou nejhojnějšími sekundárními metabolity rostlin, s více než 8 000 fenolickými strukturami, od jednoduchých molekul, jako jsou fenolové kyseliny, až po vysoce polymerizované látky, jako jsou třísloviny. Rostlinné fenoly se obecně podílejí na obraně proti ultrafialovému záření nebo agresí patogenů, parazitů a predátorů a také

přispívají k vybarvení rostlin. Jsou přítomné ve všech rostlinných orgánech, a proto jsou nedílnou součástí lidské stravy. Fenolické látky jsou obsaženy v rostlinných potravinách (ovoce, zelenina, obiloviny, luštěniny, čokoláda atd.) a nápojích (čaj, káva, pivo, víno atd.) a jsou částečně zodpovědné za celkové organoleptické vlastnosti rostlinných potravin. Antokyany, jedna ze šesti podskupin velké skupiny rostlinných polyfenolových složek známých jako flavonoidy, jsou zodpovědné za oranžové, červené, modré a fialové zbarvení mnoha druhů ovoce a zeleniny, jako jsou jablka, řepa a cibule atd. Kromě toho, že mají polyfenoly antioxidační vlastnosti, mají také několik dalších specifických biologických účinků při prevenci a léčbě nemocí [39].

Rostlinné fenolické látky zahrnují fenolické kyseliny, flavonoidy, třísloviny a méně obvyklé stilbeny a lignany. Flavonoidy jsou nejhojnější polyfenoly v naší stravě. Základní strukturou flavonoidů je flavanové jádro obsahující 15 atomů uhlíku uspořádaných do tří kruhů (C6-C3-C6), které jsou označeny jako A, B a C. Flavonoidy samy o sobě dělíme do šesti podskupin: flavony, flavonoly, flavanoly, flavanony isoflavony a antokyany podle oxidačního stavu centrálního uhlíkatého kruhu [39].

#### *2.6.4.1. Třísloviny*

Třísloviny jsou další hlavní skupinou polyfenolů v naší stravě. Jsou to polymerní sloučeniny, které se skládají z monomerních jednotek, které jsou často deriváty kyseliny kávové nebo kyseliny chinové. Existuje mnoho druhů tříslovin, které se liší svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Například proanthokyanidinové třísloviny jsou většinou zodpovědné za chuť a barvu vín, zatímco třísloviny v kůře stromů mohou sloužit jako přírodní léky proti infekcím. V potravinářském průmyslu se třísloviny používají jako přírodní konzervační látky a antioxidanty, které zabraňují oxidaci tuků v potravinách a prodlužují tak jejich trvanlivost. Obvykle se dělí do dvou skupin: hydrolyzovatelné třísloviny a kondenzované třísloviny [39, 45].

##### *2.6.4.1.1. Hydrolyzovatelné třísloviny*

Hydrolyzovatelné třísloviny jsou sloučeniny obsahující centrální jádro z glukózy nebo jiného polyolu esterifikovaného kyselinou galovou nebo kyselinou hexahydroxydifenovou. Mezi hydrolyzovatelné třísloviny patří například kyselina jablečná, kyselina vinná, kyselina citronová a kyselina malonová. Tyto látky jsou důležité pro procesy kvašení a fermentace v potravinářském průmyslu a jsou také důležité pro tvorbu chuti a aromatu v některých potravinách [39, 45].

##### *2.6.4.1.2. Kondenzované třísloviny*

Kondenzované třísloviny jsou oligomery nebo polymery flavan-3-olu spojené meziflavanovou uhlíkovou vazbou. Mezi kondenzované třísloviny patří například taniny, ligniny a huminové kyseliny. Tyto látky se nacházejí v rostlinách a půdě a mají různé funkce. Taniny jsou například důležité pro obranu rostlin, ligniny jsou zodpovědné za tvorbu dřeva a huminové kyseliny jsou důležité pro zadržování vody a živin v půdě. Kondenzované třísloviny také přispívají k výrazné chuti a barvě některých potravin, jako jsou například červené víno, kakao a čaj [39, 45].

Dle studie [40] byly pomocí metody LC-MS identifikovány v černém pepři tyto fenolické sloučeniny:

*Tabulka 2 Fenolické sloučeniny obsažené v černém pepři*

Fenolická sloučenina	Molekulární struktura
Guaiacol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
Kyselina salicylová	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
4-Hydroxybenzoová kyselina	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Kyselina gentisová	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>
Kyselina protocatechuová	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>
Kyselina 4-kumarová	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
Kyselina vanilová	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
Kyselina 4-hydroxymandlová	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
Kyselina kávová	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
Kyselina ferulová	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
Syringová kyselina	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>
Apigenin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>
Luteolin-8-C-glukosid	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>

## 2.7. Nutriční hodnoty

Nutriční neboli výživové hodnoty potravin informují o energetické hodnotě (vyjádřené v kJ nebo kcal) a množství bílkovin, tuků a sacharidů v potravinách. Kromě těchto informací udávají také informace o obsahu soli, vitamínů, minerálů a vlákniny. Na základě těchto údajů můžeme určit, nakolik je potrava pro lidské zdraví prospěšná, či nikoliv [24].

Mezi základní živiny (makronutrienty) řadíme sacharidy, bílkoviny a tuky.

Sacharidy (monosacharidy, disacharidy, polysacharidy) jsou základní živinou pro lidský organismus, jsou především zdrojem energie (z 1 gramu vzniká 16,7 kJ). To znamená, že se konzumují zejména kvůli své energii, nikoliv kvůli stavbě organismu. Pro některé orgány a buňky jsou převažující nebo dokonce jediný zdroj energie. Proto má tělo mechanismy, kterými dokáže na ně v případě potřeby přeměnit jiné živiny. Sacharidy jsou základní zdroj energie například pro červené krvinky, kostní dřeň nebo mozek. Sacharidy jsou součástí mnoha tkání a molekul nepostradatelných pro fungování organismu. Sacharidy se nachází zejména v rostlinných potravinách jako jsou obiloviny, luštěniny, zelenina či ovoce. [25,41].

Bílkoviny, které jsou nezbytné pro růst a obnovování buněk, vývoj svalové hmoty, správnou funkci imunitního systému, mentální a psychomotorický vývoj, pro tvorbu protilátek. Bílkoviny se podílí na tvorbě některých hormonů. Jsou také součástí enzymů, hormonů, genetických struktur a obranných složek, jako například bílé krvinky. Jejich příjem by se měl podle obecného doporučení pohybovat v rozmezí 0,8–2 g bílkovin na kilogram tělesné hmotnosti, v závislosti na věku, zdravotním stavu a objemu fyzické aktivity. [25, 42].

Tuky jsou v potravinách nositeli vitamínů rozpustných v tucích (A, D, E, K) a umožňují jejich vstřebávání. Tuky jsou složeny z glycerolu a mastných kyselin. Chemické vazby mezi uhlíky v řetězci mastné kyseliny určují, jestli se jedná o nasycenou, nenasycenou nebo polynenasycenou

mastnou kyselinu. Mastné kyseliny hrají roli například i v imunitních reakcích nebo v procesu srážení krve. Rovněž se podílí na tvorbě hormonů, na správné funkci mozku a dalších nepostradatelných činnostech [25, 43].

V některých potravinách je obsaženo více sacharidů (ovoce, sladkosti), jiné jsou zase tvořeny hlavně tuky (oleje, máslo) nebo bílkoviny (maso, luštěniny, ryby). Každá potravina má pak určitou energetickou hodnotu [25].

Další skupinou jsou mikronutrienty, mezi které řadíme vitamíny a minerální látky.

Vitamíny jsou esenciální látky nezbytné pro fungování našeho těla, protože podporují spoustu tělesných funkcí. Chemické reakce probíhají díky přítomnosti vitamínů efektivněji a rychleji. Tělo si je ale, až na drobné výjimky, nedokáže vyrobit samo, musí být tedy dodávány ve stravě nebo prostřednictvím doplňků stravy [26].

Minerální látky jsou anorganické sloučeniny, ačkoliv jsou zastoupeny v těle v malém množství, tak jsou nezbytné pro naše tělo. Rozdělují se na makroprvky a na stopové prvky. Tělo si je nedokáže však vyrobit samo, musí tak být dodávány ve stravě a pití. Mezi nejdůležitější minerály jsou: vápník, draslík, hořčík, sodík, zinek, železo, jod, fosfor [26].

Tyto mikronutrienty sice organismu nedodávají energii, ale jsou pro zdraví nezbytné [24].

### 2.7.1. Nutriční hodnoty černého pepře

Toto štiplavé koření obsahuje řadu účinných látek, konkrétně oleoresiny a alkaloidy jako piperin a chavicin. Dále obsahuje také antioxidanty, flavonoidy, esenciální olej a další fenolické sloučeniny, které pomáhají chránit buňky a posilují zdraví trávicího traktu [19].

V Tabulka 3 jsou uvedeny živiny a jejich množství mletého černého pepře na 100 g.

*Tabulka 3 Nutriční hodnoty černého pepře na 100 g [17]*

Živina	množství
Voda	12,5 g
Energie	251 kcal
Bílkoviny	10,4 g
Sacharidy	64,0 g
Vláknina	25,3 g
Cukry	0,64 g
Vápník	443 mg
Železo	9,71 mg
Hořčík	171 mg
Fosfor	158 mg
Draslík	1330 mg
Sodík	20 mg
Zinek	1,19 mg
Mangan	19,8 mg
Selen	4,9 µg
Fluorid	34,2 µg
Riboflavin	0,18 mg
Thiamin	0,108 mg

Živina	množství
Niacin	1,14 mg
Folát	17 µg
Betain	8,9 mg
Beta karoten	310 µg
Lutein	454 µg
Vitamín E	1,04 mg
Vitamín K	164 µg
Vitamín A	27 µg

#### 2.7.1.1. Sacharidy

Jedna polévková lžice černého pepře obsahuje 4,4 gramů sacharidů. Při vaření se obvykle používá méně než 1 polévková lžice. Toto množství by nemělo mít téměř žádný vliv na hladinu cukru v krvi. Množství sacharidů přidaných do pokrmu je prakticky zanedbatelné. V 1 lžici černého pepře jsou téměř 2 gramy vlákniny, takže glykemický efekt a dopad na hladinu cukru v krvi jsou minimální [18].

#### 2.7.1.2. Tuky

Černý pepř obsahuje zanedbatelné množství tuku a je bez cholesterolu [18].

#### 2.7.1.3. Bílkoviny

Černý pepř obsahuje velmi malé množství bílkovin. Proto je nutné konzumovat pestrou stravu a mít i jiné zdroje bílkovin [18].

#### 2.7.1.4. Vitamíny a minerály

Černý pepř obsahuje mnoho důležitých vitamínů a minerálů. Je také dobrým zdrojem manganu, který je důležitý pro zdraví kostí, hojení ran a zdravý metabolismus. Dále je také významným zdrojem vitamínu K, který je nezbytný pro funkci několika proteinů podílejících se na srážení krve, metabolismu kostí a regulaci hladiny vápníku v krvi. Navíc černý pepř obsahuje vitamín C, vitamín E, vitamín A, vitamíny B, vápník a draslík [18].

## 2.8. Průmyslové zpracování černého pepře

Díky veliké poptávce po celém světě a nenahraditelné chuti, aromatu a ostatních látek obsažených v černém pepři, se postupem času začaly vyvíjet různé technologie zpracování tohoto koření pro spotřebitelské použití. Jakmile je pepř sklizen a usušen na úrovni farmy, je pepř podroben třídění a následně dalšímu zpracování. Sušený pepř prochází řadou zpracovatelských zařízení, jako je mechanické síto pro odstraňování špendlíkových hlaviček, rostlinných semen, písku, prachu a podobných nečistot. Tyto operace se nyní provádějí na strojích např. se vzduchovým třídičem s více síty a gravitačních separátorech. Z gravitačních separátorů je pepř dopravován do mechanických myček vybavených kartáči pro odstranění prachu, nečistot, plísni atd. a také pro dodání dobrého lesku produktu, aby se zákazníkovi líbil. Očištěný a omytý pepř se poté odstředí, aby se odstranila voda, a suší se v sušičce (obvykle naftové nebo elektrické, ale s nepřímým ohřevem). Nakonec je usušený pepř poslán pomocí spirál ke konečnému čištění s následnou sterilizací buď parou nebo gama zářením a zabalena do vhodného obalu s polyetylenovou vložkou [21].

### 2.8.1. Mletý pepř

V západních zemích je nejběžnější formou černého mletý pepř. Mletý pepř se vyrábí mletím sušeného, očištěného a sterilizovaného bílého nebo černého pepře v kladivovém mlýnu s kladivky s měděnými hroty. Mletý pepř se poté proseje na síta o požadované velikosti ok, může být hrubý nebo jemný, v závislosti na tom, jak je jemně namletý. Následně se balí do vzduchotěsných nádob. Mletý pepř se často používá jako dochucovadlo k různým pokrmům a jídlům a dodává jim charakteristickou pikantní chuť a vůni. Při výrobě mletého pepře je třeba věnovat pozornost následujícím bodům: [21]

- Úroveň vlhkosti by měla být udržována na minimu, kvůli životnosti pepře, protože vysoká vlhkost ji negativně ovlivní.
- Obsah těkavého oleje by neměl být během procesu broušení ovlivněn.
- Balení by mělo být vzduchotěsné a bezpečné.
- Měla by být zajištěna mikrobiologická čistota (bez plísní a bakterií).

Novější technologií mletí pepře je kryo-mletí. V této nové technice se mletí provádí při nízké teplotě, aby se snížily ztráty oleje. To se provádí vstřikováním kapalného dusíku do mlecí zóny a teplota se vhodně upravuje řízením průtoku LN<sub>2</sub> (tekutý dusík). Kryo-mleté koření se ve formulacích koření rovnoměrněji disperguje a těkavý olej a ztráta chuti jsou minimalizovány [21].

### 2.8.2. Pepřový olej

Pepřový olej je silný aromatický olej získaný z pepřových plodů. Pepřový olej se vyrábí buď destilací vodní parou nebo macerací pepřových plodů v oleji. Silice obsahuje monoterpeny a seskviterpeny a jejich okysličené deriváty s body varu v rozmezí 80–200 °C. Průmyslová výroba pepřového esenciálního oleje je parní destilací, průchodem páry pepřovým práškem obsaženým v destilační komoře. Těkavý olej, který vychází spolu s párou, se shromažďuje v kondenzátoru a později se regeneruje, suší a skladuje ve vzduchotěsných nádobách. Pepřový olej se používá k dochucení různých jídel, jako jsou omáčky, polévky, marinády a saláty. Také se může použít k masážím pro uvolnění svalů a zmírnění bolesti [21].

### 2.8.3. Oleoresin

Oleoresin je extrakt z rostlinných materiálů, který se používá jako přírodní aroma a barvivo. Oleoresiny se získávají z různých rostlin, jako jsou koření, bylinky a kořeny, a obsahují směs olejů a pryskyřic, které jsou zodpovědné za chuť, vůni a barvu rostliny. Pro výrobu oleoresinu se obvykle používá rozpouštědlo, aby se extrahovaly aktivní složky z rostlinného materiálu. Rozpouštědlo se poté odpaří, aby se získal výsledný oleoresin. To znamená, že obsahuje všechny tepelné složky, fixátory, přírodní antioxidanty a pigmenty. Oleoresiny jsou také známé jako kořenící kapky a jsou často mylně považovány za esenciální oleje. Těkavé a netěkavé složky přítomné v oleoresinu pomáhají vytvářet aroma a chuť. Oleoresiny jsou koncentrované a často se používají v potravinářském průmyslu k přidávání chuti a barvy do potravin nebo v kosmetice a lékařských přípravcích. Oleoresiny se extrahují z koření různými způsoby. Většina oleoresinů z koření se získává tepelnou destilací. Každý oleoresin z koření slouží mnoha účelům [23].

### 2.8.3.1. Oleoresin z černého pepře

Oleoresin z černého pepře je extrakt získaný z černého pepře (*Piper nigrum*). Jedná se o silný koncentrát, který obsahuje aromatické sloučeniny a oleje, které se vyskytují v pepři. Oleoresin z černého pepře se většinou používá v potravinářském průmyslu jako ochucovadlo a barvivo. Používá se také jako přírodní konzervant potravin. Využívá se také v průmyslu jako přísada do parfémů, kosmetických výrobků a léků [23].

Oleoresin je také známý pro své aromatické hodnoty. Vdechování jeho silného aroma pomáhá uklidnit emoce. Pomáhá zmírnit úzkostné pocity. Oleoresin z černého pepře obsahuje přírodní chemikálie, jako jsou monoterpeny a seskviterpeny, které podporují imunitní systém [23].

Oleoresin se běžně prodává jako kapky koření a obsahuje celkovou štiplavost a chuťové složky pepře. Oleoresin se vyrábí rozpouštědlovou extrakcí pepřového prášku za použití vhodného organického rozpouštědla, jako je aceton, ethanol, ethylacetát nebo ethylendichlorid. K tomu se používá buď jednostupňový nebo dvoustupňový proces. V prvním případě se olej získá spolu s pryskyřicemi extrakcí rozpouštědlem. Ve druhém procesu se olej izoluje destilací s vodní parou, po které následuje extrakce rozpouštědlem pro získání oleoresinu. Později se oleoresin a olej smísí tak, aby splňovaly požadované specifikace. Celý proces extrakce oleoresinu se obvykle provádí v dávkových extraktorech [21].

## 2.9. Působení černého pepře na lidské zdraví

Černý pepř je všestranné koření používané v různých pokrmech. Mezi potenciální zdravotní výhody používání černého pepře patří stimulační, antioxidační, antimikrobiální, protizánětlivé a protirakovinotvorné účinky. Dále pomáhá s dýcháním, zažívacím ústrojím, zlepšením kontroly krevního cukru a funkcí mozku [17].

Typickým účinkem pepře na náš organismus je stimulační působení. Proto je také považován za přírodní afrodisiakum. Látky obsažené v pepři zlepšují krevní oběh, zvedají krevní tlak a tím i zlepšují zásobování orgánů živinami a kyslíkem. Piperin působí jako významný stimulant centrální nervové soustavy. Subjektivně v nás tak pepř vyvolává pocit přívalu velkého množství energie a zbystrění smyslů. Všeobecné zlepšení prokrvení orgánů zároveň zvyšuje naši citlivost vůči vnějším podnětům [4, 38].

Černý pepř se od pradávna používá jako tradiční lék k léčbě běžného nachlazení a kašle. Podporuje krevní oběh a tok hlenu. Pomáhá také při astmatických stavech, čistí dýchací cesty a zlepšuje dýchací potíže. Černý pepř zmírňuje překrvení hrudníku a ucpávání nosu [12].

Piperin inhibuje volné radikály a reaktivní formy kyslíku, které mohou poškodit naše buňky. Volné radikály se tvoří v lidském těle přirozeně. Nadměrné množství volných radikálů může způsobit srdeční choroby nebo různé záněty. Studie na hlodavcích zjistily, že doplňky z mletého černého pepře a piperinu mohou snížit poškození volnými radikály a působí tak antioxidačně. *Piper nigrum* má antioxidační aktivitu, která může být způsobena kromě piperinu také přítomností flavonoidů a obsahu fenolů. Bylo zjištěno, že zabraňuje oxidativnímu stresu inhibicí peroxidace lipidů, lidské lipoxygenázy a zastavením hydroxylových a superoxidových volných radikálů, což snižuje karcinogenezi plic. Strava s vysokým obsahem antioxidantů může pomoci předcházet nebo oddálit škodlivé účinky volných radikálů [12, 49].



Antimikrobiální aktivita piperinu se zvyšuje se zvyšující se koncentrací bakterií i hub. Grampozitivní bakterie jsou vůči extraktům z pepře citlivější než gramnegativní bakterie. Rozdíly v inhibici mezi grampozitivními a gramnegativními bakteriemi jsou způsobeny složením buněčné stěny a buněčné membrány [12].

Chronický zánět může být základním faktorem vzniku artritidy, srdečního onemocnění, cukrovky nebo rakoviny. Piperin zlepšuje krevní oběh a také snižuje bolest díky svým protizánětlivým vlastnostem a je skvělý při léčbě kloubních bolestí při artritidě. Černý pepř obsahuje účinnou látku, u které bylo prokázáno, že snižuje zánět u zvířat. Stále není jasně prokázáno, zda má stejné účinky také u lidí. [12, 49].

Piperin přítomný v černém pepři zvyšuje biologickou dostupnost důležitých živin pro vstřebávání tělem. Živiny, jako jsou selen, vápník, beta-karoten, kurkumin a vitamíny A a C, jsou v přítomnosti piperinu absorbovány ve větším množství. Piperin zpomaluje činnost střev, aby se zlepšilo vstřebávání živin. Podporuje vylučování trávicích šťáv a enzymů, které pomáhají zlepšit proces trávení. Působí pozitivně na pankreatické enzymy, má silné karminativní vlastnosti, pomáhá při plynatosti a kolikových bolestech [12, 49].

Některé studie naznačují, že piperin může zlepšit hladinu cukru v krvi a zlepšit citlivost na inzulín, což znamená, jak moc dokáže hormon inzulín odstranit glukózu z krevního řečiště. V jedné studii užívalo 86 jedinců s inzulínovou rezistencí doplněk obsahující piperin po dobu 8 týdnů. Po 8 týdnech bylo pozorováno zlepšení jejich citlivosti na inzulín. V této studii byl použit doplněk stravy, který obsahoval nejen piperin, což znamená, že nelze jasně stanovit, zda samotný černý pepř dokáže zlepšit citlivost na inzulín [17, 49].

Bylo prokázáno, že piperin snižuje příznaky spojené s Parkinsonovou a Alzheimerovou chorobou a také zlepšuje funkci mozku. Studie ukazují, že piperin zvyšuje paměť a také schopnost snižovat produkci amyloidních plaků, což jsou škodlivé proteiny spojené s Alzheimerovou chorobou. Avšak tyto výsledky studií byly pozorovány na hlodavcích a není prozkoumána tato funkce i na lidech [17, 49].

Ačkoli dosud nebyly provedeny žádné studie na lidech, tak studie ve zkumavkách zjistily, že piperin zpomaluje replikaci buněk rakoviny prsu, prostaty a tlustého střeva a vyvolává smrt rakovinných buněk. Další studie popisuje, že piperin z černého pepře byl nejučinnější při zvyšování účinnosti tradiční léčby rakoviny prsu, nejagresivnějšího typu rakoviny. Piperin navíc v laboratorních studiích prokázal slibné účinky na zvrácení mnohočetné lékové rezistence u rakovinných buněk, což je problém, který narušuje účinnost chemoterapie [49].

### **2.9.1. Alergie**

Alergie na černý pepř jsou poměrně vzácné, ale i přesto se mohou vyskytovat. Alergie jsou obvykle způsobeny reakcí na proteiny v pepři, které tělo považuje za cizí a začne proti nim produkovat protilátky. Alergie se může projevit jako mravenčení nebo svědění v ústech, kopřivka, bolest břicha a možná nevolnost v podobě průjmů a zvracení. Příznaky mohou také zahrnovat sípání nebo otok rtů, jazyka, úst a hrdla. Pro život ohrožující příznaky potravinové alergie je vhodné vyhledat lékařskou pomoc [17].

## 2.10. Skladování pepře

Různé formy černého pepře mají různou trvanlivost. Mletý pepř má kratší trvanlivost než ve formě celých zrn, protože po několika měsících začne rychle ztrácet své aroma a chuť (dokonce hořknout). Mletý pepř má větší část povrchu vystavenou prvkům, jako je sluneční záření, kyslík a vlhkost, a proto má kratší trvanlivost. Celá zrnka pepře si nejdéle zachovávají své esenciální oleje, aroma a chuť. Při správném skladování vydrží 2-4 roky při pokojové teplotě. Mletý pepř vydrží 2-3 roky při pokojové teplotě, ale při nevhodném skladování se může zkazit za několik měsíců [22].

Pepř by měl být skladován na suchém a temném místě, aby bylo zabráněno kontaktu s vlhkostí a přímým slunečním zářením. Vlhkost může ovlivnit chuť a kvalitu pepře a sluneční záření může způsobit oxidaci a snížení kvality. Pepř by měl být uchováván v suchých a uzavřených nádobách. Tím bude zabráněn kontakt s vlhkostí nebo vzduchem, což může ovlivnit chuť a aroma. Uchovávaní pepře v papírových sáčcích nebo v otevřených nádobách je nevhodné, protože to může způsobit ztrátu chuti a aromatu. Plastové nádoby mají tendenci pohlcovat pachy. Nejvhodnější nádoby jsou skleněné či keramické, které zajišťují lepší vzduchotěsnost. Měl by být skladován odděleně od jiných koření [22].

## 2.11. Analýza pepře

V černém pepři se nejčastěji stanovují: esenciální oleje (pomocí metody GC-MS), fenolické látky (pomocí metody LC-MS) a mnou stanovovaný piperin (pomocí metody HPLC). Nejprve je potřeba vyextrahovat piperin z černého pepře do roztoku a následně roztok s vyextrahovaným piperinem analyzovat pomocí HPLC.

### 2.11.1. Metody extrakce piperinu z černého pepře

K izolaci piperinu se používají různé extrakční metody s různou výtěžností. Zdroj [48] udává některé z nich:

- Extrakce iontovou kapalinou za pomoci ultrazvukové vodní lázně  
V této technice je 1 g namletého černého pepře smíchán s 10 ml různých iontových roztoků. Vzorek je extrahován v ultrazvukové vodní lázni. Příprava iontové kapaliny se provádí rozpuštěním různých sérií 1-alkyl-3-methylimidazoliových iontových kapalin v deionizované vodě o koncentraci 0,530 mol/l. Vzorek je následně ochlazen na laboratorní teplotu a zfiltrován pomocí Buchnerovy nálevky. Filtrát se zředí 50 ml deionizované vody a přefiltrován 0,2 mm filtrem. Poté se vzorek podrobí analýze ultravýkonnou kapalinovou chromatografií [48].
- Macerace černého pepře v ledové kyselině octové  
Při této metodě se 25 g namletého černého pepře smíchá s 50 ml ledové kyseliny octové a nechá 5 min macerovat. Tento proces se 4x až 5x opakuje, abychom docílili větší výtěžnosti. Získané extrakty byly zfiltrovány a sdruženy. Sdružený roztok kyseliny octové se dále zředí ekvivalentním množstvím destilované vody a extrahuje se 100 ml chloroformu. Extrakt se důkladně promyje 10% roztokem NaHCO<sub>3</sub> následně vodou. Vrstva chloroformu je sušena síranem sodným a následně sušena při 60 ° C na vodní

lázni. Získaný zbytek se poté rekrystalizuje pomocí chloroformu, přidá se diethylether do roztoku chloroformu. Výsledným produktem jsou jehlicovité krystaly. Opakovaný proces rekrystalizace zvýší čistotu surového produktu [48].

- Extrakce pomocí ethanolu

V této metodě se 10 g namletého černého pepře extrahuje 150 ml 95% ethanolu za použití Soxhletova extraktoru po dobu 2-3 hodin. Extrakt se poté zfiltruje a zakoncentruje na vodní lázni při 60 °C. Dále se k filtrátu přidá 10 ml 10% roztoku hydroxidu draselného a následuje kontinuální míchání. Zbytek nerozpustného materiálu se oddělí a alkoholový extrakt, který se zfiltruje pomocí membránového filtru se uchová přes noc [48].

- Extrakce piperinu pomocí ultrazvuku

Touto metodou lze získat vysokou výtěžnost piperinu. Pomocí ultrazvukem asistované extrakce (UAE) s optimálním výkonem 125 W po dobu 5 hodin [48].

## 2.11.2. HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, high performance liquid chromatography) se řadí mezi nejpoužívanější a nejuniverzálnější typ eluční chromatografie. Používá se k separaci a následnému stanovení analytů obsažených v mnoha organických, anorganických i biologických materiálech, které jsou rozpustné ve vodě, v organických rozpouštědlech nebo zředěných kyselinách. Separace probíhá na základě fyzikálně-chemických vlastností. Její velká výhoda je vysoká účinnost a dobrá opakovatelnost. V kapalinové chromatografii je jako mobilní fáze kapalina, do které je dávkován kapalný vzorek, který obsahuje rozpuštěné analyty [46, 47].

HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fází. Stacionární fáze je zakotvena v chromatografické koloně, která je naplněna částicemi sorbentu pravidelného tvaru o velikosti 3–10 μm. Kolonou poté protéká mobilní fáze, která je popoháněna vysokotlakými čerpadly k vyvinutí velkého průtoku. Kvůli tomu musí být přístroj odolný vůči vysokým tlakům až 40 MPa. Vzorek se dle nastaveného programu automaticky dávkuje v množství několika mikrolitrů, přičemž nedochází k přerušení toku mobilní fáze. Po průchodu separační kolonou jsou analyty v mobilní fázi detekovány v průtokové cele detektoru. Nejpoužívanější detektory jsou průtokové s citlivou kontinuální detekcí. Měřenou veličinou je absorbance, fluorescence, index lomu a elektrická vodivost. Celá analýza probíhá automaticky, tudíž je přístroj vybaven počítačovým systémem pro zpracování naměřených dat, integrátorů a řídicími mikroprocesory, které předem zvolí pracovní podmínky a změny pro série analýz. Výstupem z detektoru je grafický záznam, tj. chromatogram závislosti odezvy detektoru na retenčním čase. Na chromatogramu se následně vyhodnocují výsledky dle plochy nebo výšky píku. Kvantitativní analýza se provádí na principu odečtení výsledku z kalibrační křivky [46, 47].

### 2.11.2.1. Instrumentace

Mobilní fáze je přiváděna ze zásobní lahve přímo do vysokotlakého čerpadla, přičemž je při složitějších směsích mobilní fáze čerpána ze dvou i více zásobních lahví. Z tohoto důvodu je nutné vést mobilní fázi přes směšovač, kde dochází ke smíchání látek dle požadovaného množství v programu. Směšovač se nachází před nebo za vysokotlakým čerpadlem. V případě potřeby se do toku mobilní fáze řadí tlumič tlakových rázů, ze kterého se vede mobilní fáze přes dávkovací

systém vzorku do kolony. Druhů kolon je velké množství, nejčastěji je vyrobena z nerezové oceli a je přímo napojena na detektor. Signál z detektoru je poté veden přes zesilovač do počítače [46, 47].

Kapalinový chromatograf mnohdy obsahuje také řadu dalších doplňkových zařízení, kterými jsou předkolony, ventily pro přepojování chromatografických kolon během separace, ochranné filtry a zařízení na odplynění mobilní fáze [46, 47].

#### *2.11.2.2. Mobilní fáze*

Správný výběr mobilní fáze je velice důležité rozhodnutí při nastavování parametrů separace. Nejvíce se využívá v systému normálních fází směs nepochárného rozpouštědla (hexan, heptan) a rozpouštěné polární složky (isopropanol, dichlormethan). V systému reverzních fází se nejčastěji používá směs polárního rozpouštědla (voda) s přísávkem organického rozpouštědla (acetonitril, methanol). V případě, že se nemění složení mobilní fáze během analýzy, jedná se o izokratickou eluci. Pokud se složení fáze mění během analýzy, jedná se o gradientovou eluci [46, 47].

#### **2.11.3. Detekce**

Po separaci částic v koloně následuje jejich detekce. Detektor slouží k rozeznání a záznamu rozdílu signálu mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fáze obsahující analyt. Vhodný detektor je vybrán na základě fyzikálně-chemických vlastností analyzovaných látek. Detektorů v kapalinové chromatografii je více druhů: např. UV-VIS, fluorescenční, elektrochemický, refraktometrický, vodivostní, ELSD, CAD. V praxi se také často využívá spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) [46, 47, 50].

##### *2.11.3.1. Detektor s diodovým polem (DAD detektor)*

Detektor s diodovým polem patří mezi spektrofotometrické detektory. Na základě chemické struktury analyzované sloučeniny je zvolena vhodná vlnová délka z rozsahu 190-950 nm tak, aby bylo dosaženo maximální absorpance analytu. DAD detektor využívá standardní (konvenční) cely, kterou prochází ultrafialové záření generované deuteriovou a wolframovou lampou. Následně je detekována intenzita paprsku, která vychází z průtokové cely. Lze nastavit šířku štěrbin, kterou prochází paprsek. V průběhu celé analýzy je snímáno spektrum fotodiodovým polem a měří se změna absorpance každé fotodiody [46, 50].

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1. Použité přístroje, zařízení a pomůcky

- kapalinový chromatograf (Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies)
  - Čerpadlo - 1260 Infinity Quaternary Pump
  - Autosampler - 1260 Infinity Autosampler
  - Termostat kolony - 1290 Infinity Thermostat
  - Detektor - 1260 Infinity Diode Array Detector
- Kolona HPLC (Kinetex EVO C18 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m))
- Analytická váha (Entris)
- Laboratorní sklo (odměrné baňky, kádinky a nálevky)
- Injekční stříkačky (BD Discardit)
- Stříkačkové filtry CHS s velikostí pórů 0,45  $\mu$ m Nylon (Chromservis)
- Plastové zkumavky 10 ml
- Skleněné vialky a víčka (Agilent Technologies, 2 ml)
- Vícemístná magnetická míchačka IKA RO10 (Verkon)
- Míchadlo
- Automatické pipety (Thermo Scientific, 5-50  $\mu$ l a 100-1000  $\mu$ l)
- Špičky
- Pipeta (10 ml)
- Pipetovací balónek
- Parafilm (Bemis)
- Karl-Fisher titrátor

#### 3.2. Použité chemikálie

- Destilovaná voda
- Absolutní ethanol (> 99,8%, p.a. - HPLC grade) (Fisher Scientific s.r.o.)
- Aceton (> 99,8%, p.a. - HPLC grade) (Fisher Scientific s.r.o.)
- Standardní vzorek piperinu ( $\geq$  97%, p.a.) (Sigma Aldrich)
- Acetonitril (100%, p.a.) (VWR Chemicals)
- Kyselina octová (99,8%, p.a.) (PENTA)
- Methanol (99,8%, p.a.) (Merck)
- Hydranal – Titrant 5 (Honeywell)
- Hydranal – Solvent (Honeywell)

#### 3.3. Použitý materiál

- Standardní vzorek piperinu (p.a.  $\geq$  97%) (Sigma Aldrich)
- Pepř černý mletý (Avokádo)
- Pepř černý mletý (J. C. Horn)
- Pepř černý mletý (Kotányi)

- Pepř černý mletý (Albert)
- Pepř černý mletý (Gustito)
- Pepř černý mletý (Koření od Lubana)
- Pepř černý mletý (Nadir)
- Pepř černý mletý (Vitana)
- Pepř černý mletý (T. E. Stockwell)
- Pepř černý mletý (Sonnentor)

### **3.4. Parametry vysokoúčinného kapalinového chromatografu**

Jednotlivé parametry analýzy byly nejprve testovány na standardním vzorku piperinu. Na základě výsledků testování byly nastaveny nejideálnější parametry analýzy. Tato metoda byla použita u všech analyzovaných vzorcích metodou HPLC. Jako mobilní fáze byl použit z 60 % acetonitril a ze 40 % 1% roztok kyseliny octové (ředěno destilovanou vodou). Jako stacionární fáze byla použita kolona Kinetex EVO C18. Průtok mobilní fáze byl 0,700 ml/min, objem nástřiku 5 µl, teplota kolony byla 30 °C a jako detektor byl použit DAD při vlnové délce 340 nm a hmotnostní detektor s elektrosprejovou ionizací, na kterém byla pro snímání signálu nastavena hmota 286,1. Doba analýzy jednoho vzorku byla nastavena na 20 min. Retenční čas piperinu byl v průměru 4,5 min.

### **3.5. Stanovení extrakční metody**

#### **3.5.1. Extrakční metoda s rozpouštědlem – ethanol (99,8%)**

Nejprve byl navážen na analytické váze do kádinky 1 g s přesností na čtyři desetinná místa vzorku namletého černého pepře značky Vitana. Ke vzorku bylo poté přidáno 10 ml absolutního ethanolu (99,8%) a vloženo míchadlo. Vzorek byl umístěn na vícemístnou magnetickou míchačku a v závislosti na čase byl vzorek míchán za laboratorní teploty. Po uplynutí určitého času byl vzorek kvantitativně převeden destilovanou vodou z kádinky přes nálevku do 25 ml odměrné baňky a vzorek byl doplněn destilovanou vodou po značku. Vzorek byl důkladně promíchán a převeden do injekční stříkačky se stříkačkovým filtrem a přes filtr dále převeden do vialky. Vzorek byl poté změřen přístrojem HPLC.

Takto bylo připraveno 8 vzorků v časové závislosti po 15 min, nejdelší extrakční míchání tedy trvalo 2 hod. Každý vzorek byl jednou opakován, abych získal relevantní data.

#### **3.5.2. Extrakční metoda s rozpouštědlem – ethanol (50%)**

Druhá extrakční metoda probíhala totožně jako ta předchozí s tím rozdílem, že byl absolutní ethanol zředěn 1:1 s destilovanou vodou, aby bylo získáno rozpouštědlo ethanolu (50%). Opět bylo vyhotoveno 8 vzorků v časové závislosti s jedním opakováním.

### 3.5.3. Extrakční metoda s rozpouštědlem – aceton (99,8%)

Třetí extrakční metoda probíhala opět stejně jako dvě předchozí, akorát s tím rozdílem, že místo ethanolu byl použit aceton (99,8%). Vzorky byly před analýzou 10x zředěny z důvodu příliš vysoké koncentrace nenaředeného vzorku. I v tomto případě bylo vyhotoveno 8 vzorků v časové závislosti s jedním opakováním.

### 3.6. Příprava kalibračních roztoků

Jako standardní vzorek byl použit piperin od značky Sigma Aldrich ( $\geq 97\%$ ). Nejprve bylo na analytické váze naváženo 0,0250 g standardního vzorku piperinu. Toto množství bylo následně kvantitativně převedeno do odměrné baňky (25 ml) a doplněno acetonem po značku, aby vznikl zásobní roztok. Tento zásobní roztok o koncentraci 1000 mg/L byl rozředěn na koncentraci 100 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L a 10 mg/L. Tyto čtyři roztoky byly následně převedeny do vialek, uzavřeny víčkem a změřeny přístrojem HPLC.

### 3.7. Příprava reálných vzorků

Do kádinky byl navážen na analytické váze 1 g s přesností na čtyři desetinná místa namletého černého pepře dané značky, viz. Tabulka 4. K tomuto množství bylo přidáno 10 ml acetonu a vzorek s míchadlem byl umístěn na vícemístnou magnetickou míchačku na 15 min. Po 15 min byl vzorek převeden pomocí nálevky do odměrné baňky (25 ml) a doplněn destilovanou vodou po značku. Po důkladném promíchání byl vzorek převeden injekční stříkačkou s filtrem do plastové zkumavky. Do připravené vialky bylo pipetováno automatickou pipetou nejprve 960  $\mu$ l destilované vody a poté ze zkumavky bylo pipetováno 40  $\mu$ l přefiltrovaného vzorku k požadovanému dvaceti pěti násobnému zředění vzorku. Vzorek ve vialce byl uzavřen víčkem, důkladně promíchán a vložen do zásobníku kapalinového chromatografu k analýze. Všechny vzorky byly připraveny dvakrát abych získal relevantní data.

Takto byly připraveny všechny vzorky namletého černého pepře, viz Obrázek 3.

Tabulka 4 Hmotnosti navážky jednotlivých vzorků pepře

Číslo vzorku	Název výrobce	Hmotnost navážky v gramech (A)	Hmotnost navážky v gramech (B)
1	Avokádo	1,0004	1,0000
2	J. C. Horn	0,9998	0,9999
3	Kotányi	1,0000	0,9999
4	Albert	1,0003	1,0003
5	Gustito	1,0002	1,0000
6	Koření od Lubana	1,0000	0,9998
7	Nadir	1,0004	1,0003
8	Vitana	1,0000	1,0002
9	T. E. Stockwell	1,0003	0,9997
10	Sonnetor	1,0002	1,0003



Obrázek 3 Připravené reálné vzorky k analýze

### 3.8. Příprava vzorků na stanovení vody titračně podle Karl-Fishera

Nejprve byly popsané Erlenmayerovy baňky zváženy na analytické váze a hmotnost byla zapsána ( $m_b$ ). Následně do již zvážených baněk bylo odváženo přibližně 0,5 g vzorku mletého černého pepře a baňka se vzorkem byla opět zvážena a hmotnost zapsána ( $m_{bpepř}$ ). Ke vzorku bylo přidáno 20 ml methanolu, baňka zvážena a hmotnost zapsána ( $m_{bpepřOH}$ ). Slepý vzorek byl připraven stejně, akorát bez vzorku pepře.

Všechny baňky byly zadělány parafilmem, aby nedošlo k vytékání methanolu a zároveň aby se do vzorku nedostala voda z ultrazvukové lázně. Všechny Erlenmayerovy baňky byly vloženy do ultrazvukové lázně vyhříváné na 50 °C po dobu 15 minut. Po vychladnutí baněk bylo z každé baňky odebráno asi 5 ml vzorku injekční stříkačkou s filtrem a vzorek byl přefiltrován do vysušených označených vialek. Karl-Fisherův titrátor byl zapnut. Do titrační cely bylo opatrně přidáno titrační činidlo hydranal a míchadlo. Přístroj byl nastaven a zkalibrován. Do injekční stříkačky s jehlou byl nabrán asi 1 ml vzorku, případné vzduchové bubliny byly vytlačeny. Naplněná injekční stříkačka byla zvážena na analytické váze, váha byla vytárována a vzorek byl nadávkován do titrační cely, stříkačka byla poté zvážena a rozdíl hmotností byl zapsán do přístroje. Po spuštění přístroje začala titrace vzorku. Po ukončení titrace byl obsah vody v % ukázán na displeji přístroje. Takto bylo postupováno u všech vzorků. Každý vzorek byl ztitrován dvakrát, abych získal relevantní data.



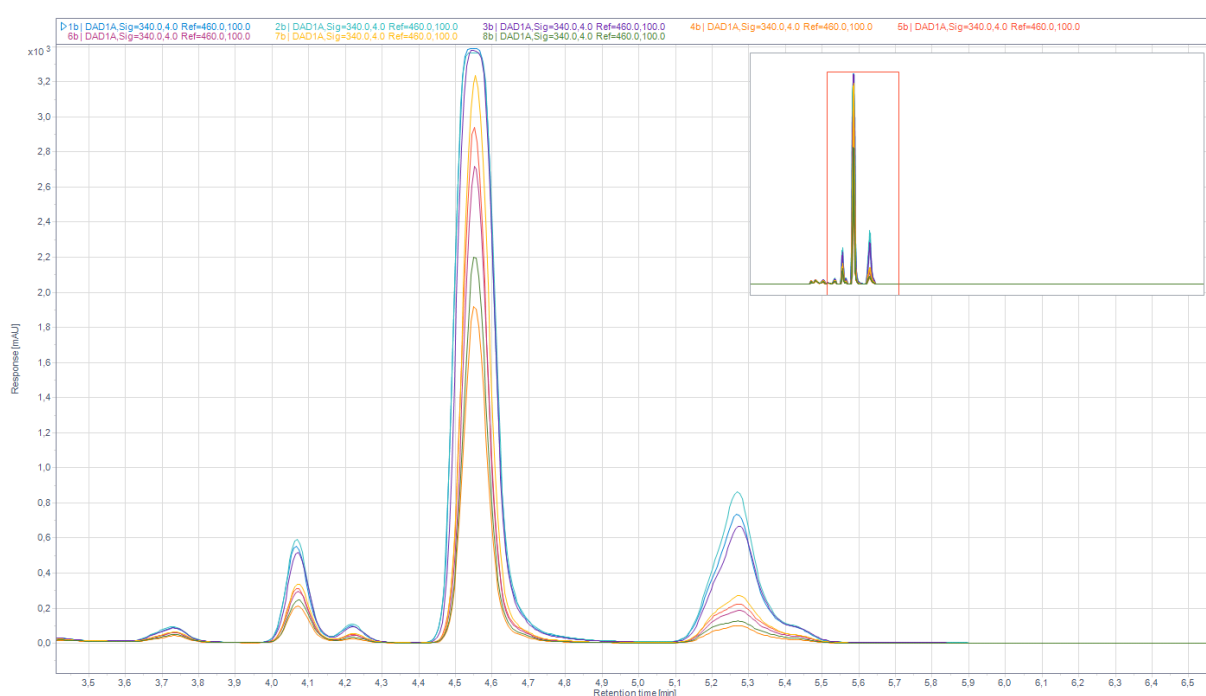
## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1. Statistické zpracování dat

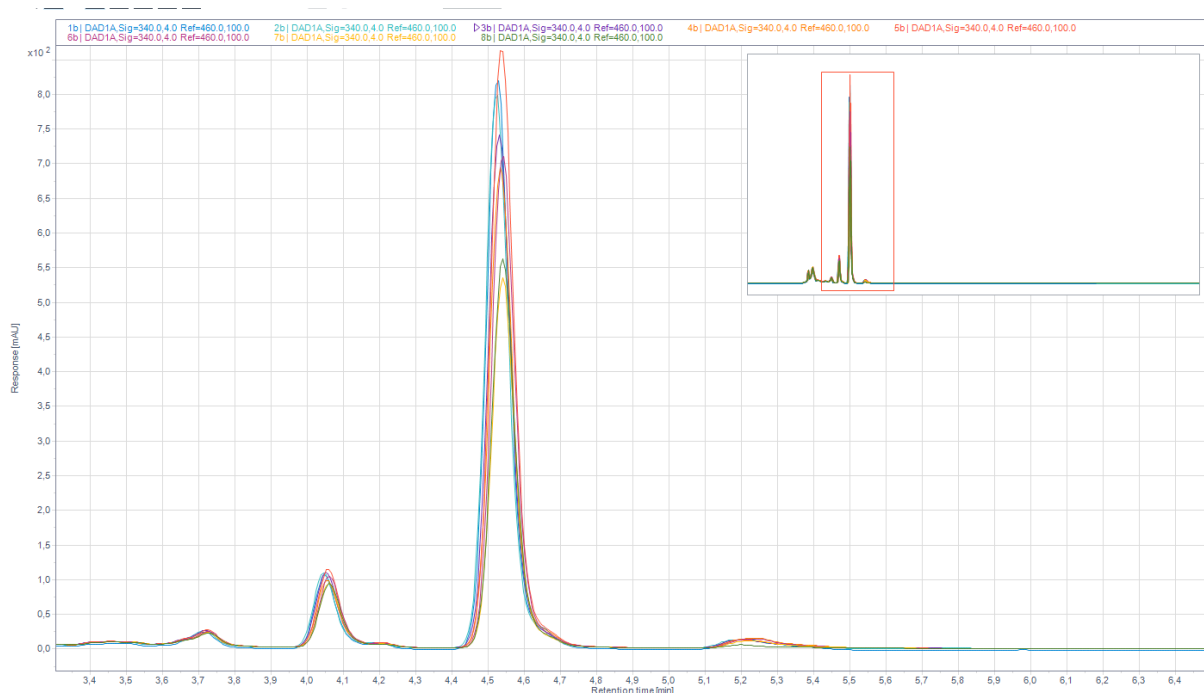
Všechny naměřené hodnoty byly zpracovány pomocí programu MS Excel, kde byly používány funkce PRŮMĚR a SMODCH.VÝBĚR.S. Výsledky vzorků po analýze HPLC byly vyhodnocovány v programu Data analysis a statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí jednofázového ANOVA s Tukey HSD testem.

### 4.2. Vyhodnocení extrakčních metod

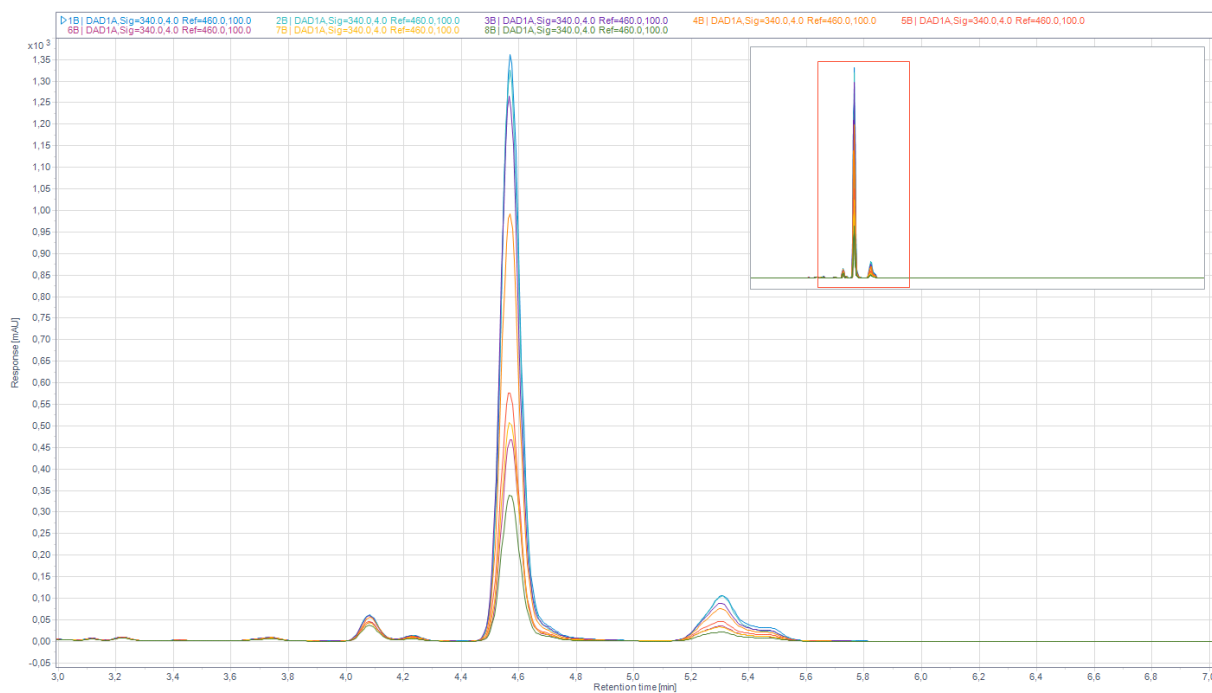
Z výsledků analýz lze jasně stanovit, že doba míchání vzorků na vícemístné magnetické míchače měla velký vliv na sílu signálu piperinu ve všech třech typech rozpouštědla. Dále lze také říct, že většinou byl signál s delší dobou míchání nižší, viz. Obrázek 4, Obrázek 5, Obrázek 6. Důvodů může být několik, např. nestabilita piperinu v daném rozpouštědle, ovšem určitý podložený důvod nebyl zjištěn. Z Obrázek 7 je zřejmé, že pro analýzu reálných vzorků namletého černého pepře je nejméně vhodné použít jako rozpouštědlo ethanol (50%) a dále také, že mezi zbylými dvěma rozpouštědly (aceton (99,8%) a ethanol (99,8%)) je velmi malý rozdíl ve velikosti signálu, a proto bylo zvoleno pro analýzu reálných vzorků jako rozpouštědlo aceton, který dosahoval největšího signálu.



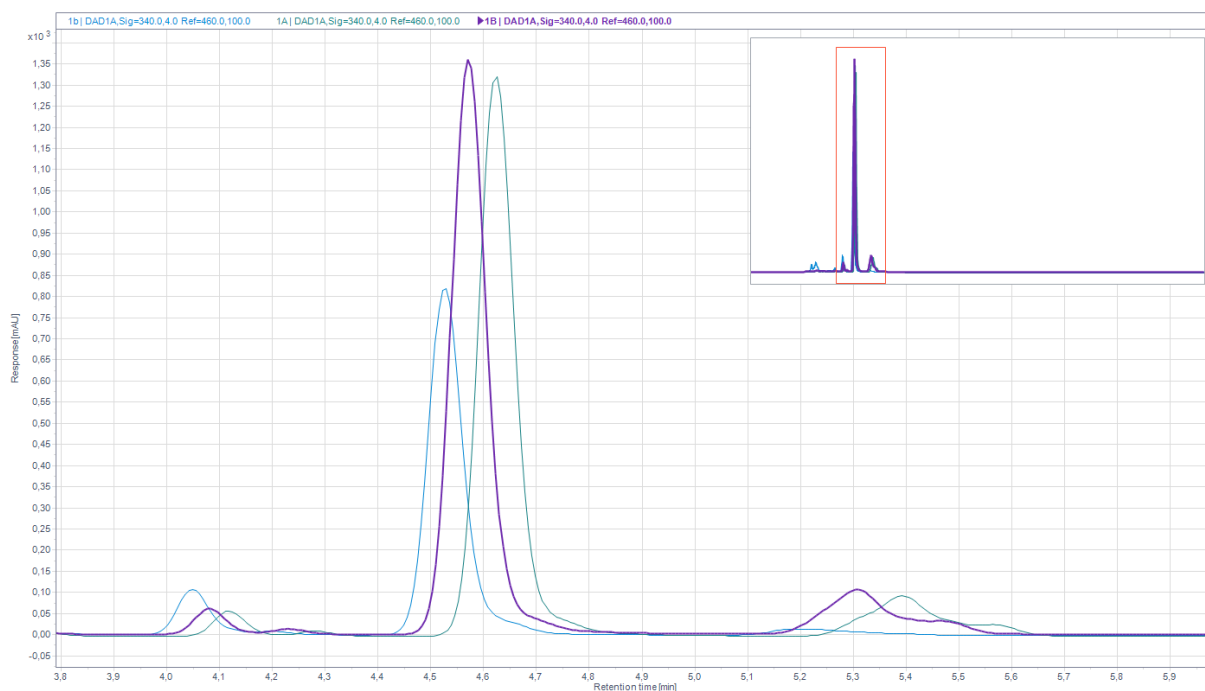
Obrázek 4 Chromatogram – ethanol (99,8%) při použití DAD detektoru



Obrázek 5 Chromatogram – ethanol (50%) při použití DAD detektoru



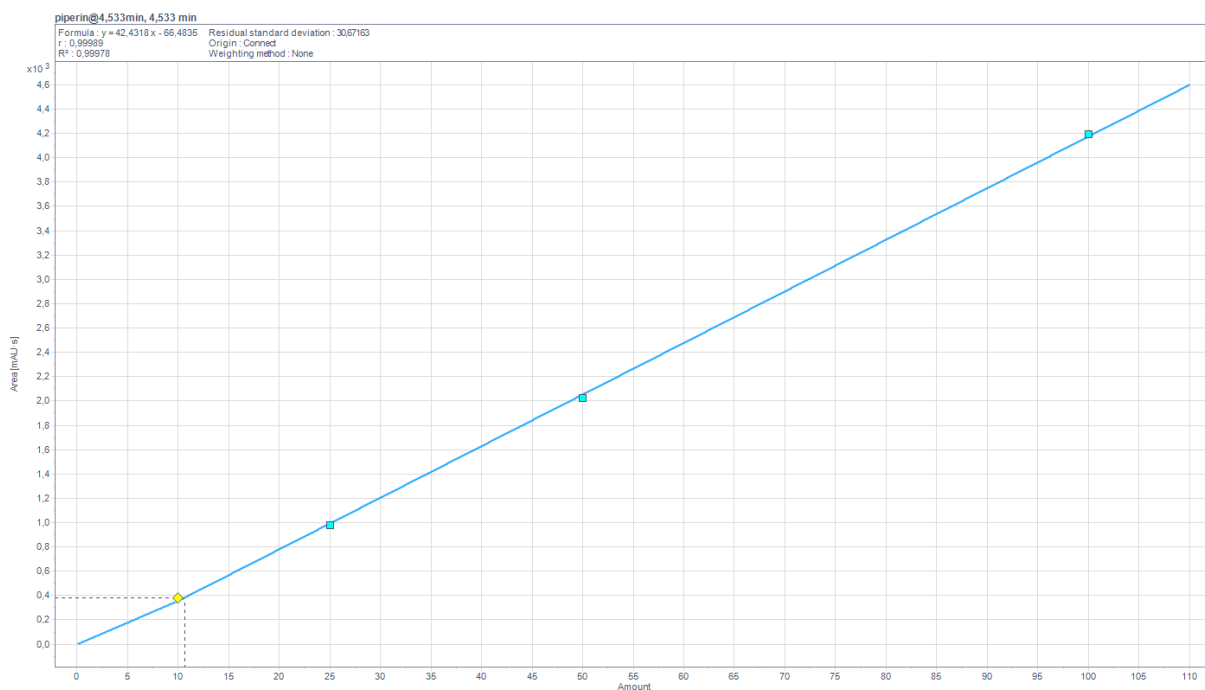
Obrázek 6 Chromatogram – aceton při použití DAD detektoru



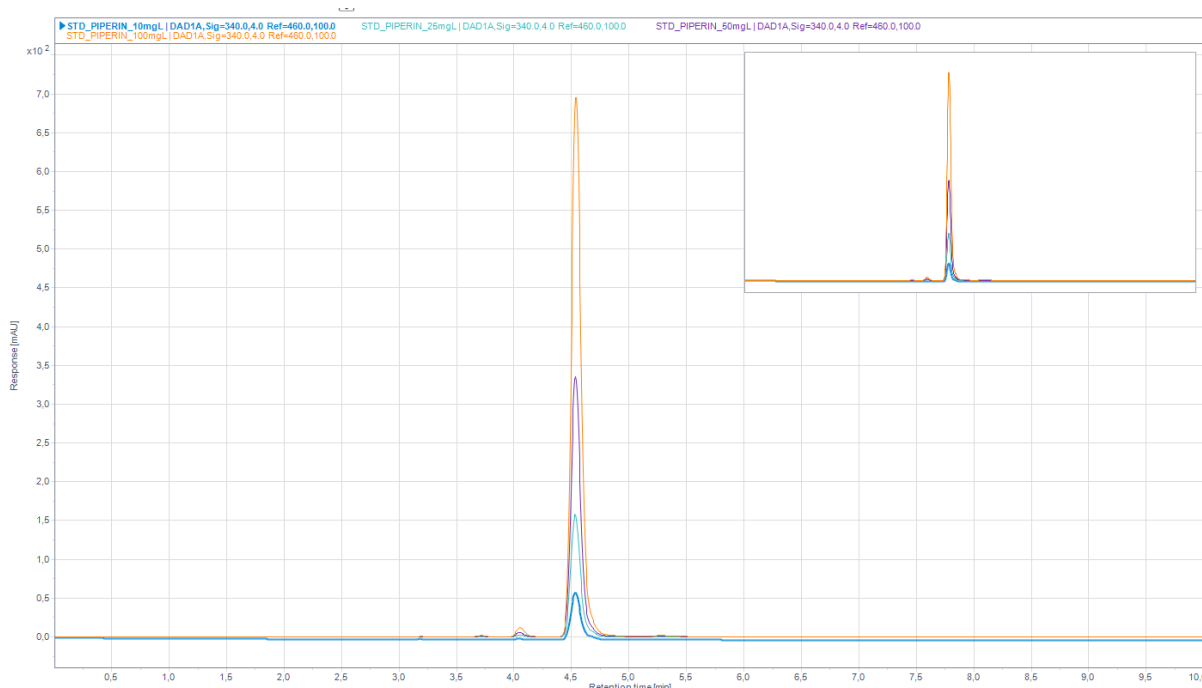
Obrázek 7 Porovnání extrakčních metod po 15 min při použití DAD detektoru, 1b je signál ethanolu (50%), 1A je signál ethanolu (99,8%) a 1B je signál acetonu

### 4.3. Výsledky kalibrační řady

Analyzované vzorky standardního vzorku piperinu o koncentracích 100 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L a 10 mg/L byly proloženy lineární přímkou, viz. Obrázek 8 a byla získána potřebná rovnice kalibrace ( $y = 42,4318x - 66,4835$ ) pro vyhodnocení reálných vzorků černého pepře. Výsledný chromatogram všech vzorků, ze kterých byla sestrojena kalibrační řada, je vyobrazen v Obrázek 9.



Obrázek 8 Kalibrační řada – standardní vzorek piperinu



Obrázek 9 Chromatogram – vzorky kalibrační řady při použití DAD detektoru

#### 4.4. Výsledky reálných vzorků

Analyzované vzorky byly v programu Data analysis manuálně zintegrovány a následně byly z ploch jednotlivých píků piperinu dopočítány koncentrace piperinu dle kalibrační rovnice.

V programu MS Excel bylo z koncentrací vzorků dopočítáno množství piperinu v mg/g namletého černého pepře dle vztahu (1).

$$c_m = \frac{c \cdot V}{m_n} \quad (1)$$

kde  $c_m$  je koncentrace piperinu ve vzorku mletého černého pepře,  $c$  je koncentrace piperinu,  $V$  je objem odměrné baňky a  $m_n$  je hmotnost navážky.

Z vypočítaného množství piperinu z obou měřených vzorků dané značky namletého černého pepře (A i B) bylo vypočítáno průměrné množství piperinu a směrodatná odchylka. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v Tabulka 6 a Tabulka 8. Tabulka 5 obsahuje nižší koncentraci, a tím pádem také nižší průměrné množství piperinu, což je zapříčiněno tím, že u většiny vzorků byl pík rozdělen na jeden větší a jeden menší pík. Toto rozdělení bylo pozorované na DAD (Obrázek 10), což by mohlo znamenat nějaké nečistoty vzorků, ale tento jev byl pozorován také na MS (Obrázek 11), z tohoto důvodu lze říct, že se pravděpodobně jedná o izomerní formu piperinu, která má stejný vliv na štiplavost, vůni a chuť pepře, jako piperin. Obrázky 10, 11 ukazují rozdělení píku pozorované, jak při DAD, tak při MS. V Tabulka 5 je uvedena koncentrace, která byla vypočítána z plochy pouze jednoho píku, který byl manuálně zintegrován. V Tabulka 7 je větší koncentrace i průměrné množství piperinu, což je způsobeno integrací píku i s izomerním rozdělením. Z tohoto důvodu vycházejí výsledné koncentrace piperinu větší. Díky téměř identickým vlastnostem izomerní formy piperinu jsou údaje z Tabulka 8 považovány za přesnější.

Tabulka 5 Naměřená data po integraci – bez izomeru

Číslo vzorku	navážka (g)	koncentrace (g/L)	množství piperinu (mg)
1 A	1,0004	1,242	31,048
2 A	0,9998	0,927	23,197
3 A	1,0000	0,797	19,942
4 A	1,0003	1,104	27,592
5 A	1,0002	0,802	20,051
6 A	1,0000	0,808	20,208
7 A	1,0004	1,515	37,868
8 A	1,0000	0,935	23,371
9 A	1,0003	1,038	25,951
10 A	1,0002	1,290	32,252
1 B	1,0000	1,160	29,008
2 B	0,9999	1,027	25,668
3 B	0,9999	0,784	19,612
4 B	1,0003	1,119	27,970
5 B	1,0000	0,813	20,337
6 B	0,9998	0,777	19,416
7 B	1,0003	1,546	38,649
8 B	1,0002	1,176	29,383
9 B	0,9997	1,090	27,260
10 B	1,0003	1,257	31,415

Tabulka 6 Výsledné hodnoty piperinu – bez izomeru (fw – čerstvá hmotnost)

Číslo vzorku	průměrné množství piperinu – fw (mg)		směrodatná odchylka
1	30,028	±	1,020
2	24,433	±	1,235
3	19,777	±	0,165
4	27,781	±	0,189
5	20,194	±	0,143
6	19,812	±	0,396
7	38,258	±	0,390
8	26,377	±	3,006
9	26,606	±	0,654
10	31,834	±	0,418

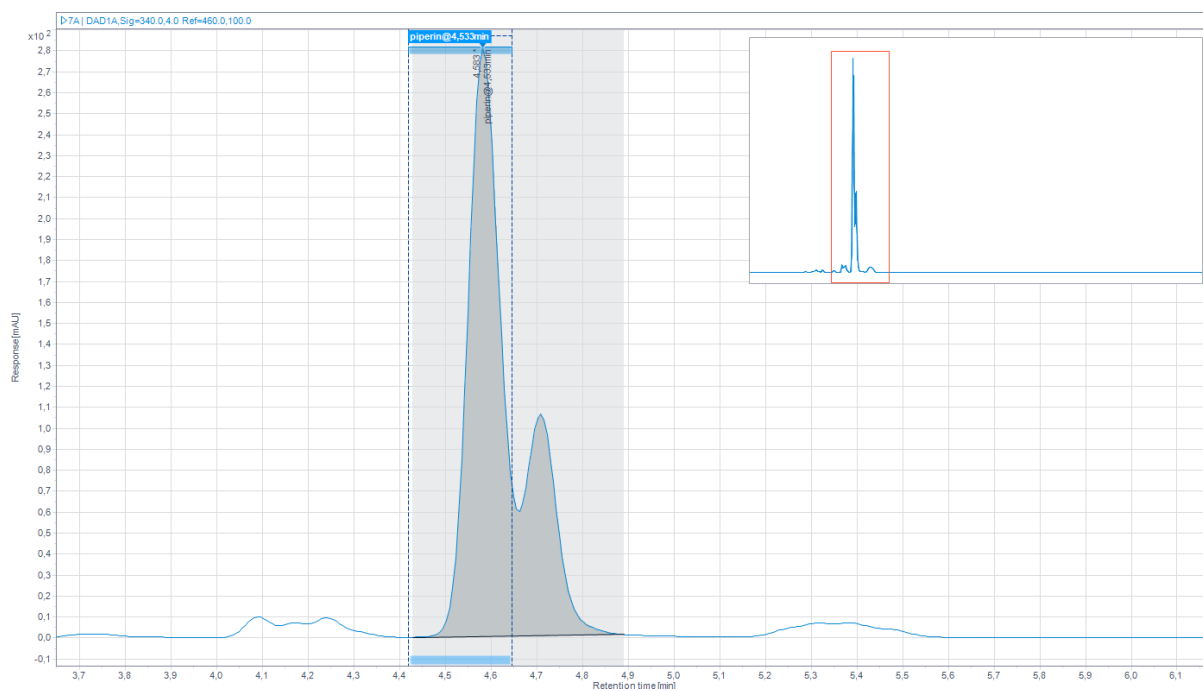
Tabulka 7 Naměřená data po integraci – s izomerem

Číslo vzorku	navážka (g)	koncentrace (g/L)	množství piperinu (mg)
1 A	1,0004	1,282	32,035
2 A	0,9998	1,088	27,213
3 A	1,0000	0,910	22,745
4 A	1,0003	1,139	28,471
5 A	1,0002	0,972	24,296
6 A	1,0000	0,981	24,513
7 A	1,0004	1,531	38,259
8 A	1,0000	1,090	27,328
9 A	1,0003	1,122	28,030
10 A	1,0002	1,365	34,109
1 B	1,0000	1,372	34,302
2 B	0,9999	1,120	27,994
3 B	0,9999	0,926	23,157
4 B	1,0003	1,148	28,692
5 B	1,0000	1,021	25,536
6 B	0,9998	0,974	24,357
7 B	1,0003	1,592	39,800
8 B	1,0002	1,274	31,836
9 B	0,9997	1,149	28,730
10 B	1,0003	1,346	33,652

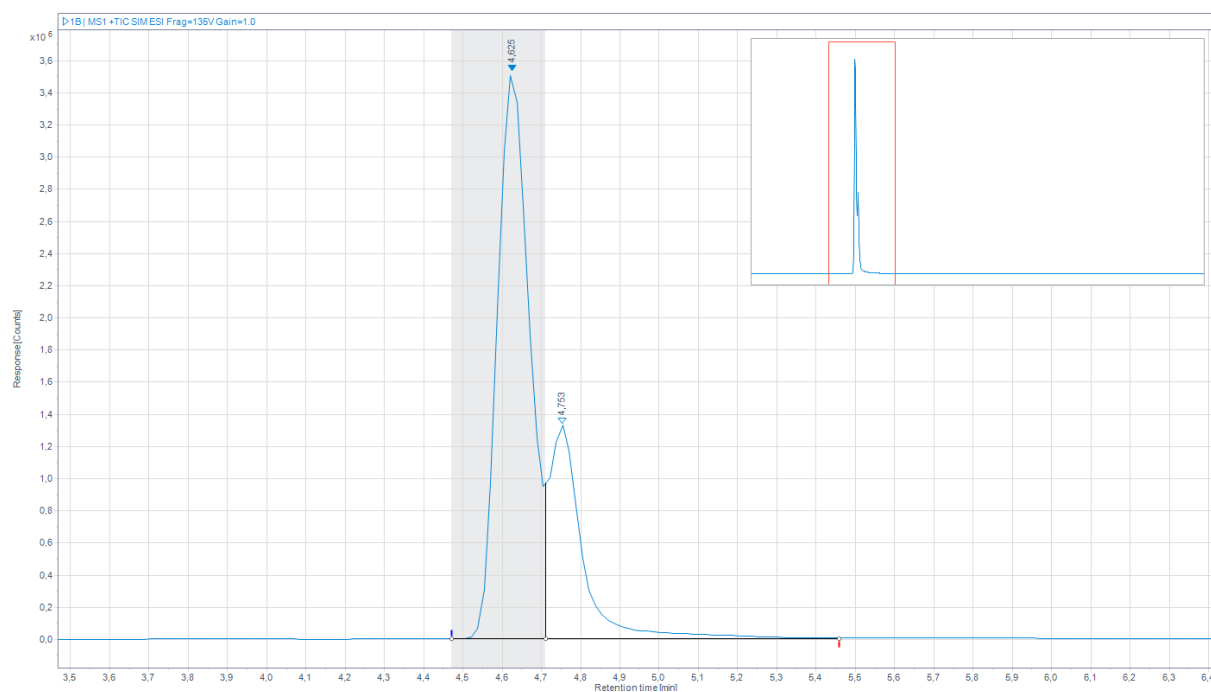
Tabulka 8 Výsledné hodnoty piperinu – s izomerem (fw – čerstvá hmotnost)

Číslo vzorku	průměrné množství piperinu – fw (mg)		směrodatná odchylka
1	33,168	±	1,133
2	27,604	±	0,390
3	22,951	±	0,206
4	28,581	±	0,111
5	24,916	±	0,620
6	24,435	±	0,078
7	39,030	±	0,771
8	29,582	±	2,254
9	28,380	±	0,350
10	33,880	±	0,228

Výsledné koncentrace piperinu v Tabulka 6 jsou nižší než v Tabulka 8, což je dáno menší integrovanou plochou píku, z důvodu již zmíněného izomeru. V Tabulka 8 lze pozorovat, že průměrné množství piperinu ve vzorcích mletého pepře je v rozmezí od 23 po 39 mg/g. Dle směrodatné odchylky lze říct, že bylo stanovení obsahu piperinu poměrně přesné. Průměrná směrodatná odchylka byla 1,8 %.



Obrázek 10 Chromatogram vzorku (DAD)



Obrázek 11 Chromatogram vzorku (MS)

#### 4.5. Výsledky vzorků po stanovení vody titračně podle Karl-Fishera

Z naměřených hodnot titrace podle Karl-Fishera byly v programu MS Excel dopočítány hodnoty nejprve dle vztahu (2) obsah vody ve vzorku ( $w_{H_2O}$ ). Z obsahu vody byla následně určena sušina vzorku a obsah piperinu zjištěný v čerstvých vzorcích pepře byl následně

přepočítán na suchou hmotnost. Tím bylo zjištěno průměrné množství piperinu – sušiny ve vzorcích černého mletého pepře (Tabulka 11 a Tabulka 12). Výsledky všech vzorků z Karl-Fisherovy titrace jsou uvedeny v Tabulka 9 a Tabulka 10. Obsah vody ve vzorcích se pohyboval mezi 7 až 17 %. Dle vyhlášky č. 398/2016 Sb. by měl mletý černý pepř obsahovat maximálně 14 % vlhkosti. Vzorky mletého černého pepře analyzované v této bakalářské práci byly ponechány otevřené během analýz určitou dobu na vzduchu a mohly do sebe tak absorbovat vzdušnou vlhkost, což pravděpodobně vedlo k naměření o něco vyšší vlhkosti ve vzorcích (3 %).

$$w_{H_2O} = \frac{(w_{H_2O\ ex} - w_{H_2O\ bl}) \cdot (m_{bpepřOH} - m_b)}{m_{bpepř} - m_b} \quad (2)$$

kde  $w_{H_2O\ ex}$  je obsah vody ve vzorku,  $w_{H_2O\ bl}$  je obsah vody v slepém vzorku,  $m_{bpepřOH}$  je hmotnost baňky s pepřem a methanolem,  $m_b$  je hmotnost baňky a  $m_{bpepř}$  je hmotnost baňky a pepře.

Tabulka 9 Naměřené a dopočítané hodnoty 1.část

Číslo vzorku	$m_b$ (g)	$m_{bpepř}$ (g)	$m_{bpepřOH}$ (g)	$m_{pepř}$ (g)	$m_{H_2O}$ (g)	$m_{pepř\ sušina}$ (g)
1	34,7316	35,2281	51,0207	0,4965	0,0806	0,4159
2	44,6574	45,1668	60,9380	0,5094	0,0464	0,4630
3	38,4496	38,9568	54,6806	0,5072	0,0406	0,4666
4	32,8975	33,3992	49,1817	0,5017	0,0399	0,4618
5	32,1252	32,6132	48,4143	0,4880	0,0774	0,4106
6	36,0218	36,5186	52,2894	0,4968	0,0667	0,4301
7	34,9422	35,4614	51,2589	0,5192	0,0865	0,4327
8	37,2094	37,7172	53,5259	0,5078	0,0742	0,4336
9	34,3193	34,8287	50,5791	0,5094	0,0585	0,4509
10	32,4226	32,9266	48,7059	0,5040	0,0358	0,4682
Slepý vzorek	38,4395	-	54,2002	-	-	-

Tabulka 10 Naměřené a dopočítané hodnoty 2.část

Číslo vzorku	$w_{H_2O\ ex1}$ (%)	$w_{H_2O\ ex2}$ (%)	$w_{H_2O\ ex\ průměr}$ (%)	$w_{H_2O}$ (%)	$w_{pepř}$ (%)
1	0,61	0,60	0,605	16,24	83,76
2	0,39	0,40	0,395	9,11	90,89
3	0,37	0,35	0,360	8,00	92,00
4	0,34	0,37	0,355	7,95	92,05
5	0,59	0,58	0,585	15,86	84,14
6	0,51	0,53	0,520	13,43	86,57
7	0,64	0,64	0,640	16,66	83,34
8	0,59	0,54	0,565	14,62	85,38
9	0,49	0,45	0,470	11,49	88,51
10	0,33	0,33	0,330	7,11	92,89
Slepý vzorek	0,10	0,12	0,110	-	-



Z Tabulka 11 a Tabulka 12 lze vyčíst až více než dvojnásobný nárůst průměrné hmotnosti piperinu v analyzovaných vzorcích mletého černého pepře po přepočtu na sušinu. Směrodatná odchylka měření nepřesahuje (až na výjimku u vzorku č. 8) hodnotu 10 %. Dá se předpokládat, že s navýšením počtu opakovaných měření by směrodatná odchylka měla klesající tendenci. Výsledné koncentrace piperinu v sušině s izomerní formou se pohybovaly v rozmezí mezi 42 a 88 mg/g (Tabulka 11), zatímco výsledné koncentrace piperinu v sušině se započtením dalšího izomeru byly v rozmezí od 49 do 90 mg/g (Tabulka 12).

V obou případech stanovované vzorky splňují vyhlášku č. 398/2016 Sb., dle které by mletý černý pepř měl obsahovat piperinu nejméně 4 % hmotnosti [1]. V obou případech lze konstatovat, že největší průměrné množství piperinu v sušině obsahoval vzorek pepře značky Nadir a je tedy pravděpodobně nejkvalitnější. Nejméně piperinu obsahoval vzorek pepře značky Kotányi a lze ho tedy považovat za méně kvalitní. Pořadí všech vzorků pepře z hlediska obsahu piperinu uvádí Tabulka 12. Obsah piperinu v analyzovaných vzorcích byl ve většině případů rozdílný (viz. Tabulka 13), což bylo zjištěno pomocí jednofaktorového ANOVA teatu a Tukey HSD testu. Tyto výsledky ukazují, že výrobci používají ve svých produktech pepř z různých zdrojů.

*Tabulka 11 Výsledný obsah piperinu ve vzorcích – bez izomeru (fw – čerstvá hmotnost, dw – hmotnost sušiny)*

Název výrobce	průměrné množství piperinu – fw (mg/g)		směrodatná odchylka		průměrné množství piperinu – dw (mg/g)		směrodatná odchylka
Avokádo	30,028	±	1,020		72,205	±	2,453
J. C. Horn	24,433	±	1,235		52,770	±	2,668
Kotányi	19,777	±	0,165		42,384	±	0,354
Albert	27,781	±	0,189		60,157	±	0,408
Gustito	20,194	±	0,143		49,179	±	0,348
Koření od Lubana	19,812	±	0,396		46,064	±	0,920
Nadir	38,258	±	0,390		88,413	±	0,902
Vitana	26,377	±	3,006		60,838	±	6,933
T. E. Stockwell	26,606	±	0,654		59,011	±	1,452
Sonnentor	31,834	±	0,418		67,995	±	0,894

Tabulka 12 Výsledný obsah piperinu ve vzorcích – s izomerem (fw – čerstvá hmotnost, dw – hmotnost sušiny)

Název výrobce	průměrné množství piperinu – fw (mg/g)		směrodatná odchylka		průměrné množství piperinu – dw (mg/g)		směrodatná odchylka
Avokádo	33,168	±	1,133		79,757	±	2,725
J. C. Horn	27,604	±	0,390		59,619	±	0,843
Kotányi	22,951	±	0,206		49,185	±	0,442
Albert	28,581	±	0,111		61,890	±	0,239
Gustito	24,916	±	0,620		60,678	±	1,510
Koření od Lubana	24,435	±	0,078		56,812	±	0,181
Nadir	39,030	±	0,771		90,196	±	1,781
Vitana	29,582	±	2,254		68,231	±	5,198
T. E. Stockwell	28,380	±	0,350		62,946	±	0,776
Sonnentor	33,880	±	0,228		72,367	±	0,488

Tabulka 13 Jednofaktorový ANOVA a Tukey HSD test - \*\* ( $p < 0,01$ ), \* ( $p < 0,05$ ), ns (not significant – nevýznamné)

Č.vz.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	-	**	**	**	**	**	**	**	**	ns
2	**	-	**	ns	**	**	**	**	ns	**
3	**	**	-	**	**	**	**	**	**	**
4	**	ns	**	-	**	**	**	*	ns	**
5	**	**	**	**	-	ns	**	**	**	**
6	**	**	**	**	ns	-	**	**	**	**
7	**	**	**	**	**	**	-	**	**	**
8	**	**	**	*	**	**	**	-	*	**
9	**	ns	**	ns	**	**	**	*	-	**
10	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	-

## 5. ZÁVĚR

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo zjistit průměrné množství piperinu v mletém černém pepři různých výrobců a porovnat výsledky mezi sebou. Dalším cílem bylo zpracovat literární rešerši na toto téma, kde byly zjištěny mimo jiné velké výhody na zdraví člověka v mnoha oblastech medicíny, konkrétně protizánětlivé, antioxidační a protirakovinotvorné účinky piperinu. Pro stanovení množství piperinu byla použita metoda HPLC s DAD a MS detektorem. Součástí této práce bylo také zjistit nejvhodnější extrakční metodu piperinu z mletého černého pepře. Jako rozpouštědla byly zkoumány: ethanol (99,8%), ethanol (50%) a aceton (99,8%). Vzorky s těmito rozpouštědly byly vymíchávány v časové závislosti od 15 minut do 2 hodin. Téměř ve všech případech byla pozorována klesající velikost dosahovaného signálu v HPLC v závislosti na době extrakce. Pravděpodobně během času docházelo k degradaci piperinu v roztoku. Bylo zjištěno, že nejvíce piperinu lze extrahovat po 15 minutách extrakce. Nejlepších výsledků dosahoval po 15 minutách aceton a z tohoto důvodu byl použit jako extrakční rozpouštědlo pro piperin.

Reálné vzorky mletého černého pepře byly po analýze rozděleny mezi dvě stanovení dle manuální integrace vzorků. První stanovení obsahovalo pouze piperin (1 pík) a druhé stanovení obsahovalo piperin a pravděpodobně také jeho izomerní formu (2 píky). Jelikož má izomerní forma stejný vliv na štiplavost, chuť a vůni pepře, tak výsledné hodnoty byly zpracovány z druhého stanovení, tedy i s izomerní formou piperinu.

Výsledky analýzy nepočítaly s vlhkostí, která je obsažena v každém balení mletého černého pepře. Z tohoto důvodu byl v jednotlivých vzorcích mletého černého pepře stanoven obsah vody titrací dle Karl-Fishera. Naměřená data byla přepočítána na již zjištěné průměrné množství piperinu s vlhkostí, a tak byly získány hodnoty průměrného množství sušiny piperinu. Díky přepočtu piperinu na sušinu došlo o více než zdvojnásobení průměrného množství piperinu u všech analyzovaných vzorků.

Výsledné průměrné koncentrace piperinu v analyzovaných deseti vzorcích mletého černého pepře se pohybovaly od 23 po 39 mg/g čerstvé hmotnosti. Po přepočtu na sušinu se výsledné koncentrace pohybovaly v rozmezí od 49 po 90 mg/g. Podle vyhlášky č. 398/2016 Sb. by mletý černý pepř měl piperinu obsahovat nejméně 4 % hmotnosti, což všechny stanovované vzorky splňují. Nejlepších výsledků v průměrném množství piperinu dosahoval mletý černý pepř od značky Nadir, naopak nejméně piperinu, avšak pořád dostatek na splnění vyhlášky č. 398/2016 Sb., obsahoval pepř značky Kotányi. Po statistickém zpracování získaných výsledků lze říci, že obsah piperinu se téměř ve všech vzorcích mletého černého pepře významně liší a vzorky pepře tak mají pravděpodobně různý původ.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Vyhláška č. 398/2016 Sb. *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, c2010-2022 [cit. 2022-11-19]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-398/zneni-20170701#p3>
- [2] HANCOCK, James. Pepper. *World History Encyclopedia* [online]. 2021 [cit. 2022-11-15]. Dostupné z: <https://www.worldhistory.org/Pepper/>
- [3] P.W.F. de Waard & I.S. Anunciado. Piper nigrum (PROSEA). *Pl@ntUse* [online]. 2016, 21. 5. 2016 [cit. 2022-11-08]. Dostupné z: [https://uses.plantnet-project.org/e/index.php?title=Piper\\_nigrum\\_\(PROSEA\)&mobileaction=toggle\\_view\\_desktop](https://uses.plantnet-project.org/e/index.php?title=Piper_nigrum_(PROSEA)&mobileaction=toggle_view_desktop)
- [4] KOPECKÁ, Hana. Pepřovník černý. In: *Just nahrin* [online]. [cit. 2022-11-08]. Dostupné z: <https://www.justnahrin.cz/bylina/pepřovník-černý>
- [5] Black pepper. *PlantVillage* [online]. [cit. 2022-11-08]. Dostupné z: <https://plantvillage.psu.edu/topics/black-pepper/infos>
- [6] KUMAR, Sajeev. Global pepper output slumps in past one year after rising last decade. *The Hindu Businessline* [online]. 2021, 15. 3. 2021 [cit. 2022-11-08]. Dostupné z: <https://www.thehindubusinessline.com/markets/commodities/global-pepper-output-slumps-in-past-one-year-after-rising-last-decade/article33839528.ece>
- [7] World Pepper Export Market: The overall picture and things you need to know. *K-AGRICULTURE* [online]. c2022 [cit. 2022-11-08]. Dostupné z: <https://k-agriculture.com/world-pepper-export-market-the-overall-picture-and-things-you-need-to-know/>
- [8] PENZEYMOOG, Caitlin. A Guide to Pepper: The World's Most Popular Spice. *Serious eats* [online]. 5. 11. 2020 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://www.seriousseats.com/guide-to-pepper-varieties>
- [9] TROEMEL, Eileen. Pepper – The Master Spice. *What's Cooking America* [online]. c2004-2022 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://whatscookingamerica.net/information/pepper.htm>
- [10] MILENKOVIĆ, Aleksandra a Ljiljana STANOJEVIĆ. Black pepper: Chemical composition and biological activities. *Advanced Technologies* [online]. 2021, 10(2), 40-50 [cit. 2022-11-15]. ISSN 2406-2979. Dostupné z: doi:10.5937/savteh2102040M
- [11] PIRKLOVÁ, Jana. ChilliBag: Druhy pepře a jejich použití v kuchyni. *ChilliBag* [online]. 6.10. 2021 [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://chillibag.cz/druhy-pepre/>
- [12] Black Pepper. *Nutricare* [online]. 2021 [cit. 2022-11-23]. Dostupné z: <https://nutricare.in/black-pepper/>
- [13] PETER, K. V., ed. Handbook of herbs and spices. 2nd ed. Oxford: Woodhead, 2012-. Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition. ISBN 9780857090393.
- [14] Pepř černý – štiplavé koření s léčivou silou. *Vitaminy bez cenzury* [online]. c2017-2022 [cit. 2022-11-23]. Dostupné z: <https://www.vitaminybezcentury.cz/rostlinne-extrakty/pepr-černý>
- [15] Spices, pepper, black. *FoodData Central* [online]. 2019 [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170931/nutrients>
- [16] What are the health benefits of black pepper? *MedicalNewsToday* [online]. 2021 [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/black-pepper-benefits#health-benefits>
- [17] Rebecca Jaspán, MPH, RD, CDN, CDCES. Black Pepper Nutrition Facts and Health Benefits. *Verywell Fit* [online]. Dotdash Media, 2022 [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://www.verywellfit.com/black-pepper-nutrition-facts-and-health-benefits-5207129>

- [18] Black Pepper: Health Benefits, Nutrition, and Uses. *WebMD* [online]. WebMD, c2005-2022, 2022 [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: <https://www.webmd.com/diet/health-benefits-black-pepper>
- [19] GARRAD-COLE, Holly. 6 Types of Peppercorns Worth Knowing. *Fine Dining Lovers* [online]. 2. 11. 2020 [cit. 2022-11-30]. Dostupné z: <https://www.finedininglovers.com/article/6-types-peppercorns-worth-knowing>
- [20] TANE, Sara. What Is a Pink Peppercorn and How Do I Cook With It? *Allrecipes* [online]. 2021, 2. 2. 2021 [cit. 2022-11-30]. Dostupné z: <https://www.allrecipes.com/article/what-is-pink-peppercorn/>
- [21] RAVINDRAN, P.N. a J.A. KALLUPURACKAL. Black pepper. *Handbook of Herbs and Spices* [online]. Elsevier, 2012, 2012, 86-115 [cit. 2022-12-06]. ISBN 9780857090393. Dostupné z: doi:10.1533/9780857095671.86
- [22] Josh Tesolin. The Shelf Life of Black Pepper: It Might be Shorter than You Think. *RusticWise* [online]. c2022, 14. 2. 2021 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <https://rusticwise.com/the-shelf-life-of-black-pepper/>
- [23] Benefits and Uses of Black pepper Oleoresins. *Export Development Board Sri Lanka* [online]. c2022 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <https://www.srilankabusiness.com/faq/ceylon-spices/benefits-uses-of-black-pepper-oleoresins.html>
- [24] Nutriční hodnoty potravin. *PestrýJidelniček.cz* [online]. c2022 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.pestryjidelnickek.cz/nutricni-hodnoty/>
- [25] Výživová hodnota stravy. *Centrum podpory zdraví, z.ú.* [online]. c2020, 28. 2. 2019 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.cepoz.cz/vyzivova-hodnota-stravy/>
- [26] Mikronutrienty a co byste o nich měli vědět. *JOsport* [online]. c2022, 4. 3. 2021 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.josport.cz/blog/t--2/>
- [27] Alkaloidy. *Dromy* [online]. DromyVet, c2018 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.dromy.cz/slovník-pojmu/alkaloidy/>
- [28] FRANCOVÁ, Kristýna. Alkaloidy. *Botanic* [online]. PlaBio, c2018-2022 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://botanic.cz/slovník-pojmu/alkaloidy>
- [29] Alkaloidy. *Bezpečnost potravin* [online]. Ministerstvo zemědělství, c2021 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92002.aspx>
- [30] KUŽELOVÁ, Denisa. *Alkaloidy a jejich potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění*. Pardubice, 2022. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd. Vedoucí práce Karel Královec.
- [31] Piperin. *Biooo.cz* [online]. BIOOO.CZ, c2007-2022 [cit. 2022-12-27]. Dostupné z: <https://encyklopedie.biooo.cz/vyhledat-slozeni/piperin/>
- [32] Chavicine Properties. *World of chemicals* [online]. India: Kimberlite Softwares Pvt., c2023 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://www.worldofchemicals.com/chemicals/chemical-properties/chavicine.html>
- [33] FRANCOVÁ, Kristýna. Éterické oleje. *Botanic* [online]. PlaBio, c2018-2023 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://botanic.cz/slovník-pojmu/etericke-oleje>
- [34] Olej z černého pepře a jeho zdravotní účinky – pomůže i se závislostí na nikotinu. *Rehabilitace.info* [online]. c2023 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://www.rehabilitace.info/zdrave-oleje/olej-z-cerneho-pepre-a-jeho-zdravotni-ucinky-pomuze-i-se-zavislosti-na-nikotinu/>
- [35] Sekundární metabolity. *Národní zdravotnický informační portál* [online]. Praha, 2023 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/843>

- [36] Terpeny: jaký mají vliv na naše zdraví? *Mentis lab* [online]. MentisLab.cz, c2023, 15.9.2021 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://www.mentislab.cz/blog/terpeny--jaky-maji-vliv-na-nase-zdravi/>
- [37] LOZA-TAVERA, Herminia. Monoterpenes in Essential Oils. In: SHAHIDI, Fereidoon, Paul KOLODZIEJCZYK, John R. WHITAKER, Agustin Lopez MUNGUÍA a Glenn FULLER, ed. *Chemicals via Higher Plant Bioengineering* [online]. Boston, MA: Springer US, 1999, 1999, s. 49-62 [cit. 2023-03-01]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-1-4613-7143-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-4729-7\_5
- [38] Charakteristika, složení, účinky a používání pepře. *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. 2004 [cit. 2022-11-23]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/charakteristika-slozeni-ucinky-a-pouzivani-pepre.aspx>
- [39] DAI, Jin a Russell J. MUMPER. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* [online]. 2010, **15**(10), 7313-7352 [cit. 2023-03-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules15107313
- [40] D Sruthi, T J Zachariah. Phenolic profiling of Piper species by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of spices and aromatic crops*. Kerala, 2016, **25**(2), 123-132. ISSN 0971-3328.
- [41] GÁLIKOVÁ, Zuzana. Sacharidy: Dělení, zdroje, trávení, funkce v těle a optimální příjem. *GymBeam* [online]. 2022 [cit. 2023-03-16]. Dostupné z: [https://gymbeam.cz/blog/sacharidy-deleni-zdroje-traveni-funkce-v-tele-a-optimalni-prijem/?campaignid=19660289418&adgroupid=&gclid=CjwKCAjw\\_MqgBhAGEiwAnYOAeiIDauthzPdRWRP3Jm7KnaOfkqnX7qzoy9h\\_fKfABS-\\_k4qTXkZsXRoCK\\_8QAvD\\_BwE](https://gymbeam.cz/blog/sacharidy-deleni-zdroje-traveni-funkce-v-tele-a-optimalni-prijem/?campaignid=19660289418&adgroupid=&gclid=CjwKCAjw_MqgBhAGEiwAnYOAeiIDauthzPdRWRP3Jm7KnaOfkqnX7qzoy9h_fKfABS-_k4qTXkZsXRoCK_8QAvD_BwE)
- [42] SVOBODOVÁ, Simona. Potraviny, se kterými snadno doplníte bílkoviny do svého jídelníčku. *GymBeam* [online]. 2022 [cit. 2023-03-16]. Dostupné z: <https://gymbeam.cz/blog/20-potravin-se-kterymi-snadno-doplnite-bilkoviny-do-sveho-jidelnicku/>
- [43] GÁLIKOVÁ, Zuzana. Zdravé a nezdravé tuky: Které potraviny jíst, a kterým se raději vyhnout? *GymBeam* [online]. 2022 [cit. 2023-03-16]. Dostupné z: [https://gymbeam.cz/blog/tuky-dobre-spatne/?campaignid=19660289418&adgroupid=&gclid=CjwKCAjw\\_MqgBhAGEiwAnYOAevAzIOgkT0oKKhJggpx0iKohOLr9yHy\\_3vCoRuHN0RuDgGVW6a-z3hoCdFkQAvD\\_BwE](https://gymbeam.cz/blog/tuky-dobre-spatne/?campaignid=19660289418&adgroupid=&gclid=CjwKCAjw_MqgBhAGEiwAnYOAevAzIOgkT0oKKhJggpx0iKohOLr9yHy_3vCoRuHN0RuDgGVW6a-z3hoCdFkQAvD_BwE)
- [44] Příspěvatelé WikiSkript, Toxické látky [online],, c2022, Datum poslední revize 19. 05. 2022, 06:05 UTC, [citováno 22. 03. 2023] <[https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Toxick%C3%A9\\_l%C3%A1tky&oldid=455036](https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Toxick%C3%A9_l%C3%A1tky&oldid=455036)>
- [45] Trísloviny. Bezpečnost potravin [online]. Ministerstvo zemědělství, c2009-2023 [cit. 2023-03-23]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/termin/trisloviny/>
- [46] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Analytická chemie*. Přeložil Karel NESMĚRÁK, přeložil Václav ČERVENÝ, přeložil Tomáš KŘÍŽEK, přeložil Eliška NOVÁKOVÁ. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [47] ČAMKOVÁ, Jitka. *Analýza vybraných alkaloidů metodou HPLC s amperometrickou detekcí* [online]. Olomouc, 2012 [cit. 2023-03-28]. Dostupné z: [https://theses.cz/id/vuisiu/Jitka\\_amkov\\_BP.pdf?info#panel\\_latex](https://theses.cz/id/vuisiu/Jitka_amkov_BP.pdf?info#panel_latex). Bakalářská práce. UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI. Vedoucí práce RNDr. David Jirovský, Ph.D.

- [48] ANSHULY TIWARI, KAKASAHEB R. MAHADIK, SATISH Y. GABHE. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. *Medicine in Drug Discovery* [online]. 2020, **7**(100027), 3-5 [cit. 2023-03-29]. ISSN 2590-0986. Dostupné z: [//doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027](https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027)
- [49] MEIXNER, Makayla. 11 Science-Backed Health Benefits of Black Pepper. *Healthline* [online]. Healthline Media a Red Ventures Company., 2019 [cit. 2023-03-29]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/nutrition/black-pepper-benefits>
- [50] Detektory pro analytický systém Agilent 1260 Infinity II. *HPST* [online]. Praha: HPST, c1999-2022 [cit. 2023-04-17]. Dostupné z: <https://hpst.cz/kapalinova-chromatografie/agilent-1260-infinity-ii/detektory-pro-analyticky-system-agilent-1260>

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ OBRÁZKŮ

- [1] NEUROtiker. Chemický vzorec piperinu. In: *Wikipedie* [online]. 2008 [cit. 2022-11-24]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Pep%C5%99\\_%C4%8Dern%C3%BD#/media/Soubor:Piperin.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Pep%C5%99_%C4%8Dern%C3%BD#/media/Soubor:Piperin.svg)
- [2] Edgar181. Chavicine. In: *Chavicine* [online]. Wikimedia Foundation, 2022 [cit. 2023-02-07]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Chavicine>



## 8. PŘÍLOHY

Příloha 1: Vzorky použité k analýze



Vzorek č.1



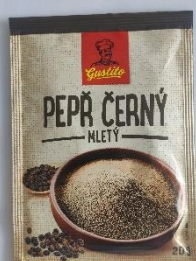
Vzorek č.2



Vzorek č.3



Vzorek č.4



Vzorek č.5



Vzorek č.6



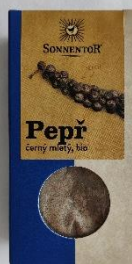
Vzorek č.7



Vzorek č.8

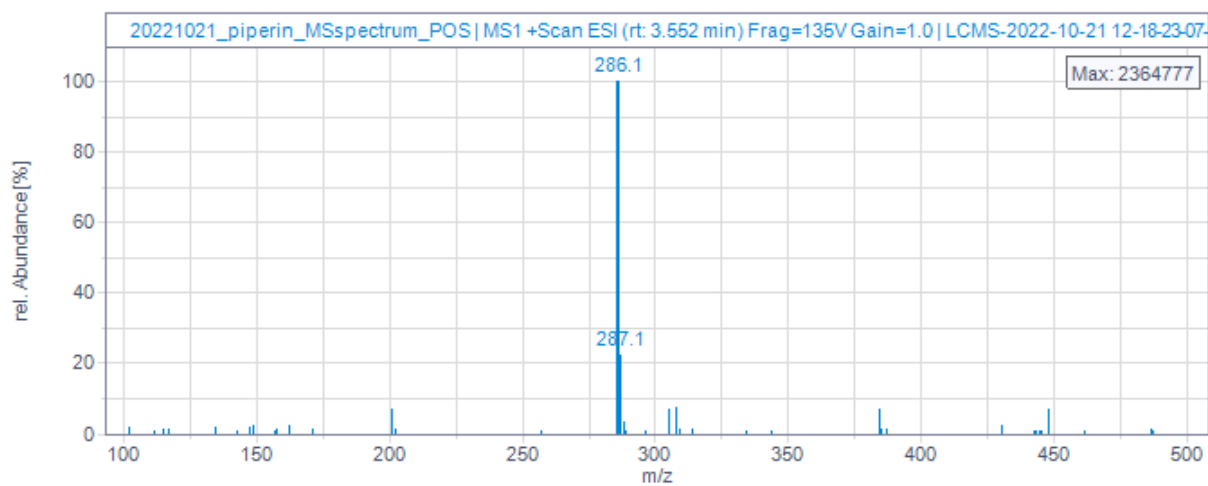


Vzorek č.9



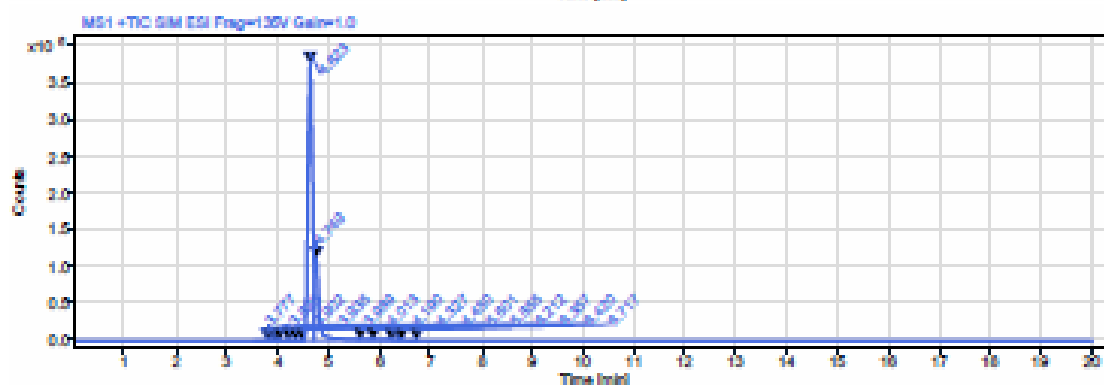
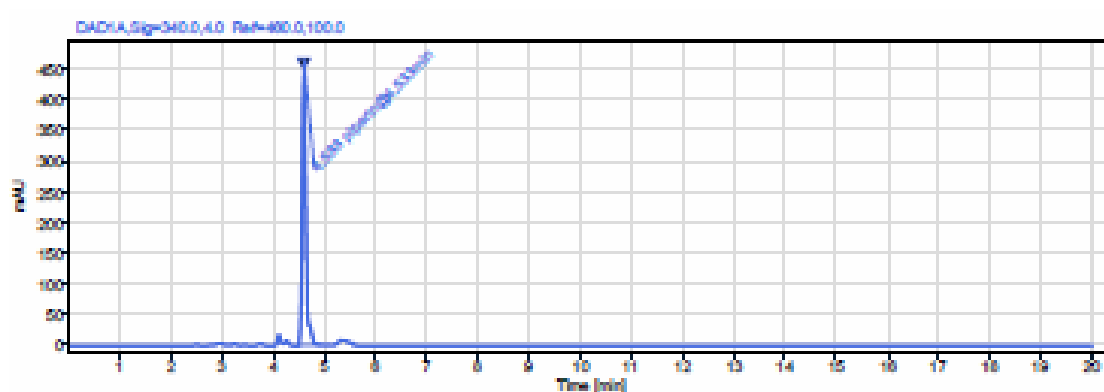
Vzorek č.10

## Příloha 2: Hmotnostní spektrum piperinu



### Příloha 3: Záznam analýzy piperinu

Sample name: 10A  
 Data file: 2023-03-27 13-33-49+02-00-10.dx Operator: SYSTEM  
 Instrument: LCMS Injection date: 2023-03-27 13:34:49+02:00  
 Inj. volume: 5.000 µL Location: 30  
 Acq. method: piperine.amx Type: Sample  
 Processing method: \*piperin3.pmx Calib Level:  
 Sample amount: 0.00  
 Manually modified: Manual Integration



Signal: DAD1A, Sig=340.0, 4.0 Ref=460.0, 100.0

Name	RT [min]	RF	Area	Amount	Concentration	Group
piperin@4.533min	4.59	41.124	2244.788	54.585	1364.631	
			Sum	54.585		