

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv zpracování na chemické vlastnosti produktů
odvozených z pepřovníku černého (*Piper nigrum*;
Piperaceae)**

Diplomová práce

Bc. Monika Ehrenbergerová

Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Ing. Jan Tauchen, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv zpracování na chemické vlastnosti produktů odvozených z pepřovníku černého (*Piper nigrum*; Piperaceae)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.4.2021

Poděkování

Děkuji touto cestou vedoucímu mé diplomové práce Ing. Janu Tauchenovi, Ph.D. za odborné vedení, věnovaný čas a cenné konzultace, které přispěly k dokončení této diplomové práce. Velké díky také patří prof. Ing. Ladislavu Kokoškovi, Ph.D. (Fakulta tropického zemědělství, ČZU), jehož tým sesbíral a poskytl vzorky kambodžských pepřů.

Vliv zpracování na chemické vlastnosti produktů odvozených z pepřovníku černého (*Piper nigrum*; Piperaceae)

Souhrn

Tato práce se zabývá charakterizací obsahových látek poměrně unikátní formy pepře, tzv. kampského červeného pepře. Chemické složení bylo porovnáno s běžně dostupnými formami pepře (černým, bílým, zeleným). Vzorky pocházely z Kambodži, ale i z ostatních produkčních oblastí (Indie, Thajsko). V této studii byl u jednotlivých produktových forem pepře sledován obsah piperinu, flavonoidních látek (pomocí kapalinové chromatografie spojené s UV/Vis detektorem; HPLC-UV) a volatilních látek fenylpropanoidního a terpenoidního charakteru (pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostním spektrometrem; GC-MS). Výsledky této studie přinášejí nové informace z pohledu chemického složení doposud minimálně popsané potraviny a také její srovnání s běžnějšími produktovými formami pepře. Červený pepř dosahoval 2,94 % piperinu, 0,44 % naringeninů a 0,07 % kaempferolu. V rámci kambodžských vzorků byly tyto obsahy velmi podobné černému pepři a naopak znatelně nižší než u bílého pepře. V porovnání s ostatními vzorky byl z volatilních látek nejbohatší na β -karyofylen, který dosahoval 35,87 %. Naopak nízkých hodnot oproti jiným vzorkům dosahoval u α -pinenu a β -pinenu. V rámci kambodžských pepřů byly hodnoty podobné, ovšem velmi se odlišovaly od hodnot indických a thajských pepřů.

Klíčová slova: červený pepř; piperin; oleopryskyřice; silice

Influence of processing methods on chemical properties of products derived from black pepper (*Piper nigrum*; Piperaceae)

Summary

This study focuses on the characterisation of the contents of a rather unique form of pepper, the so-called Kampot red pepper. The chemical composition was compared to commonly available forms of pepper (black, white, green). The samples were delivered from Cambodia, but also from other production regions (India, Thailand). In this study, the contents of piperine, flavonoids (using liquid chromatography coupled with a UV/Vis detector; HPLC-UV) and volatiles of phenylpropanoid and terpenoid nature (using gas chromatography coupled with a mass spectrometer; GC-MS) were analyzed for each pepper product. The results of this study provide new information about the chemical composition of the previously minimally described foodstuff red pepper, as well as its comparison with more common pepper product forms. Red pepper reached 2.94% piperine, 0.44% naringenin and 0.07% kaempferol. Within the Cambodian samples, these levels were very similar to black pepper but noticeably lower than for white pepper. Compared to other samples, red pepper was the richest for volatile compound β -caryophyllene, reaching 35.87%. On the other hand, it had low values for α -pinene and β -pinene compared to other samples. Within Cambodian peppers, the values were similar, but they were very different from Indian and Thai peppers.

Keywords: red pepper; piperine; oleoresin; essential oil

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Piper nigrum L.	10
3.2 Botanika pepře	10
3.3 Historie pepře a jeho tradiční využití.....	13
3.4 Druhy pepřů	13
3.4.1 Černý pepř	14
3.4.2 Bílý pepř	15
3.4.3 Zelený pepř.....	16
3.4.4 Červený pepř.....	17
3.4.5 Růžový pepř.....	18
3.5 Alternativní produkty pepře, jejich biologická aktivita a vliv na zdraví .	19
3.5.1 Piperin.....	19
3.5.1.1 Antioxidační aktivita	19
3.5.1.2 Vliv na trávení	20
3.5.1.3 Protizánětlivé vlastnosti	20
3.5.1.4 Protinádorová aktivita	21
3.5.1.5 Antimikrobiální vlastnosti.....	21
3.5.2 Flavonoidy	22
3.5.2.1 Naringenin	22
3.5.2.2 Kaempferol.....	24
3.5.3 Pepřová silice.....	25
3.5.4 Oleopryskyřice.....	27
3.6 Tradiční zpracování a vliv zpracování na obsahové látky	28
4 Materiál a metody	30
4.1 Vzorky	30
4.2 Chemikálie a standardy.....	30
4.3 Příprava vzorků	30
4.4 Kapalinová chromatografie (HPLC-UV).....	30
4.5 Plynová chromatografie (GC-MS)	31
4.6 Statistická analýza.....	31
5 Výsledky.....	32
5.1 Kapalinová chromatografie (HPLC-UV).....	32
5.2 Plynová chromatografie (GC-MS)	35

6	Diskuze	39
7	Závěr.....	42
8	Literatura.....	43
9	Seznam použitých zkratek a symbolů	48

1 Úvod

Pepřovník černý je rostlina známá zejména díky svým plodům, které se využívají hlavně v potravinářském průmyslu, ale své uplatnění nachází například i v kosmetice. Pepř je jedním z nejpoužívanějších koření a také patří k nejvíce obchodovaným kořením na světě. Pochází z Indie, ale v současné době je rozšířen po celém světě. Produkce pepře je soustředěna převážně na dva typy, pepř černý a pepř bílý. Méně častým výrobkem je poté pepř zelený.

Svou charakteristickou chuť a vůni získává pepř díky látkám, které jsou v něm obsaženy. Jedná se především o alkaloid piperin a další volatilní látky a flavonoidy. Díky nim získává pepř nejen své organoleptické vlastnosti, ale případně i další prospěšné schopnosti. Ovšem chemické složení pepře není vždy stejné, vliv na to má forma zpracování, proto se u černého, bílého i zeleného pepře hodnoty liší. Rozdíl můžeme hledat i ve zralosti plodu, černý a zelený pepř jsou produkovány z nezralých plodů, kdežto bílý ze zralých. Dalším faktorem může být i místo původu pepře.

Zvláštním a poměrně novým produktem je pravý červený pepř, produkt pepřovníku černého. Jedná se o velmi zralé plody, které si svoji červenou barvu uchovávají až do finálního sušeného produktu. Producentem tohoto unikátního typu pepře je například Kambodža, k dostání je pak jako kampotský červený pepř (tzv. Kampot red pepper). Jelikož tento produkt není úplně rozšířen a prozkoumán, chemické vlastnosti tohoto pepře nejsou dopodrobna popsány. Vzhledem k oblíbenosti pepře obecně jakožto koření a aromatické látky, má nová forma velký tržní potenciál a výsledky analýzy mohou být rovněž použity pro vytipování nejvhodnějšího využití tohoto typu pepře a tím nalezení lepšího uplatnění jednotlivých forem v různých odvětvích průmyslu (potravinářský, kosmetický atd.).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cíle práce

Cílem této práce je popsat chemické složení relativně nového produktu, kampotského červeného pepře, zejména pak stanovit obsahy piperinu, flavonoidních látek a volatilních látek, které jsou zodpovědné za typickou chuť a aroma červeného pepře. Zároveň si tato studie dává za cíl tyto hodnoty porovnat s běžněji dostupnými formami pepře; černým, bílým a zeleným. K tomuto účelu bude v této práci využita kapalinová chromatografie spojená s UV-Vis detektorem (HPLC-UV) a plynová chromatografie spojená s hmotnostním spektrometrem (GC-MS).

Hypotéza

Chemické složení relativně nové a běžně nedostupné formy pepře, kampotského červeného pepře, bude ve srovnání s běžně dostupnými produkty pepře odlišné.

3 Literární rešerše

3.1 Piper nigrum L.

Piper nigrum L. neboli pepřovník černý, též označovaný jako pepř černý, je jedním z nejvíce využívaných koření na světě. Slouží nejen k dochucení potravin, ale využívá se také k jejich konzervaci. Pepř pochází z jihozápadní Indie a do Evropy se jako orientální koření dostal už za dob starověkého Řecka a Říma. V současné době je pěstován i v jiných tropických regionech světa, z nichž jsou pak největšími producenty Vietnam, Brazílie, Indonésie, Tádžikistán, Srí Lanka, Čína, Malajsie, Mexiko a Madagaskar, na vzestupu je také Kambodža a Thajsko (Abdulazeez et al., 2016; Peter, 2012). Tabulka 1 udává objem produkce pepře deseti nejvýznamnějších světových producentů v roce 2019, celosvětovou produkci a k porovnání jsou také uvedeny země na vzestupu, Kambodža a Thajsko.

Tab. 1: Světová produkce pepře (*Piper* spp.) v roce 2019

Země	Produkce (v tunách)
1. Vietnam	264 854
2. Brazílie	109 401
3. Indonésie	88 949
4. Indie	66 000
5. Tádžikistán	47 107
6. Srí Lanka	41 429
7. Čína	37 645
8. Malajsie	33 940
9. Mexiko	9 384
10. Madagaskar	4 500
13. Kambodža	2 506
14. Thajsko	2 219
Světová produkce	1 103 024

Zdroj: FAOSTAT (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>)

Pepř má vícero využití, nejen v potravinářském průmyslu a v gastronomii, ale i v parfumérském průmyslu, v tradiční medicíně a dokonce i v kosmetice. Pepř je ceněn pro svou štiplavost a chuť, kterou získává díky alkaloidu piperinu a silici (Parthasarathy et al., 2008).

3.2 Botanika pepře

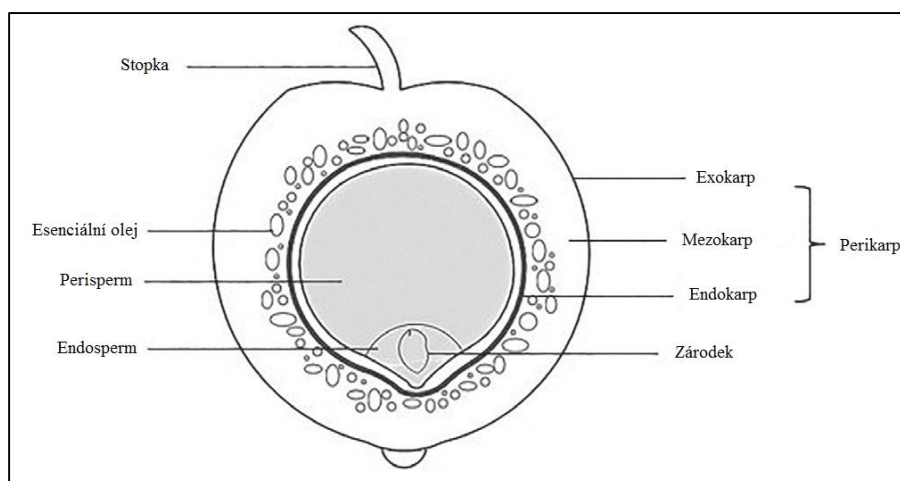
Pepřovník černý (*Piper nigrum* L.) je tropická rostlina, kterou řadíme do čeledi pepřovníkovité (Piperaceae). Jedná se o dřevnatějící popínavou rostlinu o délce zhruba 9 metrů, která využívá své kořinky stonků (kořinky vyrůstající ze stonkových uzlů) k uchycení se k živým i neživým oporám. Listy má pepřovník lesklé, oválné a asi 13 – 25 cm dlouhé, nahoře jsou tmavě zelené a zespodu světle zelené. Květy bílé barvy se vždy objevují na stoncích naproti listům a nesou 50 až 60 jednosemenných plodů (viz Obr. 1), proto výnos plodů závisí na počtu listů na stonku. Během třetího roku po výsadbě lze už sklízet první plody, sklizeň činí zhruba

2 kg plodů z jedné rostliny. Plná sklizeň je pak mezi 4. až 8. rokem, kdy roční produkce dosahuje 4 – 10 kg plodů z jedné rostliny. Následně výnos pepřovníku klesá, každoročně přibližně o 2 – 2,5 kg, ale produkce může pokračovat až do 30 let stáří rostliny. Bobule dozrávají v období 2 – 6 měsíců v závislosti na podnebí a zeměpisné šířce. Během sklizně se bobule sklízí zpravidla každých 7 – 14 dní. Kalendářní měsíce sklizně se různě po světě liší. Například v Indii se pepř sklízí od listopadu do března, zatímco na Madagaskaru se sklízí od června do října. Semena v sušené formě se často označují jako pepřová zrna (Abdulazeez et al., 2016; Nelson et Cannon-Eger, 2011; Purseglove, 1984).



Obr. 1: Pepřovník černý (Zdroj: atlasrostlin.cz)

Plody pepřovníku jsou obvykle malé, kulovité bobule, s dužnatým perikarpem a tvrdým endokarpem (viz Obr. 2). Z botanického hlediska je plodem pepřovníku peckovice. Plody pepřovníku mohou být plně zralé (červené) a zároveň i nezralé (zelené) bobule. Po dozrání se mladé bobule mění ze zelené na oranžovou až červenou a jejich dužina je měkčí. Bobule se ručně oškubávají a dále se zpracovávají. Obvykle se 80 % úrody zpracuje na černý pepř, protože je to levnější a jednodušší, zatímco zbytek se zpracuje na bílý pepř (Aziz et al., 2019).



Obr. 2: Řez plodem pepřovníku (Zdroj: Aziz et al., 2019; upraveno)

Manipulace s bobulemi po sklizni je zásadní pro dosažení vysoké kvality produktu. Sklizené bobule se uchovávají v pytlích po dobu 12 – 24 hodin nebo se navrší a přes noc zakryjí, aby došlo ke krátkému kvašení, které usnadní oddělení plodů. Bobule se poté oddělují ručně třením, za použití chodidel nebo pomocí mechanických mlátiček, které ale používají pouze velcí producenti. Plody oddělené mlácením se třídí a poté suší na slunci. Důležité je odstranění světlých a nedozrálých bobulí a následné třídění podle velikosti. Poté se plody rozloží na zem, aby se usušily. Sušení se ve většině případů provádí na otevřeném slunci. Černá cementová podlaha je pro tento typ sušení nejvýhodnější. K rychlému sušení se používají také mechanické, elektrické a solární sušičky. Po správném vysušení by měl být obsah vlhkosti pouze kolem 10 %. Sušený pepř je opět roztříděn podle velikosti, k tomu se využívá třídících sít. Nakonec se pepř očistí od cizích látek jako špína, drť, kameny, stopky atd. (Peter, 2012).

Další významnou rostlinou z čeledi pepřovníkovité (Piperaceae) je pepřovník dlouhý (*Piper longum* L.), který je široce rozšířen v tropických a subtropických oblastech světa, v Indii, na Srí Lance, na Středním východě a na Americkém kontinentě. Rostlina je nejen účelně pěstována, ale roste i jako volně žijící. V divoké formě se vyskytuje i v Malajsii, Singapuru, Bhútánu a Myanmaru. Pepřovník dlouhý je aromatická, vytrvalá, popínavá rostlina (Khandhar et al., 2010; A. Patel et Macwan, 2011). Plody se používají jako koření a jsou také součástí konzervačních látek, potravin, nápojů, likérů a léčiv. Nejdůležitější je využití pepřovníku dlouhého jako léčivé složky v přípravných indické medicíny – Ayurveda, Siddha a Unani. Ayurvedic Pharmacopeia zmiňuje použití plodu pepřovníku dlouhého při bolestech břicha, bronchitidě, revmatismu, leprě, horečce a při parazitární infekci (Yadav et al., 2020).

Pepřovník opojný (*Piper methysticum*), také označovaný jako kava, je dalším z významných zástupců čeledi Piperaceae. Jedná se o robustní, rozvětvený a vytrvalý keř, kterému se daří na kamenitě půdě a v nadmořských výškách 150 až 300 m n. m. Kava pochází z Oceánie, kde vždy měla především kulturní význam. Připravoval se z ní stejnojmenný nápoj kava, který byl významnou součástí různých rituálů, slavností a shromáždění (Y. N. Singh, 1992). Vyznačuje se schopností ovlivňovat náladu a zmírňovat stres. Tradičně se nápoj připravoval jako vodná emulze rozdrcených nebo vysušených kořenů, případně spodních částí stonků keře. Kava se později rozšířila i do Evropy a Ameriky a začala se využívat i v léčivých

přípravcích. Ovšem na přelomu 20. a 21. století se začaly objevovat případy poukazující na hepatotoxicitu kavy a v mnoha zemích tak došlo k zákazu doplňků stravy obsahující tuto rostlinu či její aktivní látky, kavalaktony (Ernst, 2005). V České republice zakázalo vyrábět, dovážet, nabízet i prodávat doplňky stravy s účinnými látkami rostliny Kava Ministerstvo zdravotnictví dne 4. 7. 2002 (Státní zemědělská a potravinářská inspekce, 2002).

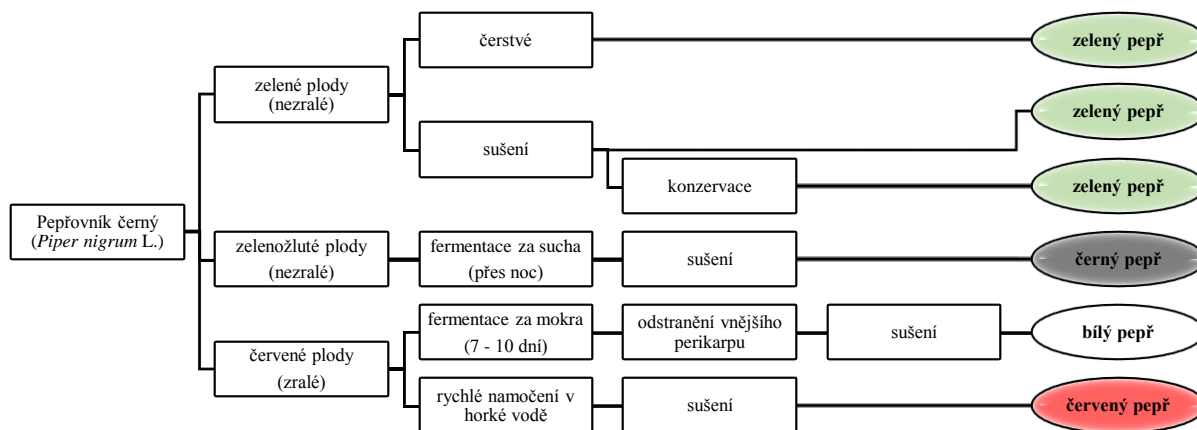
3.3 Historie pepře a jeho tradiční využití

Pepř se v Indii používá jako koření už od prehistorických dob, indická kuchyně jej zná nejméně od roku 2000 př. n. l. Pepřová zrna byla velmi ceněným obchodním artiklem, často označovaným jako „černé zlato“. V Číně je pepř známý od 2. století př. n. l. Čína obchod s pepřem ovládla v průběhu 14. až 16. století, kdy ho ve velkém množství dovážela. Na Sumatru byl pepř zavlečen na začátku 15. století, kdy došlo k masovému rozšíření pěstování pepře a jeho produkci. Podle záznamů vzácnost tohoto koření a touha po něm vedly k evropskému úsilí najít námořní cestu do Indie a následně k evropské koloniální okupaci této země. Ve středověku byl pepř luxusní zboží, dostupné jen bohatým (Krishnapura Srinivasan, 2009). Zároveň se v té době stal pepř jádrem evropského obchodu s kořením, na trhu dominovaly zejména Janov a Benátky. Docházelo k zařazení pepře do většiny raných evropských herbářů a lékařských pojednání. V 17. století ovládalo velkou část obchodu s pepřem Nizozemsko. Počátkem 19. století Britové zakládali velké pepřové plantáže v Malajsii. Černý pepř je označován jako „král koření“ a představuje jednu z hlavních indických obchodních komodit (Charles et Charles, 2012).

Černý pepř se historicky používal nejen v lidské stravě, ale také v tradiční medicíně a domácích léčivých přípravcích. Na černý pepř se spoléhalo při léčbě specifických onemocnění, jako jsou průjmky a horečky, ale zároveň jeho použití mělo zvýšit účinky mnoha bylinných přípravků. Jakmile se pepř dostal do Číny, byl začleněn do tradiční čínské medicíny. Pepř je v ní vyzdvihován především pro svůj stimulační účinek na trávení (Srinivasan, 2009).

3.4 Druhy pepřů

Přestože je černý pepř nejoblíbenější a nejprodávanější formou pepřového koření, existují i další, méně štiplavé varianty pepřových zrn označované jako bílý a zelený pepř (Abdulazeez et al., 2016). Ještě výjimečnějším druhem je červený pepř pocházející z provincie Kampot v Kambodži (Morm et al., 2020). Dále se také mezi pepře řadí pepř růžový. Ten ovšem není pravým pepřem, nepochází totiž z čeledi Piperaceae, ale díky své chuti se zejména v Jižní Americe využíval jako levnější a dostupnější varianta pepře (*Piper nigrum* L.) (Abderrahim et al., 2018). Na Obr. 3 je znázorněno schéma zpracování pepřovníku černého.



Obr. 3: Schéma zpracování pepře

3.4.1 Černý pepř

Pro výrobu černého pepře se sklízají bobule zelenožluté barvy. Po sklizni někteří producenti bobule namáčí do horké vody na dobu 10 minut, díky čemuž se zajistí dezinfekce povrchu. Poté dochází k zahájení procesu fermentace za sucha, při němž bobule zčernají. Teplou narušuje buněčné stěny v plodech a během sušení aktivuje hnědnoucí enzymy. Bobule se suší na slunci přibližně 14 dní, aby se dosáhlo snížení vlhkosti na 12 %. Plody kolem semen se vlivem ztráty vody scvrkávají a tmavnou do tenké vrásčité černé vrstvy. Ze 100 kg čerstvých bobulí vzniká přibližně 35 kg černého pepře (Nelson et Cannon-Eger, 2011; Krishnapura Srinivasan, 2009).

Kromě hlavních kvalitativních vlastností, jako je ostrost chuti a vůně, je pro černý pepř klíčová výsledná barva (hnědá až černá). Vzhledem k tomu, že fenoly přispívají ke zčernání hotových pepřových zrn, jsou povaha a distribuce fenolických sloučenin velmi důležité. Hnědnutí/černání čerstvých bobulí pepře je způsobeno enzymatickou oxidací 3,4-dihydroxy-fenylethanol-glykosidu *o*-difenol-oxidázou přítomnou v čerstvých bobulích. (Parthasarathy et al., 2008; Variyar et al., 1988).

Produkty z černého pepře (Parthasarathy et al., 2008):

- černý pepř celý;
- sterilizovaný černý pepř;
- mletý černý pepř;
- pepřový olej;
- pepřová oleoprskyřice;
- mikroenkapsulovaná chuť koření.

Černý pepř (viz Obr. 4) je významný primárně pro svoji chuť a aroma, ale dále také přispívá svými antibakteriálními, antioxidačními a protiplísňovými vlastnostmi k vylepšení daného produktu. Černý pepř se používá nejen do slaných jídel, ale v některých světových kuchyních může být i součástí dezertů, zákusků, nápojů a koktejlů, sušenek, omáček, marmelád, chutney atd. Pepř je také základní složkou většiny kari koření používaných při vaření po celém

světě. Černý pepř se může vyskytovat jako součást tzv. rozpustného koření, což jsou výtažky z koření smíchané s nosičem (sůl nebo dextróza). U černého pepře se používá k přípravě rozpustného koření pepřová oleopryskyřice. Nejběžnějším nosičem je v tomto případě sůl, protože velikost jejích krystalů zajišťuje dobré míchání, které oleopryskyřici rovnoměrně rozptýlí. Rozpustná koření a ochucovadla se často používají v potravinářském průmyslu při zpracovávání potravin, a to kvůli jednoduššímu a pohodlnějšímu zapracování do výrobku ve srovnání s celým či pomletým kořením. Využití rozpustného koření při běžném kuchyňském vaření je minimální (Peter, 2012).



Obr. 4: Černý pepř

3.4.2 Bílý pepř

Bílý pepř (viz Obr. 5) je v globálním měřítku dražší surovina než černý pepř, a to nejen kvůli větší náročnosti na produkci, ale také díky světlejší barvě, jemnější chuti a menší štiplavosti, což jsou některými konzumenty preferované vlastnosti (Aziz et al., 2019). K dostání je ve dvou základních formách, a to jako celá pepřová zrna nebo namletý (Parthasarathy et al., 2008). Hojně je bílý pepř využíván v potravinách, kde jsou tmavé částice nežádoucí. Jedná se například o salátové dresinky, polévky, majonézu a omáčky světlé barvy (Peter, 2012).

Konvenčně se bílý pepř vyrábí ze zralých bobulí pomocí techniky rosení či máčení – rettingu. Retting je proces, při kterém dochází biologickou aktivitou za pomoci přírodních mikroorganismů k oddělení měkkého vnějšího perikarpu od dřevnatého jádra. Nejvyužívanějším druhem rettingu je vodní retting, kdy za pomoci vody dojde ke shnití perikarpu a jeho následnému oddělení od jádra (Aziz et al., 2019). Při technice vodního rettingu se bobule naplní do nádob či pytlů, jimiž se nechá protékat voda po dobu 7 – 10 dní. Často se využívá říční vody, což ale s sebou nese hygienická rizika. Následně dochází k odstranění vnějšího perikarpu a vzniká produkt, který se také nazývá „pepřové zrno“. Zrna jsou ještě omyta a vysušena na slunci do bělavé barvy. Často se ještě pepřová zrna nechávají den nebo dva ponořená v roztoku bělicího prášku, aby produkt získal lepší barvu (Abdulazeez et al., 2016; Peter, 2012).

Vzhledem k časové náročnosti, hygienickým rizikům a také potřebě velkého množství vody při konvenční produkci bílého pepře došlo ke zkoumání jiných možností produkce.

Biotechnologický přístup k výrobě je založen na konvenčním vodním rettingu, ale navíc je využíváno enzymů, které urychlují oddělení perikarpu od jádra. Enzymy se ukázaly být výborným oddělovacím prostředkem a hojně se používají v potravinářském průmyslu k odlupování slupek peckovic (broskví, nektarinek, meruněk). Principem reakce je hydrolýza pektinu v buněčných stěnách za pomoci pektinázy, dochází ke změně složení a struktura buněčné stěny se hroutí, což vede k uvolňování mnoha aktivních sloučenin, jako jsou fenoly a antioxidanty. Enzymy pomáhají zvyšovat celkové množství obsahu fenolů a antioxidační aktivity například v rýžových otrubách, datlích, zázvoru a česneku. Aplikace enzymů při výrobě bílého pepře tak může být velmi prospěšná i z hlediska obohacení pepře o cenné aktivní sloučeniny (Aziz et al., 2019).



Obr. 5: Bílý pepř

3.4.3 Zelený pepř

Zelený pepř (viz Obr. 6) jsou čerstvá zrna, ještě nezralá, zelená, ale jádro plodu je již plně vyvinuté. Prodává se nejčastěji v čerstvé (nesušené) formě nebo konzervovaný v roztoku kyseliny octové nebo citronové, případně naložený v oleji (Abdulazeez et al., 2016; Morm et al., 2020). Zejména na západním trhu je zelený pepř ceněn pro svou jemnost a nachází zde své uplatnění. Tento trh je však omezený, protože při skladování zelený pepř rychle černá, pokud není konzervovaný (Bandyopadhyay et al., 1990).

Produkty ze zeleného pepře (Parthasarathy et al., 2008):

- konzervovaný zelený pepř;
- zelený pepř ve slaném nálevu;
- nakládáný zelený pepř v oleji;
- mražený zelený pepř;
- mrazem sušený zelený pepř;
- dehydrovaný zelený pepř;
- omáčka ze zeleného pepře;
- výrobky s příchutí zeleného pepře.

V nezralém stádiu má pepř zvláštní „zelenou“ příchut', které je dosaženo inhibicí enzymatického působení v produktech, jako je zelený pepř ve slaném nálevu, dehydratovaný

zelený pepř a konzervovaný zelený pepř. K udržení zelené barvy se využívá metody inaktivace enzymu fenolázy (fenoly způsobují černání zeleného pepře, což je v tomto případě nežádoucí). U dehydrovaného a konzervovaného zeleného pepře se zakonzervování zelené barvy dosáhne tepelnou inaktivací enzymu. U pepře ve slaném nálevu je dosaženo inaktivace pomocí okyseleného nálevu (Attokaran, 2017).



Obr. 6: Zelený pepř

3.4.4 Červený pepř

Červený pepř nebo také červený kampotský pepř (viz Obr. 7) je produktem kultivaru pepřovníku černého (*Piper nigrum* L.), který se vyrábí v provincii Kampot v Kambodži. Vývoz kampotského pepře do Evropy byl poprvé zaznamenán v roce 1870. Díky svým specifickým organoleptickým vlastnostem získal nedávno ochrannou známku kvality „Chráněné zeměpisné označení“. Mimo červeného kampotského pepře je k dostání i kampotský pepř černý, bílý a zelený. Červený pepř je výsledkem sušení zralých bobulí, které jak před sušením, tak i po něm vykazují červenou barvu. Tradičně se červený kampotský pepř suší tři až čtyři dny, a to v závislosti na povětrnostních podmínkách. Bobule se rozprostřou venku na zem a jsou vystaveny přímému slunečnímu záření. Ještě před vlastním sušením se bobule obvykle na několik minut namočí do horké vody, což hraje důležitou roli při zkrácení doby sušení a zajištění mikrobiologické nezávadnosti, ale především je tato operace podstatná pro inaktivaci polyfenolických oxidů, které jsou zodpovědné za hnědnutí pepře během sušení. Dosažení požadované barvy výrobku je v tomto případě klíčové (Morm et al., 2020).



Obr. 7: Červený kampský pepř

3.4.5 Růžový pepř

Pepřovec obecný (*Schinus molle* L.) je dřevina čeledi Anacardiaceae, která dosahuje výšky až 15 metrů. Listy jsou trvalé, květy malé a bílé o rozměru 3 až 4 mm a plody (bobule) jsou růžové, kulovité, o velikosti 6 až 7 mm (viz Obr. 8). Tyto bobule jsou po usušení prodávány jako růžový pepř, ačkoliv se nejedná o pravý pepř (*Piper* spp.). Ovšem často je také nesprávně označován a prodáván jako červený pepř. Pepřovec obecný pochází z tropických a subtropických oblastí Jižní Ameriky. *Schinus molle* L. je znám a využíván v tradiční medicíně jako antiseptikum, antirevmatikum, protizánětlivý a proti průjemový lék. Byly u něj také zkoumány vazokonstrikční, diuretické a hojivé účinky. Extrakty a esenciální oleje *Schinus molle* L. vykazují antibakteriální, antimykotické, antioxidační, insekticidní a analgetické vlastnosti (Abderrahim et al., 2018).



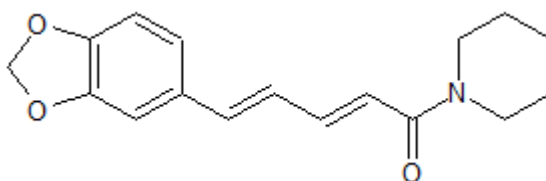
Obr. 8: Plody pepřovce obecného (*Schinus molle* L.) (Zdroj: atlasrostlin.cz)

3.5 Alternativní produkty pepře, jejich biologická aktivita a vliv na zdraví

Hodnota pepře je dána jeho štiplavostí a aroma, které jsou připisovány přítomnosti přirozeně se vyskytujícího alkaloidu, známého jako piperin, a také vonných silic. Silice, které tvoří asi 0,4 až 7 % pepře, odpovídají za aroma pepře. Piperin, jakožto hlavní složka pepřové oleoprskyřice, mu dodává štiplavost a jeho obsah v pepři se pohybuje mezi 2 až 7,4 % (Gorgani et al., 2017).

3.5.1 Piperin

Piperin je přirozeně se vyskytující alkaloid nacházející se v pepřovníku černém (*Piper nigrum* L.) a také v pepřovníku dlouhém (*Piper longum* L.) a je zodpovědný za štiplavost pepře. Z chemického hlediska je piperin 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl] piperidin, se sumárním vzorcem $C_{17}H_{19}NO_3$ (viz Obr. 9). Tento alkaloid je slabě zásaditý, málo rozpustný ve vodě (0,04 g/l při 18 °C) a vysoce rozpustný v etheru (0,027 g/ml), chloroformu (0,58 g/ml) a ethanolu (0,06 g/ml). Bod tání je při teplotách od 128 do 130 °C. Piperin byl poprvé izolován Hansem Christianem Oerstedem v roce 1819 z černého pepře (*Piper nigrum* L.) (Quijia et al., 2021; Turrini et al., 2020).



Obr. 9: Piperin

Piperin je v pepřovníku syntetizován biosyntézou L-lysinu. V přítomnosti pyridoxal-fosfátu se L-lysin podrobí dekarboxylaci na kadaverin a poté oxidační enzym diaminoxidáza způsobí jeho deaminaci na aminoaldehyd. Tento amin prochází cyklizací, při které vzniká imin, Δ -1-piperidein, který je redukován na piperidin a reaguje s piperonyl-CoA (ester kyseliny piperové a koenzymu A) za vzniku piperinu (Quijia et al., 2021).

3.5.1.1 Antioxidační aktivita

Vystavení záření a látkám znečišťující životní prostředí, poškození tkání, infekce a autoimunitní procesy, to vše může vést k produkci volných radikálů. Volné radikály pak mohou způsobit vážná poškození organismu, kterým lze předcházet nebo je zmírnit zvýšením koncentrace antioxidantů v tkáních (Gorgani et al., 2017). Poškození kyslíkovými radikály a produkty peroxidace lipidů byly označeny jako hlavní příčiny aterosklerózy, rakovinného bujení a procesu stárnutí. V *in vitro* experimentech se piperin ukázal jako účinná látka na ochranu před oxidačním poškozením, protože zneškodňuje volné radikály a reaktivní formy kyslíku a inhibuje peroxidaci lipidů. Piperin je účinným antioxidantem a poskytuje ochranu i proti oxidaci lipoproteinu o nízké hustotě (LDL) u člověka (Srinivasan, 2009).

Vijayakumar et al. (2004) analyzovali peroxidaci tkáňových lipidů pomocí piperinu jako enzymatického a neenzymatického antioxidantu u samců myši Wistar, kmených potravou s

vysokým obsahem tuku po dobu 10 týdnů. Dospěli k závěru, že piperin může snížit oxidační stres v buňkách vyvolaný stravou s vysokým obsahem tuku, a to snížením hladiny reaktivních látek, kyseliny thiobarbiturové a glutathionu, a kromě toho, že udržuje hladiny katalázy, glutathion-S-transferázy, superoxidové dismutázy a glutathion peroxidázy.

3.5.1.2 Vliv na trávení

Pepř díky své štiplavosti a chuti, kterou také propůjčuje potravinám, napomáhá vylučování slin a žaludečních šťáv. Bylo prokázáno, že piperin pozitivně ovlivňuje a zvyšuje sekreci slin a aktivitu slinné amylázy u lidí. Trávicího účinku je také dosahováno prostřednictvím příznivé stimulace jater k produkci a vylučování žluči bohaté na žlučové kyseliny, které hrají velmi důležitou roli při trávení a vstřebávání tuků. Srinivasan prováděl studie na zvířatech za účelem zkoumání vlivu piperinu na činnost enzymů, které se účastní trávení, zejména vlivu na pankreatické trávicí enzymy a trávicí enzymy sliznice tenkého střeva. Příjem piperinu ve stravě významně zvýšil aktivitu pankreatické lipázy a aktivitu lipázy stimulovanou piperinem až o 30 % oproti kontrole. Aktivita pankreatické amylázy byla piperinem ve stravě zvýšena až o 87 %. Tyto studie také ukazují, že piperin přijímaný ve stravě stimuluje aktivitu trypsinu až o 150 %. Pozitivní stimulační účinek piperinu se projevil i u chymotrypsinu, který také nabýval vyšších hodnot. Ovšem při jednorázové perorální dávce piperinu se výše uvedených stimulačních účinků nedosáhlo. Piperin zvyšoval i aktivitu střevní lipázy. Stimulace této enzymové aktivity byla více než 100% v porovnání s kontrolou. Znatelné zvýšení aktivity intestinální lipázy a také aktivity intestinální amylázy bylo pozorováno u zvířat, kterým byly podávány jednotlivé perorální dávky piperinu (Srinivasan, 2007).

V lidovém medicíně se *Piper nigrum* L. využívá také díky svým protiprůjmovým vlastnostem. Zejména pak ve většině rozvojových zemí místní obyvatelé a bylinkáři využívají pepřová zrna proti průjmům, a to pro všechny věkové kategorie. Protiprůjmová aktivita piperinu byla zkoumána u experimentálních myší. Piperin mimo jiné minimalizoval i průjmovou aktivitu vyvolanou různými chemickými aktivátory a ricinovým olejem. Také byl zkoumán účinek piperinu na akumulaci tekutin v tenkém střevě u myší, která byla indukována ricinovým olejem. V takto vyvolané situaci piperin postupně zabraňuje hromadění tekutiny v tenkém střevě a zároveň ovlivňuje její sekreci (Ahmad et al., 2012).

3.5.1.3 Protizánětlivé vlastnosti

Patofyziologická odpověď živých tkání na poranění se označuje jako zánět, který způsobuje lokální hromadění plazmatické tekutiny a krevních buněk. Jedná se o obranný mechanismus, který se vyvinul u vyšších organismů, aby je chránil před infekcemi a zraněními. Ovšem složité procesy a prostředníci, kteří se podílejí na zánětlivé reakci, však mohou vyvolat nebo podpořit rozvoj mnoha nemocí nebo je dokonce zhoršit. Pro léčbu zánětlivých onemocnění je použití protizánětlivých přípravků klíčové. Protizánětlivá vlastnost označuje schopnost látky nebo léčby zmírnit zánět nebo otok. Piperin, stejně jako hexanové a ethanolové extrakty *Piper nigrum* L., prokázal pozoruhodnou analgetickou a protizánětlivou aktivitu. Protizánětlivé účinky piperinu byly potvrzeny na mnoha potkaních modelech (Gorgani et al., 2017).

Piperin vykazoval významnou protizánětlivou aktivitu u akutních i chronických zánětů u zvířecích modelů. Významný byl zejména účinek piperinu na zánět vyvolaný histaminem a formalinem. Naopak neúčinkoval proti adrenalectomicky vyvolanému zánětu (adrenalectomie zvyšuje projevy prozánětlivých cytokinů). To ukazuje na působení piperinu v časných fázích zánětu, který je zprostředkován histaminem a serotoninem, ale nikoli v pozdějších fázích zánětlivých změn vyvolaných prostaglandinem (Gutierrez et al., 2013).

3.5.1.4 Protinádorová aktivita

Několik studií zkoumalo protinádorové účinky piperinu na modelech *in vitro* a *in vivo*. Zkoumány byly mechanismy podporující jeho protinádorovou aktivitu jak samostatně, tak i ve spojení s protinádorovými léky. V lidských nádorech se hojně vyskytuje protein survivin, který se podílí na regulaci cytokineze a progresi buněčného cyklu a účastní se celé řady buněčných procesů, včetně apoptózy. Při podání piperinu došlo k inhibici exprese survivinu v buňkách karcinomu tlustého střeva. Schopnost piperinu modulovat určité metabolické enzymy a jeho pro-apoptotická aktivita jsou v tomto případě klíčové. Kombinace piperinu s tradičními protinádorovými léky má totiž za účinek slibné zvýšení jejich biologické dostupnosti a účinnosti spolu s obnovením chemosenzitivity na několika modelech *in vitro* a *in vivo*. Ovšem v lékařské praxi je nutná určitá opatrnost, zejména kvůli možným lékovým interakcím a nízké biologické dostupnosti piperinu. Optimalizace správného režimu dávkování a lékových forem je nezbytným krokem pro zkoumání terapeutického potenciálu piperinu pro pacienty s nádorovým onemocněním (Turrini et al., 2020).

Yoo et al. (2019) provedli studii zaměřenou na protinádorové a pro-apoptotické vlastnosti piperinu. Zkoumány byly jeho účinky na buňky melanomu. Došli k závěru, že piperin byl schopen úspěšně potlačit růst buněk lidského melanomu indukci apoptózy díky inhibici nádorového růstu buněk. Wongpa et al. (2007) zkoumali antimutagenní vlastnosti piperinu a účinek na chromozomy buněk kostní dřeně. Zvířecím subjektům (krysám) byl podáván piperin v dávkách 100, 400 a 800 mg/kg tělesné hmotnosti a následně byly vystaveny působení cyklofosfamidu v dávce 50 mg/kg tělesné hmotnosti. Výsledky prokázaly, že piperin statisticky významně snižuje chromozomální aberace vyvolané cyklofosfamidem už při dávce 100 mg/kg tělesné hmotnosti, což naznačuje určitý antimutagenní potenciál piperinu.

3.5.1.5 Antimikrobiální vlastnosti

Antimikrobiální aktivita piperinu byla studována proti grampozitivním (*Staphylococcus aureus*) i gramnegativním bakteriím (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*) a také kvasinkám *Candida albicans*. Piperin vykazoval silnou antimikrobiální aktivitu proti testovaným organismům, zejména proti *Candida albicans*, kterou následovala *Escherichia coli*. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) piperinu se u testovaných organismů pohybovala v rozmezí 3,125 – 100 mg/ml. Antimikrobiální aktivita piperinu ukazuje, že pepř by mohl být slibným zdrojem léčebných látek (Toma, 2010).

Další studie se zabývala antimikrobiální aktivitou piperinu extrahovaného z *Piper nigrum* L. a jeho využitím spolu s antibiotiky ampicilinem a amfotericinem B. V této

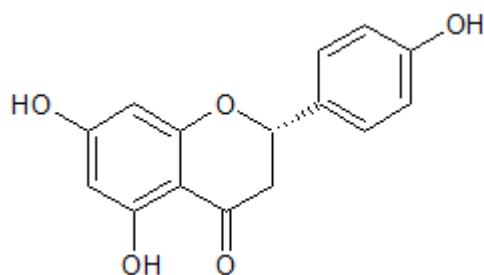
studii bylo prokázáno, že piperin zlepšil aktivitu ampicilinu proti *Staphylococcus aureus* o 14 %, ale zároveň snížil aktivitu amfotericinu B proti *Candida albicans* o 54,2 %. Vlastní antimikrobiální aktivita piperinu nebyla příliš významná (Corneliu Moraru et al., 2019).

Antibakteriální aktivita *Piper nigrum* L., zejména pak piperinu, byla také zkoumána jak proti grampozitivním kmenům (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), tak i gramnegativním kmenům (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*). Extrakty vykazovaly různý stupeň antibakteriální aktivity proti většině testovaných grampozitivních a gramnegativních bakterií. Jako nejúčinnější se ukázal ethanolový extrakt, který vykazoval významný antibakteriální účinek proti testovaným grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Nejcitlivějšími bakteriemi byly *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis* se stejnou hodnotou MIC 156,25 mg/ml, zatímco nejvyšší hodnota MIC 1250 mg/ml se objevila u *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Tyto výsledky mají velký význam zejména v případě bakterií *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*, které jsou známé svou rezistencí vůči některým antibiotikům a také produkcí několika enterotoxinů způsobujících mnoho typů enteritidy (Zarai et al., 2013).

3.5.2 Flavonoidy

3.5.2.1 Naringenin

Naringenin je široce rozšířený, přirozeně se vyskytující flavonoid. Nachází se zejména v jedlých plodech. Jedná se o chemickou sloučeninu 2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-4H-1-benzopyran-4-on (viz Obr. 10). Molekula je nerozpustná ve vodě, ale rozpustná v organických rozpouštědlech, například v alkoholu. V rámci třídy flavonoidů se naringenin řadí mezi flavanony, je odvozený od naringinu nebo narirutinu (Salehi et al., 2019). Naringenin se do těla nejčastěji dostává jako naringin, což je glykosidová forma naringeninu. Obvykle se váže na glukózovou složku, která poté ovlivňuje jeho biologickou dostupnost (Zaidun et al., 2018).



Obr. 10: Naringenin

Na základě studií *in vitro* i *in vivo* na zvířatech se prokázaly různé farmakologické účinky naringeninu, včetně účinků hepatoprotektivních, antiaterogenních, protizánětlivých, antimutagenních, protinádorových, antimikrobiálních, a dokonce se naskytuje možnost jeho využití při léčbě a kontrole kardiovaskulárních, gastrointestinálních, neurologických, metabolických, revmatologických, infekčních a maligních onemocnění (Salehi et al., 2019).

Antioxidační aktivita

Schopnost vychytávání a neutralizace radikálů a antioxidační kapacita naringinu a jeho aglykonu naringenin byly zkoumány *in vitro*. Výsledky ukázaly, že naringenin vykazuje vyšší antioxidační kapacitu a účinnost vychytávání hydroxylových a superoxidových radikálů než naringin. Navíc naringenin prokázal větší účinnost při ochraně proti oxidačnímu poškození lipidů. Byly také zkoumány účinky naringenin proti arzenem vyvolanému jaternímu oxidačnímu stresu *in vivo*. Zvýšené podání naringenin snížilo hladinu glutathionu. Zároveň byl prospěšný jak při obnově změněné superoxid dismutázy, tak při aktivitě katalázy, a významně snižoval koncentraci arsenu v krvi a tkáních (Patel et al., 2018).

Kardioprotektivní vlastnosti

Už dříve bylo zjištěno, že oxidační stres a jeho produkty jsou jednou z příčin vzniku aterosklerózy a s ní souvisejících kardiovaskulárních onemocnění (CVD). Oxidační stres je sjednocujícím mechanismem mnoha rizikových faktorů CVD, které navíc podporují jeho ústřední roli při CVD. Naringenin slouží jako aterosklerotický činitel při CVD. Několikanásobné studie na zvířatech prokázaly, že ke kardiovaskulárnímu onemocnění dochází v důsledku oxidačně-antioxidační nerovnováhy, která podporuje tvorbu aterosklerotických plátů. Naringenin napomáhá zlepšování lipidového profilu a potlačuje zánětlivé cytokiny. U srdeční fibrózy naringenin snižuje progresi onemocnění. Naringenin má antiaterosklerotické a kardioprotektivní účinky především díky své vlastní antioxidační aktivitě (Zaidun et al., 2018).

Úloha flavanonů (zejména pak naringenin) byla v oblasti CVD důkladně zkoumána i v rámci klinických studií. Pacientům byl podáván naringin (glykosidová forma naringenin). Ve dvojitě zaslepené křížové studii 12 pacientů s hypertenzí I. stupně dostávalo 500 ml ovocné šťávy, která obsahovala 593 μM naringinu, nebo šťávu s nižším obsahem (143 μM naringinu), a to po dobu 5 týdnů. Systolický krevní tlak se v obou skupinách snížil, ale nebyly zjištěny žádné významné rozdíly. Avšak diastolický krevní tlak byl účinněji snížen ve skupině s vysokými dávkami naringinu. Výsledkem byla inverzní korelace mezi vysokou spotřebou flavanonů a kardiovaskulárním rizikem (Salehi et al., 2019).

Neuroprotektivní vlastnosti

Ve srovnání s jinými tkáněmi jsou nervové buňky extrémně citlivé na oxidační poškození. Mozkové buňky obsahují polynenasycené mastné kyseliny, které jsou náchylné k oxidaci, a proto mohou být zodpovědné za oxidační stres. Také ve srovnání s jinými buňkami jsou neuronové buňky vysoce závislé na oxidační fosforylaci jako hlavním zdroji energie. V mozku je ale nedostatek obranných mechanismů, jelikož mozek obsahuje jen velmi malé množství antioxidačních enzymů. To vše vede k nadměrné citlivosti nervových buněk k oxidačnímu stresu a jeho produktům. Jedním z produktů oxidačního stresu jsou volné radikály. Pokud dojde ke zvýšení jejich koncentrace v neuronálních buňkách, může dojít k inhibici aktivity acetylcholinesterázy (AChE). Naringenin díky své schopnosti vychytávat volné radikály tak může prodloužit životnost AChE, a tím i neurotransmiterů, a působit tak neuroprotektivně. Krysy, které byly vystavené působení železa, vykazovaly sníženou hladinu AChE, avšak po podávání naringeninu těmto krysám došlo k významnému obnovení aktivity AChE díky

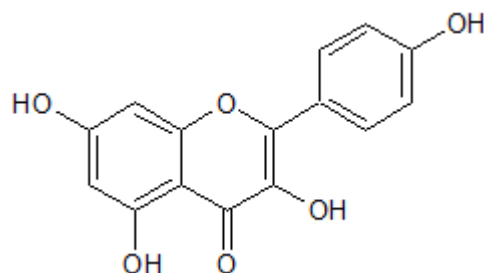
účinnému antioxidačnímu potenciálu naringenin. Naringenin má také potenciál chránit integritu buněk kontrolou antioxidačních obranných systémů; enzymatických i neenzymatických (Arafah et al., 2020).

Protinádorové vlastnosti

Naringenin a jeho účinky byly zkoumány u různých typů rakovinných buněk (např. tlustého střeva, prsu, žaludku, prostaty, jater, děložního čípku, pankreatu, dělohy a leukémie). Jeho protinádorový účinek se projevuje selektivní cytotoxicitou, antiproliferačními účinky a vyvoláním apoptózy u buněk, a to v závislosti na dávce. Naringenin inhibuje mitogenem aktivovanou protein kinázu (MAP kinázu). MAP kinázy jsou zodpovědné za proliferaci a diferenciaci buněk a také za zánětlivou reakci. Produkty oxidačního stresu jsou jedním ze stresorů, které aktivují signalizační dráhu MAP kináz. Naringenin může uplatňovat svůj antikarcinogenní účinek také tím, že inhibuje vychytávání glukózy do buněk, což následně brání růstu buněk. Rakovinové buňky potřebují glukózu jako zdroj energie, aby dosáhly určité míry proliferace (Zaidun et al., 2018). Biotransformace některých toxických látek (např. polycyklických aromatických uhlovodíků) enzymem cytochrom P450 má za následek vznik genotoxických látek. Naringenin při koncentraci 5 mM nebo více tento enzym inhibuje. Naringenin také prokázal ochranu proti azoxymethanem indukované karcinogenezi tlustého střeva (Mir et Tiku, 2015).

3.5.2.2 Kaempferol

Kaempferol, neboli 3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)-4H-1-benzopyran-4-on (viz Obr. 11), je bioaktivní fenolická látka spadající do skupiny flavonoidů. Člověku se přirozeně do těla dostává spolu s rostlinnou stravou, vyskytuje se u mnoha jedlých rostlin. Flavonoidy se vyznačují svojí antioxidační aktivitou, schopností neutralizovat účinky volných radikálů a chelatací iontů kovů. Jako antioxidant působí kaempferol proti tvorbě superoxidových iontů a snižuje tvorbu reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku. Také má schopnost vychytávat peroxynitrit a hydroxylové radikály (Imran et al., 2019). Kaempferol redukuje volné radikály prostřednictvím darování vodíku a je přeměněn na fenoxylový radikál. Fenoxylový radikál poté může reagovat s jinými volnými radikály a stát se tak stabilní formou. Jeho schopnost redukovat ionty kovů je ovšem úzce spojena s prooxidační aktivitou, což je naopak nežádoucí jev. Dochází k němu při reakci fenoxylového radikálu s kyslíkem. Vzniká tak sloučenina vykazující prooxidační účinky a produkující reaktivní formy kyslíku (Devi et al., 2015).



Obr. 11: Kaempferol

Kaempferol byl zkoumán v souvislosti s léčbou rakoviny prsu. Bylo zjištěno, že protirakovinné účinky kaempferolu se vyznačují třemi způsoby: inhibicí růstu buněk karcinomu prsu, vyvoláním apoptózy buněk karcinomu a inhibicí migrace a invaze buněk karcinomu. Tímto způsobem na rakovinné buňky mohou reagovat i další biologicky aktivní, přírodní sloučeniny. Kaempferol má v léčbě rakoviny určitou perspektivu, ale je nutné ještě další zkoumání z hlediska zvýšení biologické dostupnosti látky a také rychlé a specifické reakce (Wang et al., 2019).

Pozornost se také věnuje protizánětlivým účinkům kaempferolu. Chronický zánět přímo souvisí s mnoha onemocněními, včetně alergií, artritidy, cukrovky a kardiovaskulárních chorob. Existuje úzký vztah mezi konzumací flavonoidů a snížením rizika vzniku a rozvoje zánětlivých onemocnění. Kaempferol je jedním z nejběžnějších, široce rozšířených flavonoidů a je významný zejména díky svým antioxidačním a protizánětlivým vlastnostem. Jeho protizánětlivé účinky se projevují především inhibicí funkce zánětlivých buněk a také inhibicí exprese prozánětlivých cytokinů a chemokinů. V zánětlivých buňkách se tvoří reaktivní formy kyslíku a zároveň s tím i superoxidové anionty, což vede k oxidačnímu poškození dalších buněk. Kaempferol, díky své antioxidační aktivitě, může reagovat a zneškodňovat produkty oxidačního stresu (H_2O_2 , HOCl, superoxid, oxid dusnatý atd.). Peroxynitrit, který se podílí na peroxidaci lipidů, je pak kaempferolem také inhibován. Ovšem vzhledem k nižší biologické dostupnosti látky po perorálním podání je obtížné určit optimální dávku, kterou bude dosaženo požadované účinnosti a zároveň i bezpečnosti (Devi et al., 2015; Ren et al., 2019).

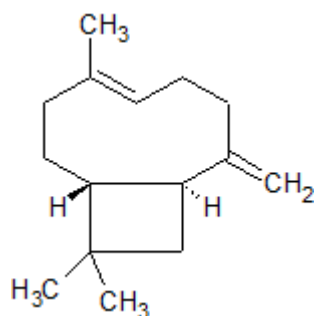
3.5.3 Pepřová silice

Silice jsou vonné, vysoce těkavé látky přítomné v rostlinách. Vzhledem ke své těkavosti mohou být tyto látky izolovány z aromatické rostliny pomocí parní destilace a mohou být detekovány jak vůní, tak i chutí. Jednotlivé silice jsou pojmenovány podle názvu rostliny, z níž pocházejí, a vůně je podobná vůni té části rostliny, z níž jsou získány, i když vůně silice je intenzivnější (Ríos, 2016). Dle definice Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO) je silice „produkt získaný z přírodní suroviny rostlinného původu parní destilací, mechanickými postupy z epicarpu citrusových plodů nebo suchou destilací, a to po oddělení vodné fáze (pokud je přítomna) fyzikálními procesy“ (International Organization for Standardization, 2013).

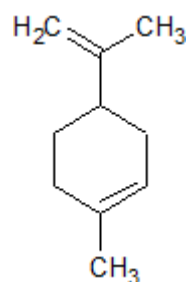
Silice je substance tvořená množstvím složek, obvykle tekutých, ale někdy i pevných. Při pokojové teplotě jsou silice bezbarvé až lehce nažlouté, když jsou čerstvě destilovány, mají aromatickou vůni a snadno se vstřebávají do kůže. Obvykle mají nízkou hustotu, jsou špatně rozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné ve většině běžných organických rozpouštědlech, včetně ethanolu a diethyletheru (Ríos, 2016).

V pepřové silici obvykle tvoří většinu (až 70 %) dvě nebo tři hlavní složky, ostatní látky jsou přítomny ve stopovém množství. Obecně tyto hlavní složky určují žádoucí biologické a charakteristické pachové vlastnosti silice. Pepřová silice zahrnuje dvě skupiny složek, které se liší biosyntetickým původem; první jsou terpeny a terpenoidy, druhá pak aromatické a alifatické sloučeniny (Myszka, Leja, et al., 2019). Mezi nejvýznamnější sloučeniny pepřové silice patří

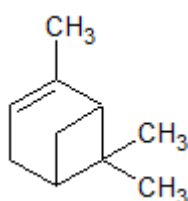
β -karyofylen (viz Obr. 12) a limonen (viz Obr. 13), dále pak α -pinen (viz Obr. 14), β -pinen (viz Obr. 15) a karen (viz Obr. 16) (Jeena et al., 2014).



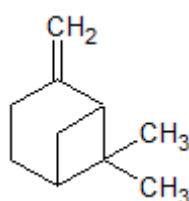
Obr. 12: β -karyofylen



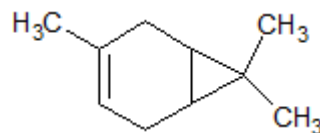
Obr. 13: Limonen



Obr. 14: α -pinen



Obr. 15: β -pinen



Obr. 16: Karen

Celkový obsah fenolů je jedním z důležitých parametrů pro hodnocení výživové hodnoty pepřové silice. Bioflavonoidy obsažené v pepři jsou fenolické látky s nízkou molekulovou hmotností a mohou být rychle absorbovány v lidském těle. Mohou proniknout hematoencefalickou bariérou a také do tukové tkáně a aktivovat funkce mozku a dalších orgánů. Na základě studie v *in vitro* podmínkách bylo zjištěno, že pepřová silice může mít antioxidační a hepatoprotektivní účinky i *in vivo*. Mechanismem účinku je s největší pravděpodobností jeho antioxidační schopnost a protizánětlivá aktivita. Snižuje oxidační stresové markery a zvyšuje hladiny antioxidačních enzymů. Tyto účinky mohou být přičítány množství fenolických sloučenin přítomných v pepřové silici (Zhang et al., 2021).

Pepřová silice nachází své uplatnění i v potravinářských výrobcích, ať už jako nutriční složka, ingredience pro zachování chuti, barvy či vůně nebo konzervant zabraňující časnému kažení produktů. Pepřovou silici lze vzhledem k jejím antioxidačním a antimikrobiálním vlastnostem využít jako aditivum do potravin obsahujících lipidy s cílem stabilizovat lipidy a potlačit negativní účinky oxidačního žluknutí. Biologická konzervace pomocí pepřové silice je účinná pro syrové i tepelně upravené maso a mořské plody a také pro minimálně zpracovanou zeleninu. Tyto produkty vyžadují pouze aplikaci různých koření k potlačení oxidace lipidů, zachování barvy a zlepšení trvanlivosti a chuti. Pro dosažení uspokojivé antimikrobiální a antioxidační aktivity v těchto produktech jsou však obvykle nezbytné vyšší koncentrace silice, což může následně vyvolat negativní organoleptické vlastnosti produktu. Proto byly zkoumány i alternativní způsoby využití silice v potravinách. Jedním z nich je enkapsulovaná silice v jedlých a biologicky rozložitelných obalových polymerech, dalším pak použití silice

v aktivních obalech potravin, a to za účelem překonání nevýhod spojených s vysokou koncentrací silice v potravině (Myszka, Leja, et al., 2019).

Enkapsulace dokáže ochránit silici a zachovat její nejdůležitější složku – terpeny. Terpeny v pepřové silici jsou těkavé a jejich funkce může být snadno snížena vlivem okolních podmínek. Bastos et al. (2020) se ve své studii zabývali vhodným složením obalu enkapsulované silice. Komplex želatiny s alginátem sodným v poměru 6:1 (želatina/alginát sodný) se ukázal jako velmi účinná ochrana silice a tyto biopolymery tedy mohou sloužit jako potenciální nosič pepřové silice (Heckert Bastos et al., 2020). Bastos se svým týmem (2020) zkoumali i další variantu materiálu kapsle, tentokrát komplex laktoferrinu s alginátem sodným za použití transglutaminázy jako pojícího činidla. V této studii se zabývali nejen účinností ochrany silice, ale byla hodnocena i stabilita kapslí při *in vitro* trávení. Tobolky prokázaly nízké uvolňování silice při trávení v žaludku a vyšší uvolňování při trávení ve střevě. Kapsle by tedy mohly být použity k transportu účinných látek, jsou odolné vůči orálnímu a žaludečnímu trávení *in vitro* (Bastos et al., 2020).

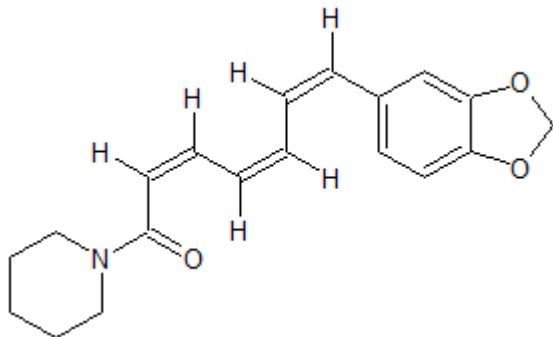
Pepřové silice mohou být také použity ve stále více populárních aktivních obalech jako přísady do biologicky rozložitelných fólií a povrchových úprav aktivních obalů potravin s cílem prodloužit dobu použitelnosti a dodat produktu přidanou hodnotu. Pro účely balení potravin byla silice úspěšně zabudována do fólií celulózy a materiálů na bázi želatiny. Přidání silice do fólií celulózy snížilo pevnost v tahu, ale zvýšilo prodloužení při přetržení. Silice mohou působit jako změkčovadla a zvyšovat pružnost polymeru, ale poněkud snižují průhlednost filmů. Proto jsou takto obohacené fólie vhodné zejména pro balení potravin, které vyžadují nízkou výměnu vodní páry a jsou citlivější na světlo (Myszka, Leja, et al., 2019).

V souvislosti s hlavní složkou pepřové silice β -karyofylenem byla zkoumána antimikrobiální aktivita této silice. β -karyofylen má schopnost potlačit růst a virulenci bakterií, schopnost změnit fluiditu bakteriálních membrán a inhibovat aktivitu elastáz a proteáz. Má proto dobré předpoklady fungovat jako přírodní, bezpečný a k životnímu prostředí šetrný biokonzervant potravin (Myszka, Olejnik, et al., 2019; S. Singh et al., 2013).

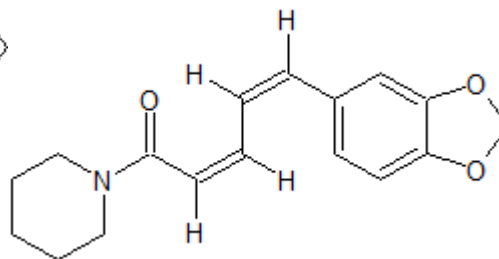
3.5.4 Oleoprskyřice

Oleoprskyřice je dalším z možných produktů pepře, je tvořena zejména piperinem a silicí, obvykle v poměru 40 : 20 (40 % piperinu a 20 % silice). Ovšem k dostání jsou také oleoprskyřice s nižším nebo vyšším obsahem kterékoliv ze složek. Mezi nejvýznamnější sloučeniny pepřové oleoprskyřice kromě piperinu patří dále piperetin (viz Obr. 17) a chavicin (viz Obr. 18). Oleoprskyřice se využívá k výrobě poměrně nového produktu: 95% piperinu v krystalické formě. Piperin se používá jako bioaktivní materiál, který napomáhá zlepšené absorpci současně užívaných léků. Oleoprskyřice nachází využití zejména v potravinářství a v průmyslově zpracovaných výrobcích (Attokaran, 2017; Wijesekera et al., 1972). Je k dostání jako tekuté koření a obsahuje jak štiplavé, tak chuťové složky pepře. U výrobků světlých barev, kde by tmavá barva pepře byla nežádoucí, se využívá oleoprskyřice odbarvené za pomoci uhlíku jako adsorbentu. Oleoprskyřice se vyrábí z drceného pepře extrakcí pomocí vhodného organického rozpouštědla (aceton, ethanol, ethylacetát nebo ethylendichlorid). Využívá se

jednostupňového nebo dvoustupňového procesu. V prvním případě se extrahuje silice spolu s pryskyřicemi. Při dvoustupňovém procesu se nejdříve destilací pomocí páry získá silice, poté následuje extrakce rozpouštědlem. Později se oleoprskyřice a silice smíchají tak, aby odpovídaly požadavkům (Peter, 2012).



Obr. 17: Piperetin



Obr. 18: Chavicin

Oleoprskyřice z černého pepře, stejně jako jeho silice, má vysoké antioxidační účinky a schopnost vychytávání a neutralizace radikálů. Černý pepř lze proto použít jako snadno dostupný zdroj přírodních antioxidantů a jako možné aditivum v potravinářském průmyslu. Antioxidační mechanismy oleoprskyřice fungují na základě schopnosti darovat vodík, chelátování kovů a jejich efektivitě ve vypořádávání se s volnými radikály (Kapoor et al., 2009).

Přestože má oleoprskyřice mnoho výhod oproti mletému koření, její citlivost na světlo, teplo a kyslík může být nevýhodou. Jednou z možností, jak toto eliminovat, je stejně jako u silice enkapsulace. Studie Shaikh et al. (2006) se zabývala vhodným obalovým materiálem kapsle pro pepřovou oleoprskyřici. Porovnávali arabskou gumu a modifikovaný škrob a hodnotili je z hlediska obsahu a stability těkavých látek, netěkavých látek a celkového piperinu po dobu šesti týdnů. Arabská guma se ukázala být vhodnějším materiálem a poskytovala větší ochranu než modifikovaný škrob.

3.6 Tradiční zpracování a vliv zpracování na obsahové látky

Pepř je tvořený dvěma hlavními složkami: silicí a štiplavými sloučeninami. Tradičně se *Piper nigrum* L. zpracovává na dva druhy produktů, a to na pepř černý (nezralá forma) a pepř bílý (zralá forma). Obsah silice v černém pepři je obvykle vyšší než v pepři bílém. Černý pepř obsahuje asi 2,0 až 2,6 % silice a 6 až 13 % oleoprskyřice. Ostrost pepře je připisována především přítomnosti piperinu, ale přispívají k ní i další látky. Obsah piperinu v pepři se může pohybovat od 1,7 % až do 7,4 %. Obal pepřového zrna obsahuje především vlákninu. Pepřová zrna jsou bohatá na sacharidy, až 88 % z nich tvoří glukóza, následovaná galaktózou, arabinózou, kyselinou galakturonovou a rhamnózou. Výživové údaje černého pepře jsou uvedeny v Tab. 2. Pro obsahové látky je mimo jiné důležitá i barva pepře. Fenoly přispívají k hnědnutí/zčernání hotových pepřových zrn, a proto jsou povaha a distribuce fenolických sloučenin velmi důležité. Zčernání čerstvého zeleného pepře je způsobeno enzymatickou oxidací (3,4-dihydroxyfenyl)ethanol glykosidu, přítomného v čerstvém zrně, *o*-difenol oxidázou. Přeměna zeleného pepře na černý pepř procesem sušení je doprovázena 75%

snížením celkového obsahu fenolů a úplnou ztrátou oxidovatelné fenolové frakce *o*-difenolu (Parthasarathy et al., 2008; Peter, 2012).

Tab. 2: Výživové údaje černého pepře

Složení	Obsah na 100 g
Voda [g]	8
Energie [kcal]	400
Bílkoviny [g]	10
Tuky [g]	10,2
Sacharidy [g]	66,5
Popeloviny [g]	4,6
Vápník [g]	0,4
Fosfor [mg]	160
Sodík [mg]	10
Draslík [mg]	1200
Železo [mg]	17
Thiamin [mg]	0,07
Riboflavin [mg]	0,21
Niacin [mg]	0,8

(Zdroj: (Parthasarathy et al., 2008))

4 Materiál a metody

4.1 Vzorky

Analyzované vzorky byly dovezeny nebo zakoupeny ze tří zemí; Indie, Thajska a Kambodži. Z indických vzorků byl analyzován pepř černý, bílý a zelený, z thajských pepřů černý a bílý a z kambodžských kampoťských pepřů černý, bílý a červený. Výběr byl závislý na produkci a dostupnosti v dané zemi. Celkem tedy bylo analyzováno 8 vzorků.

4.2 Chemikálie a standardy

Standardy flavonoidů (naringenin, kaempferol), mono- a seskviterpenů (jmenovitě α -pinen, β -pinen, myrcen, α -felandren, δ^3 -karen, *p*-cymen, limonen, a β -karyofylen) a piperin byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha, Česká Republika). Rozpouštědla o analytické čistotě – acetonitril (ACN), metanol (MeOH), *n*-hexan byly zakoupeny od VWR (Praha, Česká Republika). Kyselina octová (AA) byla zakoupena od Honeywell (Charlotte, USA).

4.3 Příprava vzorků

Vzorky byly vhodně upraveny pro každou z analýz fyzikálními a chemickými metodami. V případě kapalinové chromatografie byly vzorky řádně namlety a naváženy do plastových zkumavek v množství 500 mg. Následně do každého ze vzorků bylo přidáno 10 ml 80% roztoku MeOH a vzorky byly řádně promíchávány po dobu 10 minut a následně umístěny k odstředění do centrifugy na 5 minut. Nakonec byl odpipetován do vialek 1 ml supernatantu a vzorky tak byly připraveny k analýze. Pro stanovení obsahu piperinu byly vzorky ještě naředěny 100 ×.

Pro analýzu plynovou chromatografií byly vzorky pepřů opět řádně namlety. Do varných baněk bylo naváženo 20 g vzorku a následně přidáno přibližně 500 ml demi H₂O. Baňky byly umístěny do topného hnízda LTHS 2000 a připojeny do clevenger aparatury na parní destilaci pepřové silice. Destilace silice probíhala zhruba hodinu, jakmile přestaly silice přibývat, byla destilace ukončena. Po vychladnutí a oddělení aparatury od varné baňky byly silice převedeny do plastových zkumavek a následně prepipetovány do vialek k analýze.

4.4 Kapalinová chromatografie (HPLC-UV)

Obsahy piperinu a flavonoidních látek (naringenin a kaempferol) byly naměřeny na UltiMate 3000 HPLC systému, který byl vybaven UV-Vis detektorem (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Separace látek byla provedena na koloně ACE Excel C18-Amid (150 × 4,6 mm; 2 μ m, 100 Å; Aberdeen, Skotsko). Analyzované látky byly separovány pomocí gradientové eluce pomocí fáze A (H₂O + 0,5% AA) a B (ACN + 0,5 AA) v následujících poměrech: 0 min, 96:4 (% A:B); 10 min, 85:15; 14 min, 79:21; 25 min, 78:22; 34 min, 59:41; 38 min, 0:100; 48 min, 0:100; 51 min, 96:4 a 61 min, 96:4. Teplota termostatu kolony byla nastavena na 33 °C, nástřik vzorku byl nastaven na 10 μ l a průtok mobilní fáze na 1 ml/min. UV spektra byla sbírána v rozsahu 190 – 400 nm, přičemž kvantifikace byla provedena v oblasti 260 nm. Kalibrační křivka standardů byla pro každý analyt připravena v šesti bodech (100, 50,

20, 10, 5 a 2 µg/ml). Kvantifikace byla provedena interpolací ploch píků analytů s odpovídajícími koncentracemi standardů pomocí lineární regrese. Vyhodnocení získaných dat bylo provedeno v softwaru Chromeleon 7.2 (Thermo Fisher Scientific).

4.5 Plynová chromatografie (GC-MS)

Vzorky silic byly naředěny v poměru 1:1000 v *n*-hexanu a přeneseny do HPLC vialek. Relativní kvantifikace silic byla provedena pomocí GC/FID (Agilent 7890 A; Agilent Technologies; Santa Clara, USA). Jednotlivé složky silic byly separovány na koloně HP-5MS (Agilent Technologies) o následujících parametrech: délka 30 m, průměr kolony 0,25 mm, tloušťka fáze 0,25 µm. Jako nosný plyn bylo zvoleno hélium. Rychlost průtoku hélia byla nastavena na 1 ml/min. Podmínky analýzy byly následující: teplota inletu 250 °C, vzorek (o objemu 1 µl) byl nastříkovan v režimu split (30:1). Počáteční teplota pece (40 °C) byla udržována 5 minut, následně byla rychlostí 5 °C/min zvyšována na teplotu 180 °C, po 1 minutě byla teplota rychlostí 30 °C/min zvyšována na konečnou teplotu 280 °C, celková doba analýzy byla 37 minut. Parametry FID detektoru byly následující: teplota 300 °C, průtok N₂ byl nastaven na 5 ml/min, průtok H₂ na 30 ml/min a průtok vzduchu na 400 ml/min. Identifikace jednotlivých složek silic byla provedena pomocí GC/qTOF (Agilent 7890B/qTOF 7200), za stejných separačních podmínek uvedených výše. Parametry hmotnostního detektoru byly následující: teplota kvadrupólu 230 °C, teplota zdroje 230 °C a rozsah skenování hmot od 55 do 700 Da. Identifikace jednotlivých složek byla provedena porovnáním spekter se spektry dostupných standardů, dále porovnáním spekter a vypočtených Kovatsových indexů s databází NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA).

4.6 Statistická analýza

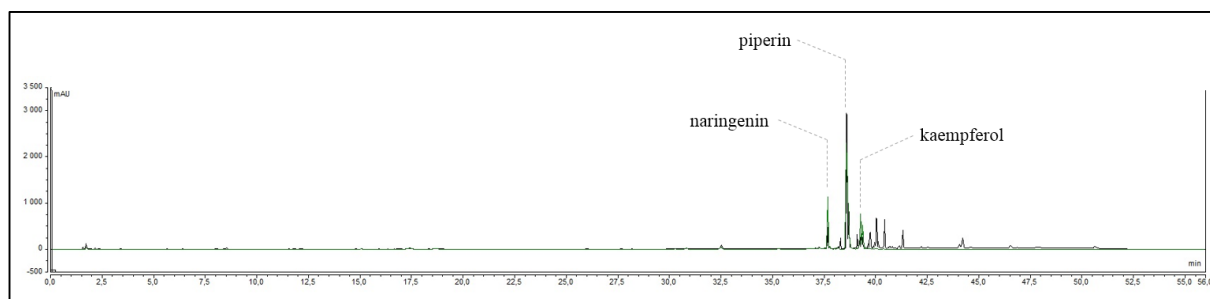
Data z HPLC-UV a GC-FID/GC-MS byla získána ze třech nezávislých opakování. Hodnoty pro obě analýzy byly vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka (SD). Statistické výsledky (vliv země původu a forma zpracování na hladiny analyzovaných látek) byly zpracovány v programu STATISTICA 12. K tomuto účelu byla využita vícefaktorová analýza ANOVA s post hoc Tukey HSD testem. Nulová hypotéza H₀: Neexistuje statisticky významný rozdíl mezi vzorky.

5 Výsledky

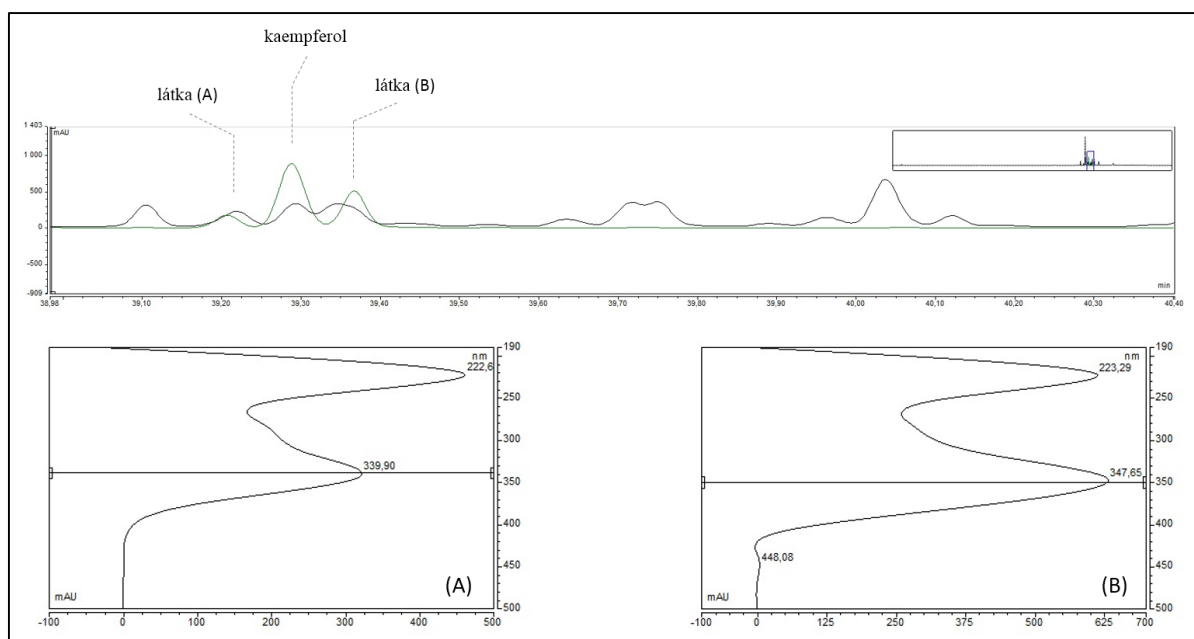
5.1 Kapalinová chromatografie (HPLC-UV)

Kapalinovou chromatografií byl stanoven ve vzorcích pepře obsah piperinu a hlavních flavonoidů, naringenin a kaempferolu. V Tab. 3 a Grafu 1 jsou uvedeny, respektive znázorněny, průměrné obsahy piperinu, naringenin a kaempferolu ve vzorcích. Z výsledků vyplývá, že průměrný obsah piperinu v bílém a černém pepři je nejnižší u indických vzorků, 2,73 % u bílého a 2,94 % u černého pepře. Mezi těmito vzorky není statisticky významný rozdíl v obsahu piperinu. Naopak úplně nejvyšší hodnota piperinu 4,30 % byla naměřena u bílého kambodžského pepře. Při porovnání s černým kambodžským pepřem obsahuje statisticky významně více piperinu ($p = 0,001704$). Srovnání bílých pepřů z jednotlivých zemí je znázorněné v Grafu 2. Statisticky významně vyšší je obsah piperinu u kambodžského pepře jak oproti indickému ($p = 0,000191$), tak oproti thajskému ($p = 0,006409$). Mezi bílým pepřem z Indie a z Thajska statisticky významný rozdíl není. Porovnání černých pepřů se nachází v Grafu 3. Mezi černými pepři neexistuje statisticky významný rozdíl. Co se týče netradičních variant pepře, zeleného a červeného, zelený pepř dosahoval spíše vyšších hodnot piperinu (3,59 %), statisticky významné rozdíly v obsahu v porovnání s ostatními pepři nejsou, pouze bílý indický pepř má statisticky významně nižší hodnotu ($p = 0,015100$). Červený pepř dosahoval nižších hodnot piperinu (2,94 %), statisticky významně méně piperinu měl pouze v porovnání s bílým kambodžským pepřem ($p = 0,000311$), u ostatních vzorků nebyl statisticky významný rozdíl.

Co se týče naringenin a kaempferolu, nejbohatší na tyto flavonoidy se jednoznačně ukázal být indický zelený pepř. Průměrný obsah naringenin činil 0,85 % a kaempferolu 0,36 %. V obou případech byly rozdíly v obsahu oproti ostatním vzorkům statisticky významně vyšší ($p = 0,000175$). Naopak kambodžský červený pepř byl na dané flavonoidy nejchudší; obsahoval 0,44 % naringenin a 0,07 % kaempferolu. Na Obr. 19 je vidět chromatogram z analýzy kambodžského kampotského červeného pepře. Obr. 20 poté detailněji zobrazuje oblast v blízkosti kaempferolu, ze které je patrné, že jsou zde přítomny i další látky (zřejmě deriváty flavonoidů a další neznámé látky). Nicméně vzhledem k tomu, že nebyly dostupné standardy, nejde s jistotou určit, o jaké látky se jedná.



Obr. 19: HPLC-UV chromatogram červeného pepře



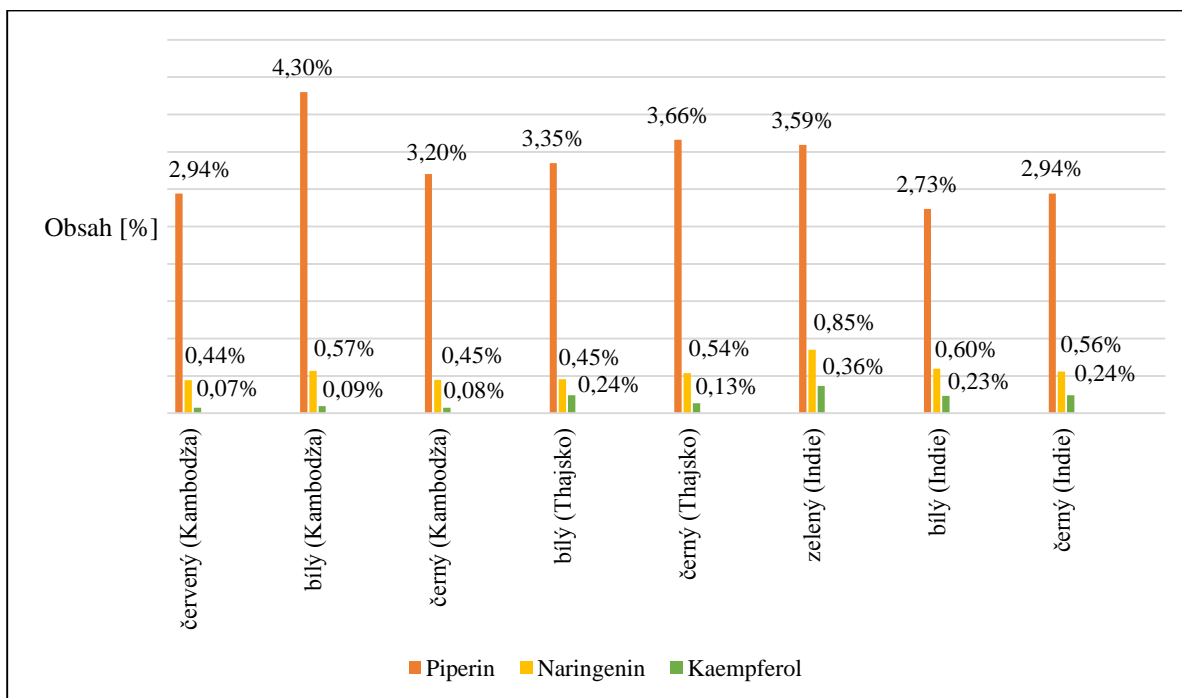
Obř. 20: Detailní chromatogram červeného pepře a UV spektra látek (A a B) vyskytujících se v blízkosti kaempferolu

Při porovnání černých pepřů statisticky významné rozdíly v osahu naringeninů nebyly mezi vzorky z Indie a Thajska, oba tyto vzorky ovšem měly statisticky významně vyšší obsah oproti černému pepři z Kambodži ($p = 0,000570$ pro indický a $p = 0,003128$ pro thajský). U bílých pepřů naopak nebyl statisticky významný rozdíl mezi kambodžským a indickým pepřem, oba ale měly statisticky významně vyšší obsah naringeninů než thajský pepř ($p = 0,000474$ pro kambodžský a $p = 0,000183$ pro indický).

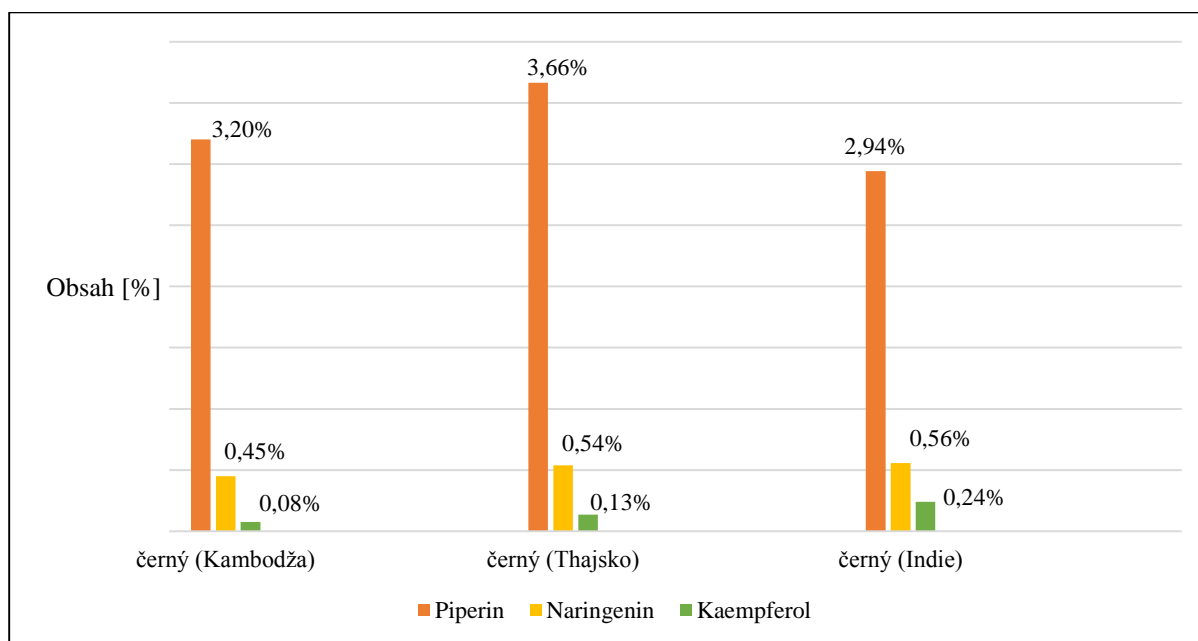
Obsah kaempferolu u kambodžských pepřů byl výrazně nižší než u indických nebo thajských. Mezi kambodžskými pepři neexistuje statisticky významný rozdíl. Při porovnání černých pepřů existují mezi všemi vzorky statisticky významné rozdíly, u bílých není statisticky významný rozdíl pouze mezi indickým a thajským vzorkem. Porovnání složení bílých pepřů je znázorněno v Grafu 2, černých v Grafu 3.

Tab. 3: Obsah piperinu, naringeninů a kaempferolu ve vzorcích pepře (průměr \pm SD)

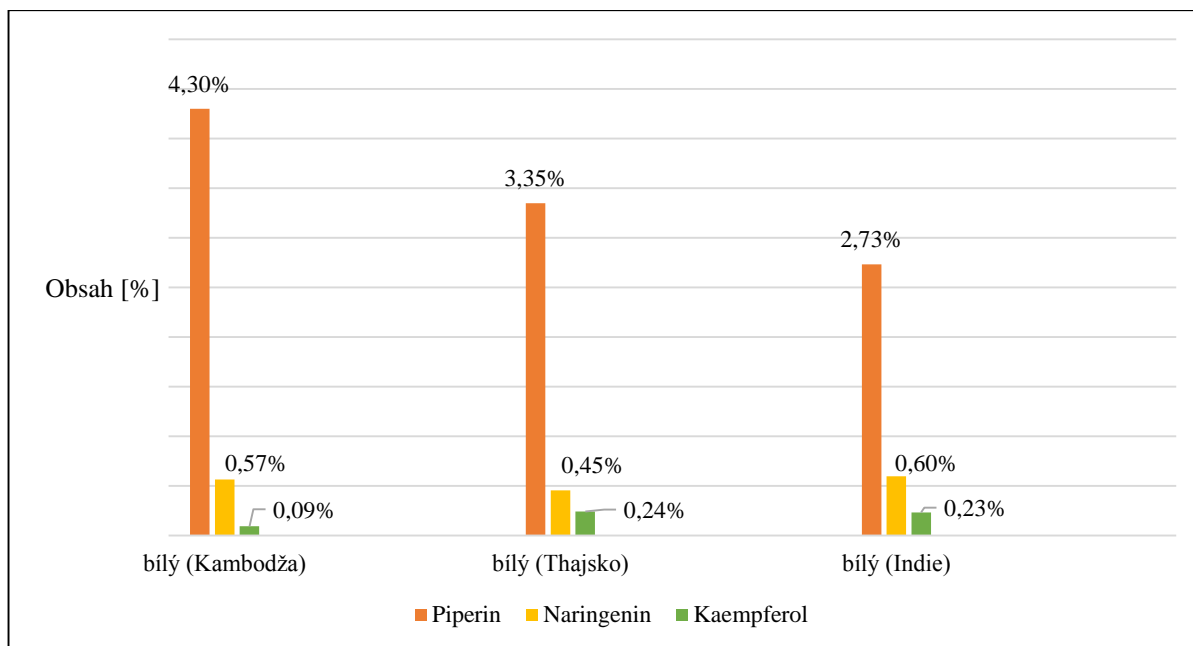
	Obsah [%]		
	piperin	naringenin	kaempferol
Pepř červený (Kambodža)	2,94 \pm 0,42	0,44 \pm 0,02	0,07 \pm 0,00
Pepř bílý (Kambodža)	4,30 \pm 0,39	0,57 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01
Pepř černý (Kambodža)	3,20 \pm 0,08	0,45 \pm 0,01	0,08 \pm 0,00
Pepř bílý (Thajsko)	3,35 \pm 0,19	0,45 \pm 0,01	0,24 \pm 0,02
Pepř černý (Thajsko)	3,66 \pm 0,34	0,54 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01
Pepř zelený (Indie)	3,59 \pm 0,17	0,85 \pm 0,04	0,36 \pm 0,02
Pepř bílý (Indie)	2,73 \pm 0,10	0,60 \pm 0,03	0,23 \pm 0,01
Pepř černý (Indie)	2,94 \pm 0,07	0,56 \pm 0,00	0,24 \pm 0,01



Graf 1: Obsah piperinu, naringeninu a kaempferolu ve vzorcích pepře



Graf 2: Obsah piperinu, naringeninu a kaempferolu v černém pepři



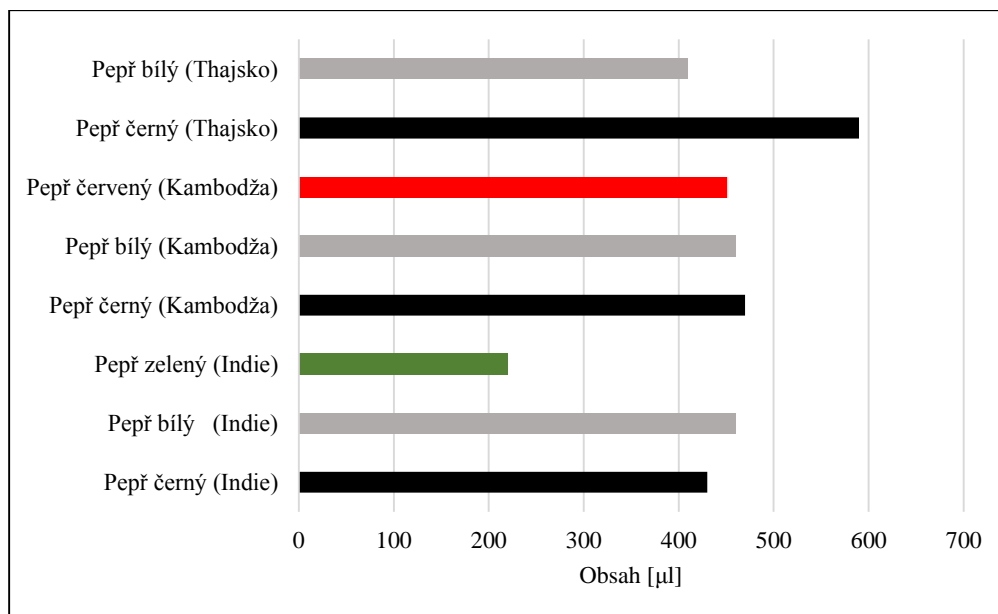
Graf 3: Obsah piperinu, naringeninu a kaempferolu v bílém pepři

5.2 Plynová chromatografie (GC-MS)

Před samotnou analýzou silic došlo k parní destilaci silic ze vzorků. Obsah silic ve vzorcích a výtěžnost jsou uvedeny v Tab. 4. Z výsledků je patrné, že nejvyšší obsah silice a výtěžnost byla u zeleného indického pepře (220 μl ; 2,15 % v/w). V Grafu 4 je znázorněno porovnání obsahů silic v jednotlivých vzorcích.

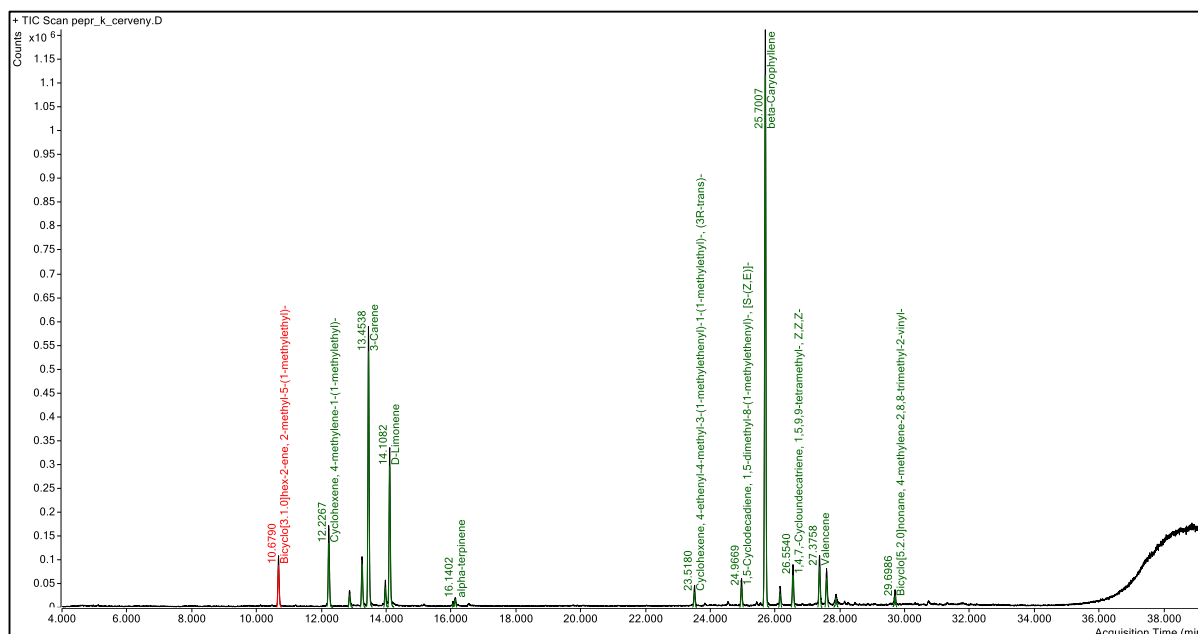
Tab. 4: Obsah a výtěžnost silic z jednotlivých vzorků

	Silice	
	Obsah [μl]	Výtěžnost [% v/w]
Pepř černý (Indie)	430	2,15
Pepř bílý (Indie)	460	2,30
Pepř zelený (Indie)	220	1,10
Pepř černý (Kambodža)	470	2,35
Pepř bílý (Kambodža)	460	2,30
Pepř červený (Kambodža)	450	2,25
Pepř černý (Thajsko)	590	2,95
Pepř bílý (Thajsko)	410	2,05



Graf 4: Obsah silic [µl] ve vzorcích pepře

Následně byly už silice podrobené analýze plynovou chromatografií, kdy bylo zjišťováno zastoupení jednotlivých látek v silicích (viz Tab. 5). Výrazně zastoupenou složkou ve všech vzorcích byl β -karyofylen. Zvláště pak kambodžské pepře obsahovaly významně vyšší podíl (kolem 30 %) této látky než ostatní vzorky, nejvyšší zjištěná hodnota pak byla u červeného pepře (35,87 %) (viz Obr. 21). Naopak výrazně nejméně β -karyofylen bylo obsaženo v zeleném pepři (6,34 %). Mezi všemi vzorky existuje statisticky významný rozdíl s hodnotou $p = 0,000175$.



Obr. 21: Složení silice červeného kambodžského pepře

Co se týče dalších významně zastoupených složek; limonen byl v jednotlivých vzorcích obsažen v množství od 12,99 % do 19,11 %, výjimkou bílý indický pepř, který dosahoval hodnoty 25,31 %. Mezi jednotlivými vzorky je statisticky významný rozdíl ($p = 0,000175$). Pouze mezi kambodžskými červeným a černým je pak rozdílová hodnota $p = 0,000190$ a mezi kambodžským červeným a thajským černým $p = 0,002258$, což znamená, že v těchto dvou případech jsou kambodžský černý a thajský černý pepř oproti kambodžskému červenému pepři méně rozdílné (rozdíly v naměřeném obsahu limonenu jsou menší než u ostatních vzorků). Výjimkou je ještě thajský černý a kambodžský černý pepř, mezi kterými není statisticky významný rozdíl v obsahu limonenu.

Bohaté na δ^3 -karen byly vzorky z Thajska (31,30 % u bílého a 25,06 % u černého pepře). Opakem jsou indické pepře, u bílého a zeleného tato látka nebyla vůbec detekována a černý měl nejnižší obsah δ^3 -karenu ze všech vzorků (12,84 %). Mezi všemi vzorky, kde byla látka detekována, je statisticky významný rozdíl ($p = 0,000175$).

Co se týče α -pinenu, nejvíce byl zastoupen u indických vzorků (7,98 % u bílého a 7,80 % u zeleného pepře) a nejméně u vzorků z Kambodži (3,61 % u červeného a 3,82 % u bílého pepře). Mezi všemi vzorky byl statisticky významný rozdíl s hodnotami $p 0,000175 - 0,000272$. β -pinen byl také nejvíce zastoupen u indických vzorků (15,82 % u bílého a 11,66 % u zeleného pepře) a nejméně u vzorků z Kambodži (6,96 % u bílého a 7,03 % u červeného pepře). Statisticky významný rozdíl nebyl pouze mezi kambodžským červeným a bílým pepřem, u ostatních vzorků se hodnota p pohybovala v rozmezí 0,000175 až 0,000805.

Tab. 5: Relativní zastoupení (% průměr) jednotlivých složek silic získaných ze vzorků pepřů

Látka	RT (min)	RI	Indie			Kambodža			Thajsko		
			Bílý	Černý	Zelený	Bílý	Červený	Černý	Bílý	Černý	
α -tujen	11,5	927	2,94	1,77	4,14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
α -pinen ^a	11,7	933	7,98	5,26	7,80	3,82	3,61	4,14	6,21	4,31	
sabinen	13,1	973	21,69	14,36	28,30	n.d.	n.d.	n.d.	0,30	n.d.	
β -pinen ^a	13,2	975	15,82	9,55	11,66	6,96	7,03	7,42	11,31	8,04	
myrcen ^a	13,8	991	1,65	1,79	1,15	2,22	2,02	2,14	2,59	2,27	
α -felandren ^a	14,2	1002	0,40	2,37	0,90	3,17	3,24	3,11	3,94	4,28	
δ^3 -karen ^a	14,4	1008	n.d.	12,84	n.d.	27,18	20,29	26,12	31,30	25,06	
-	14,6	1015	0,29	0,25	0,55	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
<i>p</i> -cymen ^a	14,9	1024	0,38	0,78	0,44	2,58	1,29	2,20	2,27	1,19	
limonen ^a	15,0	1028	25,31	17,78	18,68	12,99	13,39	13,61	19,11	13,54	
γ -terpinen	16,0	1059	0,54	0,49	0,99	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	16,3	1067	n.d.	n.d.	1,19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	16,9	1086	n.d.	n.d.	n.d.	0,26	0,24	0,25	0,28	0,26	
-	17,0	1088	n.d.	0,56	0,28	0,51	0,64	0,53	0,73	0,80	
-	17,3	1098	n.d.	n.d.	1,03	0,53	0,44	n.d.	n.d.	n.d.	
-	19,7	1178	0,68	n.d.	1,33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	24,1	1340	0,53	0,38	0,98	1,11	1,04	0,78	1,61	0,88	
-	24,5	1352	0,25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
α -kopaen	25,2	1379	2,23	2,18	1,23	n.d.	n.d.	n.d.	0,55	0,27	
-	25,6	1395	0,49	0,93	0,45	0,94	1,67	1,46	0,34	1,63	
-	26,0	1414	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,27	
β -karyofylen ^a	26,3	1424	11,62	15,77	6,34	30,33	35,87	29,30	16,72	28,90	
-	26,7	1442	n.d.	n.d.	n.d.	0,70	0,76	0,79	n.d.	0,67	
TMCUT	27,1	1459	0,76	1,25	0,69	1,84	2,39	2,02	0,93	2,04	
-	27,8	1486	n.d.	0,22	0,49	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
α -guaien	27,9	1492	n.d.	1,17	0,34	0,90	2,50	2,11	n.d.	2,52	
-	28,1	1500	n.d.	1,24	0,97	0,62	1,79	1,65	n.d.	2,11	
-	28,2	1504	0,37	0,36	0,52	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
cedren	28,4	1511	2,80	2,41	2,66	0,29	0,99	0,81	n.d.	0,51	
-	28,6	1521	0,56	0,45	0,84	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	28,8	1527	0,97	1,05	1,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,22	n.d.	
-	29,4	1554	n.d.	2,81	1,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	29,7	1566	n.d.	0,88	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	30,2	1590	0,90	0,53	0,41	2,11	0,95	1,26	0,87	0,47	
-	31,2	1634	n.d.	n.d.	n.d.	0,51	0,22	0,30	0,86	n.d.	
-	31,4	1644	n.d.	n.d.	n.d.	0,44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	31,5	1648	n.d.	0,56	0,31	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	31,6	1652	0,83	0,20	1,53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	31,8	1662	n.d.	0,26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
-	32,4	1690	n.d.	n.d.	1,33	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	

^a Látky identifikované pomocí standardu, zbytek uvedených látek domněle identifikované pomocí knihovny NIST a retenčních indexů (RT); Poznámky: -, látku nebylo možné identifikovat; TMCUT, (1Z,4Z,7Z)-1,5,9,9-tetramethylcycloundeka-1,4,7-trien; RT, retenční čas; RI, retenční index (vypočítaný dle Kovátsových indexů); n.d., látka v daném vzorku nebyla nalezena (not detected). Výsledky jsou uvedeny jako průměr ze třech opakování. Vzhledem k tomu, že směrodatné odchylky byly velice nízké (pohybující se v rozmezí 0.03-7.43% RSD), nejsou v této tabulce uvedeny.

6 Diskuze

Vzhledem k tomu, že červený pepř není běžnou potravinou, není ani příliš studií, které by se mu věnovali. Morm et al. (2020) provedli studii ohledně červeného pepře, ale věnovali se spíše produkci a výrobě než celkovému chemickému složení. Ve své práci se však zabývali i složením čerstvého, plně vyztřálého kampotského pepře. Stejně jako v této práci stanovovali obsah piperinu za pomoci HPLC. Průměrný obsah piperinu stanovili na $38,5 \pm 10,7$ mg/g suché hmoty ($3,85 \pm 1,07$ %). V této práci byl průměrný obsah piperinu v červeném pepři stanoven na $2,94 \pm 0,42$ %, což je méně, ale směrodatná odchylka je také menší. Je také nutné podotknout, že studie Morm et al. (2020) stanovovala obsah piperinu v čerstvých plodech, kdežto tato práce v hotovém sušeném produktu, což může do určité míry způsobovat diferenci ve výsledku, jelikož čerstvá zrna jsou podrobena záhřevu ve vodní lázni (kvůli zachování barvy) a poté ještě sušení, aby vznikl finální produkt. I tento fakt byl brán v potaz a Morm et al. (2020) zjišťovali pokles obsahu piperinu po zpracování zrn. I když pokles nebyl markantní, určité rozdíly se vyskytly a závisely na době tepelného záhřevu ve vodní lázni a poté teplotě sušení.

Dále se studie zabývala celkovým obsahem fenolických a flavonoidních látek, opět v čerstvém, plně vyztřálém kampotském pepři. Analýza Morm et al. (2020) ukázala, že celkový obsah fenolických látek je $9,1 \pm 1,1$ mg/g suché hmoty ($0,91 \pm 0,11$ %) a flavonoidních látek $42,2 \pm 6,6$ mg/g suché hmoty ($4,22 \pm 0,66$ %). Na rozdíl od této práce ale nestanovovala konkrétní složení. V této práci se povedlo identifikovat jako nejvíce zastoupené dva hlavní flavonoidy, a to naringenin a kaempferol. I když jejich hodnoty dohromady nedosahují takového obsahu, co stanovili Morm et al. (2020) jako celkový flavonoidní obsah, detailnější chromatogram z analýzy červeného pepře v této práci ukazuje oblast v blízkosti kaempferolu, z které (a UV spekter) je vidět, že se zde vyskytují i další flavonoidy. Flavonoidy totiž silně absorbují v oblasti 330 – 390 nm (Harborne, 1998). Možná se jedná o aglykony, tedy čisté flavonoidy bez cukerných jednotek, nebo jejich cukerné deriváty, např. kaempferol glykosidy. Opět stejně jako u piperinu se musí brát ohled na to, že analýza Morm et al. (2020) probíhala v čerstvých plodech, takže i následná vodní lázeň a sušení mohou mít vliv na dané obsahy. Podle Morm et al. (2020) nemá teplota sušení žádný vliv na obsah fenolických ani flavonoidních látek, ale vodní lázeň má na tento obsah významný vliv (p hodnota = 0,02), hodnoty u zpracovaného pepře jsou dokonce vyšší než u čerstvých zrn.

V této práci byly analyzovány i další formy pepře, kromě červeného i zelený a také běžné varianty černý a bílý pepř. Vzorky pocházely jak z Kambodži, tak i z Indie a Thajska. Co se týče obsahu piperinu, fenolických i flavonoidních látek, vzorky se často liší jak v rámci formy zpracování, tak i v rámci místa původu. Lee et al. (2020) ve své studii, která porovnává různé zpracované formy pepře, uvádí, že celková koncentrace flavonoidních a fenolických látek v bílém pepři byla o 24,0 a 23,9 % nižší než v černém pepři. Vliv na to má právě forma zpracování daného pepře. U bílého totiž v průběhu produkce dochází k odstranění slupky semene, ve které se flavonoidní a fenolické látky také nacházejí. Ovšem obsah piperinu byl po odstranění slupky o 8,2 % vyšší. Většina chuťových složek pepře byla u bílého pepře snížena a to vedlo k jemnější chuti a vyšší bioaktivitě (Lee et al., 2020). V této práci ovšem rozdíl v obsahu piperinu mezi bílým a černým pepřem byl detekován pouze v případě kambodžských vzorků (bílý pepř

obsahoval výrazně více piperinu než černý), u thajských a indických nebyl statisticky významný rozdíl. Ovšem co se týče méně častých forem, zeleného a červeného pepře, ty při porovnání s bílým a černým vykazují značné rozdíly. Zelený v rámci indických pepřů má výrazně vyšší obsah piperinu oproti bílému a černému indickému pepři. Červený je na tom mezi kambodžskými pepři naopak, má výrazně nižší obsah piperinu oproti bílému pepři, ale vzhledem k černému není rozdíl významný. U flavonoidních látek v bílém a černém pepři je situace obdobná jako u piperinu. Statisticky významné rozdíly nejsou u indických vzorků, ale u kambodžských a thajských ano. Ovšem na rozdíl od studie Lee et al. (2020) jsou v této práci obsahy flavonoidů u bílého pepře vyšší než u černého (výjimkou je obsah naringeninů u bílého thajského pepře, který je nižší než u černého thajského). Zelený indický pepř má stejně jako v případě piperinu výrazně vyšší obsah flavonoidů než bílý a černý indický pepř. Podobně je tomu opět i u červeného pepře, který se i v případě flavonoidů liší vzhledem k bílému (červený má nižší obsahy flavonoidů), ale nikoliv vzhledem k černému kambodžskému pepři. Podle výsledků je zřejmé, že nezáleží pouze na způsobu zpracování, ale také na místě původu vzorků (vzorky Lee et al. (2020) pocházejí z Korei).

Co se týče volatilních látek v silici pepře, vícero zdrojů (Andriana et al., 2019; Bagheri et al., 2014; Mattonai et al., 2020; Orav et al., 2004) se shoduje, že hlavní a nejvíce zastoupenou látkou je β -karyofylen. Jako další významné a hojně zastoupené látky uvádějí shodně Orav et al. (2004), Bagheri et al. (2014) a Mattonai et al. (2020) α -pinen, β -pinen, δ^3 -karen a limonen, což plně souhlasí i s výsledky této práce. Procentuální zastoupení jednotlivých složek se povětšinou velmi liší jak mezi různými formami pepře, tak i u stejných forem s jiným místem původu. Obsah β -karyofylenu se u vzorků analyzovaných v této práci pohyboval od 6,34 % do 35,87 % (nejnižší hodnoty dosahoval zelený pepř a té nejvyšší červený pepř). Obecně kambodžské vzorky dosahovaly výrazně více β -karyofylenu (29,30 – 35,87 %) než ostatní, ale naopak byly nejchudší na α -pinen a β -pinen (3,61 – 4,14 % a 6,96 – 7,42 %). δ^3 -karen se u kambodžských vzorků vyskytoval v množství 20,29 – 27,18 % a limonen 12,99 – 13,61 %. Bagheri et al. (2014) provedli studii zaměřenou na malajský pepř a jeho volatilní látky. Nejvíce zastoupenou látkou byl β -karyofylen (18,60 %), dále pak limonen (14,95 %), sabinen (13,19 %), β -pinen (9,71 %), δ^3 -karen (8,56 %) a α -pinen (7,96 %). Orav et al. (2004) také pracovali s malajským pepřem a zjišťovali též jeho složení. Opět vyšel β -karyofylen jako nejvíce zastoupená látka (38,1 – 63,0 %), následovaná limonenem (3,0 – 14,3 %), δ^3 -karenem (3,0 – 13,8 %) a β -pinenem (1,5 – 5,9 %). Ne vždy ale je β -karyofylen nejvíce zastoupenou látkou. V této práci indické vzorky obsahovaly nejvíce limonenu (17,78 – 25,31 %), dále pak 9,55 – 15,82 % β -pinenu, 6,34 – 15,77 β -karyofylenu, 5,26 – 7,98 % α -pinenu a δ^3 -karen byl detekován pouze u černého pepře (12,84 %), u bílého a zeleného indického pepře nebyl detekován. Opakem se staly thajské vzorky, u kterých byl δ^3 -karen nejvíce obsaženou látkou (25,06 – 31,30 %), následovaný β -karyofylenem (16,72 – 28,90 %), limonenem (13,54 – 19,11 %), β -pinenem (8,04 – 11,31 %) a α -pinenem (4,31 – 6,21 %). Ve studii Möllenbeck et al. (1997) zabývající se pepřem z Madagaskaru bylo složení následovné; nejvíce zastoupenou složkou byl α -pinen (25,4 %), dále limonen (21,0 %), β -pinen (15,7 %) a δ^3 -karen (10,8 %). U brazilských pepřů ze studie Dosoky et al. (2019) byly hlavními složkami β -pinen (20,3 – 48,0 %) a limonen (24,3 – 38,1 %). Jak také Dosoky et al. (2019) podotýkají, v případě volatilních látek velmi záleží na místě původu pepře a tím i konkrétním kultivaru *Piper nigrum* L. I z výsledků

této práce je patrné, že rozdíly mezi jednotlivými zeměmi jsou velké. Zpracování pepřových zrn hraje také roli, ale vliv původu je důležitější. To, proč je původ zrn tak důležitý pro obsahové látky, můžeme hledat i v samotné botanice pepře. Existuje totiž mnoho kultivarů *Piper nigrum* L. a často jsou navázány právě na určitou zemi. Příkladem může být kampotský pepř, ten není pojmenován pouze po provincii Kampot v Kambodži, ale zároveň označuje i jeden z kultivarů (Morm et al., 2020). Dosoky et al. (2019) ve své práci porovnávají hned několik kultivarů z Brazílie a Madagaskaru a jak sami uvádějí, rozdíly v obsahu látek jsou ovlivněny geografickými podmínkami. Tuto skutečnost nepřímo potvrzují i již výše uvedené studie, které se sice každá zabývá pouze jedním pepřem, ovšem jiného původu (Brazílie, Madagaskar, Malajsie), a proto se liší jak v obsahu, tak i v pořadí nejvíce zastoupených látek.

Červený pepř se liší nejen obsahem jednotlivých látek, ale také svojí schopností udržet si červenou barvu až do finálního produktu. Prvním předpokladem je nejvyšší zralost čerstvých zrn a jejich sytě červená barva. Oproti tomu na produkci nejběžnějšího černého pepře stačí nezralé či částečně dozralé plody (zelenožluté barvy), na produkci bílého oranžovo-červené zralé plody a pro zelený pepř naopak nedozralé zelené plody (Nelson et Cannon-Eger, 2011). Dalším důležitým krokem k produkci červeného pepře je tepelné ošetření čerstvých plodů ve vroucí vodě po dobu několika minut. To hraje důležitou roli především při inaktivaci polyfenol oxidáz, což jsou enzymy způsobující hnědnutí pepřových zrn během sušení. V tomto případě je to velmi nežádoucí jev. Poté následuje sušení. Morm et al. (2020) provedli studii, ve které se zabývali nejlepším vyvážením doby tepelného ošetření ve vodní lázni a teploty sušení za účelem zachování požadované barvy pepře. Nejvýhodnější kombinací se ukázalo být ponoření zrn do vroucí vody na cca 5 minut a poté sušení při teplotě 55 °C po dobu 8 hodin. Co se týče ponoření do vroucí vody, čas 5 minut se ukázal být vhodný zejména kvůli zamezení degradaci obsahových látek, ke které docházelo při delším pobytu zrn ve vroucí vodě. U sušení byla zkoumána i vyšší teplota (65 °C), ale v tomto případě docházelo k nežádoucí degradaci barvy zrn (zatímco obsah piperinu, flavonoidních a fenolických látek v zrnech není výrazně ovlivněn teplotou sušení) (Morm et al., 2020).

7 Závěr

- Červený pepř je poměrně novou a minimálně prozkoumanou formou pepře. Od ostatních druhů se liší fází zralosti čerstvých plodů a způsobem produkce. Důležitým krokem při výrobě je tepelné ošetření ve vroucí vodě a následné sušení za nepříliš vysoké teploty, to vše za účelem zachování barvy finálního produktu.
- Obsahové látky v pepři jsou závislé jednak na zpracování zrn, ale také na původu pepře. Tato práce analyzovala složení nejen červeného pepře, ale také běžněji dostupnějších variant (černého, bílého a zeleného pepře), a to ze tří zemí (Kambodži, Indie a Thajska). Rozdíly byly patrné jak v rámci zemí, tak i při porovnání stejných produktových forem. Nejvyšší obsah piperinu byl stanoven u bílého kambodžského pepře, nejnižší u bílého indického pepře. Kambodžské pepře obecně měly nižší obsahy flavonoidních látek, nejvyšší obsahy byly naměřeny u indického zeleného pepře. Obsah volatilních látek byl závislý zejména na původu pepře, a to nejen z hlediska hodnot, ale i vzhledem k nejvíce zastoupené látce. Kambodžské pepře byly nejbohatší na β -karyofylen, indické na limonen a thajské na δ^3 -karen.

8 Literatura

- Abderrahim, A., Belhamel, K., Chalard, P., Figu  r  do, G. 2018. Correlation between chemical composition and antioxidant activity of the essential oils from leaves and berries of *Schinus molle* L. growing in two areas of Bejaia (Algeria). *Journal of Food Measurement and Characterization*. 12 (2). 1123–1134. doi: 10.1007/s11694-018-9727-2.
- Abdulazeez, M. A., Sani, I., James, B. D., Abdullahi, A. S. 2016. Chapter 31 - Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Oils. In: V. R. Preedy (Ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. p. 277–285. San Diego. Academic Press. ISBN: 978-0-12-416641-7.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Farooq, S., Ali, M., Khan, M. A. 2012. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (3 SUPPL.). S1945–S1953. doi: 10.1016/S2221-1691(12)60524-3.
- Andriana, Y., Xuan, T. D., Quy, T. N., Tran, H. D., Le, Q. T. 2019. Biological Activities and Chemical Constituents of Essential Oils from *Piper cubeba* Bojer and *Piper nigrum* L. *Molecules*. 24 (10). doi: 10.3390/molecules24101876.
- Arafah, A., Rehman, M. U., Mir, T. M., Wali, A. F., Ali, R., Qamar, W., Khan, R., Ahmad, A., Aga, S. S., Alqahtani, S., Almatroudi, N. M. 2020. Multi-Therapeutic Potential of Naringenin (4',5,7-Trihydroxyflavonone): Experimental Evidence and Mechanisms. *Plants*. 9 (12). 1784. doi: 10.3390/plants9121784.
- Attokaran, M. 2017. *Natural Food Flavors and Colorants*. Chicester, UNITED KINGDOM. John Wiley & Sons, Incorporated. ISBN: 9781119114789. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/techlib-ebooks/detail.action?docID=4778247>
- Aziz, N. S., Sofian- Seng, N., Mohd Razali, N. S., Lim, S. J., Mustapha, W. A. 2019. A review on conventional and biotechnological approaches in white pepper production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99 (6). 2665–2676. doi: 10.1002/jsfa.9481.
- Bagheri, H., Abdul Manap, M. Y. Bin, Solati, Z. 2014. Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO₂ extraction and hydro-distillation. *Talanta*. 121 . 220–228. doi: 10.1016/j.talanta.2014.01.007.
- Bandyopadhyay, C., Narayan, V. S., Variyar, P. S. 1990. Phenolics of Green Pepper Berries (*Piper nigrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38 (8). 1696–1699. doi: 10.1021/jf00098a015.
- Bastos, L. P. H., dos Santos, C. H. C., de Carvalho, M. G., Garcia-Rojas, E. E. 2020. Encapsulation of the black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil by lactoferrin-sodium alginate complex coacervates: Structural characterization and simulated gastrointestinal conditions. *Food Chemistry*. 316 . 126345. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126345.
- Charles, D. J., Charles, D. J. 2012. Black Pepper. In: *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. p. 459–467. Springer New York.
- Corneliu Moraru, A., Ro  ca, I., Cr  ciun, B., Nicolescu, A., Chiriac, A. E., Voicu, V. 2019. INSIGHTS OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PIPERINE EXTRACTED FROM *PIPER NIGRUM* L. *FARMACIA*. 67 . 6. doi: 10.31925/farmacia.2019.6.24.
- Devi, K. P., Malar, D. S., Nabavi, S. F., Sureda, A., Xiao, J., Nabavi, S. M., Daglia, M. 2015. , May 26 Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological Research*. Academic Press.

- Dosoky, N. S., Satyal, P., Barata, L. M., Da Silva, J. K. R., Setzer, W. N. 2019. Volatiles of black pepper fruits (*Piper nigrum* L.). *Molecules*. 24 (23). doi: 10.3390/molecules24234244.
- Ernst, E. 2005. Treatments used in complementary and alternative medicine. In: *Side Effects of Drugs Annual*. Vol. 28. p. 573–586. Elsevier.
- Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., Nikzad, M. 2017. Piperine-The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16 (1). 124–140. doi: 10.1111/1541-4337.12246.
- Gutierrez, R. M. P., Gonzalez, A. M. N., Hoyo-Vadillo, C. 2013. Alkaloids from Piper: A Review of its Phytochemistry and Pharmacology. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. Retrieved from <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/mrmc/2013/00000013/00000002/art00001>
- Harborne, A. 1998. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. London, UK. Chapman and Hall. ISBN: 9780412230509.
- Heckert Bastos, L. P., Vicente, J., Corrêa dos Santos, C. H., Geraldo de Carvalho, M., Garcia-Rojas, E. E. 2020. Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. *Food Hydrocolloids*. 102 . 105605. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105605.
- Imran, M., Rauf, A., Shah, Z. A., Saeed, F., Imran, A., Arshad, M. U., Ahmad, B., Bawazeer, S., Atif, M., Peters, D. G., Mubarak, M. S. 2019. , February 1 Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd.
- International Organization for Standardization 2013. ISO 9235:2013(en), Aromatic natural raw materials — Vocabulary. . Retrieved April 3, 2021, from <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-1:v1:en>
- Jeena, K., Liju, V. B., Umadevi, N. P., Kuttan, R. 2014. Antioxidant, Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Black Pepper Essential Oil (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 17 (1). 1–12. doi: 10.1080/0972060X.2013.831562.
- Kapoor, I. P. S., Singh, B., Singh, G., De Heluani, C. S., De Lampasona, M. P., Catalan, C. A. N. 2009. Chemistry and in vitro antioxidant activity of volatile oil and oleoresins of black pepper (*Piper nigrum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (12). 5358–5364. doi: 10.1021/jf900642x.
- Khandhar, A., Patel, S. G., Zaveri, M., Patel, S., Patel, A. 2010. Chemistry and pharmacology of Piper Longum LArticle in *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol. 5. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/257299404>
- Lee, J. G., Kim, D. W., Shin, Y., Kim, Y. J. 2020. Comparative study of the bioactive compounds, flavours and minerals present in black pepper before and after removing the outer skin. *LWT*. 125 . 109356. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109356.
- Mattonai, M., Watanabe, A., Ribechini, E. 2020. Characterization of volatile and non-volatile fractions of spices using evolved gas analysis and multi-shot analytical pyrolysis. *Microchemical Journal*. 159 . 105321. doi: 10.1016/j.microc.2020.105321.
- Mir, I. A., Tikur, A. B. 2015. Chemopreventive and therapeutic potential of “Naringenin,” a flavanone present in citrus fruits. *Nutrition and Cancer*. 67 (1). 27–42. doi:

10.1080/01635581.2015.976320.

- Möllenbeck, S., König, T., Schreier, P., Schwab, W., Rajaonarivony, J., Ranarivelo, L. 1997. Chemical Composition and Analyses of Enantiomers of Essential Oils from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*. 12 (2). 63–69. doi: 10.1002/(SICI)1099-1026(199703)12:2<63::AID-FFJ614>3.0.CO;2-Z.
- Morm, E., Ma, K., Horn, S., Debaste, F., Haut, B., In, S. 2020. Experimental Characterization of the Drying of Kampot Red Pepper (*Piper nigrum* L.). *Foods*. 9 (11). 1532. doi: 10.3390/foods9111532.
- Myszka, K., Leja, K., Majcher, M. 2019. A current opinion on the antimicrobial importance of popular pepper essential oil and its application in food industry. *Journal of Essential Oil Research*. 31 (1). 1–18. doi: 10.1080/10412905.2018.1511482.
- Myszka, K., Olejnik, A., Majcher, M., Sobieszcańska, N., Grygier, A., Powierska-Czarny, J., Rudzińska, M. 2019. Green pepper essential oil as a biopreservative agent for fish-based products: Antimicrobial and antivirulence activities against *Pseudomonas aeruginosa* KM01. *LWT*. 108 . 6–13. doi: 10.1016/j.lwt.2019.03.047.
- Nelson, S. C., Cannon-Eger, K. T. 2011. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black pepper (*Piper nigrum*). Holualoa, Hawaii. Retrieved from <http://agroforestry.net/scps>
- Orav, A., Stulova, I., Kailas, T., Müürisepp, M. 2004. Effect of Storage on the Essential Oil Composition of *Piper nigrum* L. Fruits of Different Ripening States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (9). 2582–2586. doi: 10.1021/jf030635s.
- Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., Zachariah, T. J. 2008. *Chemistry of Spices*. Wallingford, UNITED KINGDOM. CABI. ISBN: 9781845934200. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/techlib-ebooks/detail.action?docID=353168>
- Patel, A., Macwan, C. 2011. Phytochemical and Therapeutic potential of *Piper longum* Linn : A review Article in *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. Retrieved from www.ijrap.net
- Patel, K., Singh, G. K., Patel, D. K. 2018. , July 1 A Review on Pharmacological and Analytical Aspects of Naringenin. *Chinese Journal of Integrative Medicine*.
- Peter, K. V 2012. *Handbook of Herbs and Spices*. Cambridge, UNITED KINGDOM. Elsevier Science & Technology. ISBN: 9780857095688. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/techlib-ebooks/detail.action?docID=1584602>
- Purseglove, J. W. 1984. *Tropical crops, Dicotyledons*. Harlow, Essex. Longman. p. 719.
- Quijia, C. R., Araujo, V. H., Chorilli, M. 2021. Piperine: Chemical, biological and nanotechnological applications. *Acta Pharmaceutica*. 71 (2). 185–213. doi: 10.2478/acph-2021-0015.
- Ren, J., Lu, Y., Qian, Y., Chen, B., Wu, T., Ji, G. 2019. Recent progress regarding kaempferol for the treatment of various diseases (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*. doi: 10.3892/etm.2019.7886.
- Ríos, J.-L. 2016. Chapter 1 - Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In: V. R. Preedy (Ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. p. 3–10. San Diego. Academic Press. ISBN: 978-0-12-416641-7.
- Salehi, B., Fokou, P. V. T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., Sharifi-Rad, J. 2019. , March 1 The therapeutic potential of naringenin: A review of clinical trials.

Pharmaceuticals. MDPI AG.

- Shaikh, J., Bhosale, R., Singhal, R. 2006. Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chemistry*. 94 (1). 105–110. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.056.
- Singh, S., Kapoor, I. P. S., Singh, G., Schuff, C., De Lampasona, M. P., Catalan, C. A. N. 2013. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potentials of white pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil and oleoresins. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*. 83 (3). 357–366. doi: 10.1007/s40011-012-0148-4.
- Singh, Y. N. 1992. , August 1 Kava: an overview. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier.
- Srinivasan, K. 2007. Black Pepper and its Pungent Principle-Piperine: A Review of Diverse Physiological Effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 47 (8). 735–748. doi: 10.1080/10408390601062054.
- Srinivasan, Krishnapura 2009. Black pepper (*piper nigrum*) and its bioactive compound, piperine. In: *Molecular Targets and Therapeutic Uses of Spices: Modern Uses for Ancient Medicine*. p. 25–64. World Scientific Publishing Co. ISBN: 9789812837912.
- Státní zemědělská a potravinářská inspekce (n.d.) Státní zemědělská a potravinářská inspekce | Ministerstvo zakázalo léčiva z rostliny Kava-Kava. . Retrieved February 17, 2021, from <https://www.szpi.gov.cz/clanek/ministerstvo-zakazalo-leciva-z-rostliny-kava-kava.aspx>
- Toma, Z. 2010. Antimicrobial Activity of Piperine purified from *piper nigrum* *Journal of Basrah Researches*. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/311645025>
- Turrini, E., Sestili, P., Fimognari, C. 2020. , November 26 Overview of the Anticancer Potential of the “King of Spices” *Piper nigrum* and Its Main Constituent Piperine. *Toxins*. NLM (Medline).
- Variyar, P. S., Pendharkar, M. B., Banerjee, A., Bandyopadhyay, C. 1988. Blackening in green pepper berries. *Phytochemistry*. 27 (3). 715–717. doi: 10.1016/0031-9422(88)84081-0.
- Vijayakumar, R. S., Surya, D., Nalini, N. 2004. Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Report*. 9 (2). 105–110. doi: 10.1179/135100004225004742.
- Wang, X., Yang, Y., An, Y., Fang, G. 2019. , September 1 The mechanism of anticancer action and potential clinical use of kaempferol in the treatment of breast cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS.
- Wijesekera, R. O. B., Senanayake, U. M., Yewardene, A. L. 1972. Methods for the quality control of spice oleoresins. I. The oleoresin of pepper. . 133–136. Retrieved from http://192.248.98.23:8080/jspui/bitstream/123456789/956/1/ITIREPORT021_R203376.pdf
- Wongpa, S., Himakoun, L., Soontornchai, S., Temcharoen, P. 2007. Antimutagenic Effects of Piperine on Cyclophosphamide-induced Chromosome Aberrations in Rat Bone Marrow Cells. *ASIAN PACIFIC JOURNAL OF CANCER PREVENTION*. 8 (4). 623–627.
- Yadav, V., Krishnan, A., Vohora, D. 2020. , January 30 A systematic review on *Piper longum* L.: Bridging traditional knowledge and pharmacological evidence for future translational research. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier Ireland Ltd.
- Yoo, E. S., Choo, G. S., Kim, S. H., Woo, J. S., Kim, H. J., Park, Y. S., Kim, B. S. O. O., Kim, S. K., Park, B. K., Cho, S. D., Nam, J. S., Choi, C. S., Che, J. H., Jung, J. Y. 2019. Antitumor and Apoptosis-inducing Effects of Piperine on Human Melanoma Cells.

- Anticancer Research. 39 (4). 1883–1892. doi: 10.21873/anticancer.13296.
- Zaidun, N. H., Thent, Z. C., Latiff, A. A. 2018. , September 1 Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. Life Sciences. Elsevier Inc.
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y., Sayari, A. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. LWT - Food Science and Technology. 50 (2). 634–641. doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.036.
- Zhang, C., Zhao, J., Famous, E., Pan, S., Peng, X., Tian, J. 2021. Antioxidant, hepatoprotective and antifungal activities of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. Food Chemistry. 346 . 128845. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128845.

9 Seznam použitých zkratk a symbolů

AChE	Acetylcholinesteráza
CVD	Kardiovaskulární onemocnění
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HPLC	Kapalinová chromatografie
MAP kináza	Mitogenem aktivovaná protein kináza
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
Obr.	Obrázek
SD	Směrodatná odchylka
Tab.	Tabulka