

# Hodnocení analytických ukazatelů u zázvoru a křenu

Bc. Leoš Podsedník

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Leoš Podsedník**  
Osobní číslo: **T11128**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Hodnocení analytických ukazatelů u zázvoru a křenu**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika křenu, chemické složení, vlastnosti a využití
2. Charakteristika zázvoru, chemické složení, vlastnosti a využití
3. Přehled analytických ukazatelů a metody jejich stanovení

### II. Praktická část

1. Stanovení sušiny, refraktometrické sušiny, celkového obsahu kyselin a hrubé vlákniny ve vzorcích křenu a zázvoru
2. Stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolů v křenu, zázvoru a vybraných produktech

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5  
[2] MCKENNA, D., KENNETH, J. *Botanical medicines: The desk reference for major herbal supplements*. 2. vyd. Binghampton: Roudledge, 2012. 1168 s. ISBN 0789012650 [3] STOILOVA, I., KRASTANOV, A., STOYANOVA, A. Antioxidant activity of ginger extract. *Food Chemistry*. 2007, 102, 764-770.  
[4] GHASEMZADEH, A., HAWA, Z., JAAFAR, E., RAHMAT, A. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*. 2010, 15, 4324-4333.  
[5] CADENAS, E., PACKER, L. *Handbook of antioxidants*. 2. vyd. New York: Dekker, 2001. 712 s. ISBN 0824745108

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**  
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: PODSEDNÍK LEBS

Obor: THEVP

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 28.4.2013

  
.....

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

V teoretické části diplomové práce je charakterizován zázvor (*Zingiber officinale Roscoe*) a křen (*Armoracia rusticana*), jejich chemické složení, antioxidační a antimikrobiální vlastnosti a využití. Také byly popsány metody stanovení vybraných analytických ukazatelů. Experimentální část je zaměřena na stanovení sušiny, hrubé vlákniny, titrační kyselosti, refraktometrické sušiny, antioxidační aktivity, celkového obsahu polyfenolů a jednotlivých fenolů v křenu a zázvoru technikou HPLC/UV.

Klíčová slova: zázvor, křen, antioxidační aktivita, polyfenoly, HPLC/UV

## **ABSTRACT**

The theoretical part of the thesis deals with characterization of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and horseradish (*Armoracia rusticana*), their chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties and use. Selected analytical methods are also described. The experimental part is focused on the determination of dry matter, crude fiber, total acids, refractive index, antioxidant activity, total polyphenolic content and phenols in horseradish and ginger using HPLC/UV method.

Keywords: ginger, horseradish, antioxidant activity, polyphenols, HPLC/UV

Rád bych především poděkoval své vedoucí diplomové práce Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady, které mi poskytla při zpracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat laborantkám Ing. Lence Fojtíkové a Lence Škubalové za jejich pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 ZÁZVOR</b> .....	<b>12</b>
1.1 FYZIOLOGIE, PĚSTOVÁNÍ A SBĚR ZÁZVORU.....	12
1.2 HISTORIE A TRADIČNÍ VYUŽITÍ ZÁZVORU .....	14
1.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ZÁZVORU .....	15
1.3.1 Antioxidační aktivita zázvoru.....	18
1.3.2 Antimikrobiální účinky zázvoru .....	20
1.4 VYUŽITÍ ZÁZVORU .....	21
<b>2 KŘEN</b> .....	<b>24</b>
2.1 PĚSTOVÁNÍ A SBĚR KŘENU.....	25
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KŘENU .....	25
2.3 ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI KŘENU .....	28
2.4 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA KŘENU.....	29
2.5 VYUŽITÍ KŘENU .....	30
<b>3 METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH ANALYTICKÝCH UKAZATELŮ</b> ..	<b>32</b>
3.1 METODY STANOVENÍ OBSAHU VODY A SUŠINY VE VZORCÍCH.....	32
3.2 STANOVENÍ REFRAKTOMETRICKÉ SUŠINY .....	32
3.3 METODY STANOVENÍ HRUBÉ VLÁKNINY.....	33
3.3.1 Stanovení hrubé vlákniny podle Henneberga a Stohmanna .....	33
3.4 METODY PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	34
3.4.1 Metoda za použití DPPH .....	34
3.5 METODY PRO STANOVENÍ OBSAHU POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	35
3.5.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla .....	35
3.5.2 Stanovení polyfenolů metodou HPLC .....	36
<b>4 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>41</b>
<b>5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>42</b>
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	44
5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY .....	44
<b>6 METODIKA STANOVENÍ</b> .....	<b>46</b>
6.1 STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY.....	46
6.2 STANOVENÍ OBSAHU REFRAKTOMETRICKÉ SUŠINY .....	46
6.3 STANOVENÍ HRUBÉ VLÁKNINY.....	46
6.4 STANOVENÍ TITRAČNÍ KYSELOSTI .....	48
6.5 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY VZORKŮ METODOU DPPH .....	48
6.5.1 Příprava výluhů pro stanovení antioxidační aktivity.....	48
6.5.2 Optimalizace a stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	49
6.5.3 Kalibrační křivka kyseliny askorbové .....	50



6.6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ ZA POUŽITÍ FOLIN-CIOCALTEUOVA ČINIDLA .....	51
6.6.1	Příprava výluhů pro stanovení celkového obsahu polyfenolů .....	51
6.6.2	Optimalizace a stanovení celkového obsahu polyfenolů.....	51
6.6.3	Kalibrační křivka kyseliny gallové .....	52
6.7	STANOVENÍ FENOLŮ ZA POUŽITÍ METODY HPLC .....	52
6.7.1	Příprava výluhů pro stanovení fenolů pomocí HPLC .....	53
6.7.2	Stanovení kalibračních křivek standardů.....	53
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>54</b>
7.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ ZÁZVORU .....	54
7.1.1	Stanovení sušiny zázvoru .....	54
7.1.2	Stanovení refraktometrické sušiny zázvoru.....	55
7.1.3	Stanovení obsahu hrubé vlákniny zázvoru .....	56
7.1.4	Stanovení titrační kyselosti zázvoru.....	57
7.1.5	Stanovení antioxidační aktivity zázvoru metodou DPPH .....	58
7.1.6	Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla .....	61
7.1.7	Stanovení jednotlivých fenolů v zázvoru pomocí HPLC/UV .....	64
7.1.7.1	Kalibrační křivka rutinu .....	64
7.1.7.2	Kalibrační křivka kyseliny gallové .....	65
7.1.7.3	Kalibrační křivka kyseliny sinapové .....	66
7.1.7.4	Kalibrační křivka kyseliny ferulové.....	68
7.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ KŘENU .....	71
7.2.1	Stanovení sušiny křenu.....	71
7.2.2	Stanovení obsahu hrubé vlákniny křenu.....	72
7.2.3	Stanovení titrační kyselosti křenu .....	73
7.2.4	Stanovení antioxidační aktivity křenu metodou DPPH.....	74
7.2.5	Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla .....	76
7.2.6	Stanovení jednotlivých fenolů v křenu pomocí HPLC/UV .....	77
7.3	POROVNÁNÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ ZÁZVORU A KŘENU .....	78
7.3.1	Porovnání obsahu hrubé vlákniny v nativních vzorcích zázvoru a křenu ....	78
7.3.2	Porovnání antioxidační aktivity nativních vzorků zázvoru a křenu.....	79
7.3.3	Porovnání celkového obsahu polyfenolů nativních vzorků zázvoru a křenu .....	80
	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>82</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>84</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>91</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>92</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>93</b>

## ÚVOD

Zázvor pravý (*Zingiber officinale Roscoe*) a křen selský (*Armoracia rusticana*) jsou rostliny, které jsou lidstvu známy již dlouhá staletí. Díky svým pozitivním vlivům na lidské zdraví a široké škále využití se v minulosti rozšířili po celém světě a jsou pěstovány všude tam, kde přírodní podmínky umožňují jejich kultivaci.

Zázvor je užíván v lidovém léčitelství již po staletí, zejména v oblastech Číny a Indie. Nejčastěji bývá aplikován při léčbě onemocnění trávicího ústrojí. Je ceněn pro své antibakteriální účinky a specifickou chuť. Zázvor lze nalézt v mnoha konzumovatelných formách, nejčastěji se uplatňuje jako součást koření, čajů nebo limonád.

Křen se rozšířil z jihovýchodní Evropy a nyní je pěstován prakticky po celém světě. Je ceněn pro svou charakteristickou štiplavou chuť a je zpravidla podáván k masu. Vykazuje protizánětlivé a antimikrobiální působení a je proto hojně využíván v lidovém léčitelství. V současnosti nachází uplatnění i při průmyslové výrobě peroxidázy.

Zázvor a křen jsou ceněny pro obsah důležitých látek, zvláště vitamínu C, kde některé literární zdroje uvádí obsah vitamínu C v křenu až 302 mg/100 g jedlého podílu. Obsahují také látky polyfenolické povahy, které jsou významnými antioxidanty a napomáhají tělu člověka v boji s volnými radikály, které jsou považovány za jednu z hlavních příčin vzniku nádorového onemocnění.

Zázvor obsahuje unikátní látky skupiny gingerolů, které jsou zodpovědné za charakteristické aroma a chuť, které v průběhu skladování a zpracování podléhají chemickým změnám.

Specifikum křenu je přítomnost látek glukosinolátů, ze kterých v průběhu zpracování vznikají štiplavé sloučeniny thiokyanáty a isothiokyanáty, které jsou považovány za fytoncidní látky, vykazující antibiotické účinky.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 ZÁZVOR

Vědecký název pro rostlinu zázvoru je *Zingiber officinale Roscoe*, náležící do čeledi *Zingiberaceae* (zázvorovité). Běžný název v anglicky mluvících zemích je „ginger“, v Německu „ingwer“, ve Francii „gingembre“, v Číně „shen jiang“, v Japonsku „shokyo“ a v Indii „adrak“. Výraz *Zingiber* pro označení zázvoru je odvozený od sanskrtského výrazu pro popis útvaru připomínající roh [1].

Čeď zázvorovité lze charakterizovat jako mohutné vytrvalé byliny, které tvoří oddenky nebo hlízy. Společným znakem je také tvorba kopinatých listů s pochvou. Významnou charakteristikou rostlin čeledi *Zingiberaceae* je přítomnost specializovaných buněk tzv. idioblastů. Idioblast může být charakterizován jako buňka, která se liší tvarem, velikostí a obsahem látek, které jsou v nich přítomné. Zpravidla se zde hromadí specifické látky jako například silice, alkaloidy, třísloviny a pryskyřice. Protože jsou tyto látky často z idioblastů vylučovány, jsou idioblasty řazeny mezi vyměšovací pletiva. Mezi další významné složky, přítomné v idioblastech, mohou být zařazena škrobová zrna a krystalky šťavelanu vápenatého. Množství idioblastů v tkáních rostlin je velmi malé [2, 3].

Mezi nejvýznamnější zástupce čeledi zázvorovitých patří *Curcuma longa* (kurkuma dlouhá), *Zingiber officinale* (zázvor lékařský), *Alpinia galanga* (galgán obecný), *Elletaria cardamomum* (kardamon obecný) [2].

### 1.1 Fyziologie, pěstování a sběr zázvoru

Předpokládá se, že původní oblastí výskytu zázvoru jsou pobřežní oblasti Indie. Postupně zdomácněl a byl šlechtěn v oblastech Číny, Jamajky, Afriky a západní Indie. Nyní je pěstován v tropických oblastech výše zmíněných zemí včetně Indonésie a Austrálie [1].

Jedná se o vytrvalou tropickou rostlinu se silným hlíznatým oddenkem, který je mohutně větvený. Povrch oddenku je šedý, hmota uvnitř oddenku je světle žlutá. Chuť zázvoru je typická, palčivá. Ve velkých dávkách může být chuť zázvoru vnímána jako hořká. Vůně čerstvého zázvoru je bohatá, kořeněná s výrazným citronovo-květinovým podtónem. Obrázek oddenku zázvoru je uveden na Obr. 1. [4].

Charakteristické pro rostlinu zázvoru je každoroční tvorba nových výhonků s jednoduchými, střídavě postavenými kopinatými listy. Zázvor tvoří zeleno-fialové květy, které tvoří jedna plodová ty-

činka. Plodem, který údajně nikdy nedozrává, je trojpouzdrá mnohosemenná tobolka. Není známo, že by zázvor existoval v planém stavu [1, 5].

Zázvor snáší částečně zastíněné stanoviště. Zpravidla bývá pěstován v nižších nadmořských výškách, avšak v určitých oblastech bývá pěstován i ve výškách přesahující 1000 m.n.m. Vyžaduje hlubokou, dobře vyžralou vlhkou půdu, nejlépe s obsahem hnojiv. Pro zázvor není vhodná půda s vysokým obsahem vápníku. Teplotní optimum růstu je v rozmezí 25 – 30 °C a srážkový úhrn 2500 – 3000 mm za rok [4, 6].

Rostlina se rozmnožuje pomocí čerstvých oddenků, na kterých jsou klíčky. Při sadbě zázvoru je velmi důležitá teplota půdy, která by měla mít kolem 25 °C. Zázvor je vysazován zpravidla do řádků tak, aby vzdálenost mezi jednotlivými rostlinami byla 15 - 30 cm a šířka mezi řádky byla 25 - 50 cm. Pro osázení 1 hektaru půdy je třeba přibližně 4 – 10 tun sadby. Délka vegetace je přibližně 280 dní. Zázvor není vysazován na stejnou plochu opakovaně, ale je volen postup, kdy se plodiny na osevní ploše střídají. Zázvor bývá vysazován jednou za 3 – 4 roky. Zpravidla bývá vysazován po banánovníku, sóji, chilli, cukrové třtině nebo jiných druzích zeleniny. Oddenky mohou být sklizeny jak ručně, tak i mechanizovaně, kde průměrný výnos sušených oddenků na jeden hektar je v 2 – 10 tun. Celkový výnos je závislý na odrůdě [4].



*Obr. 1. Rostlina a oddenek (vpravo) zázvoru [4]*

Pěstování zázvoru v našich klimatických podmínkách je možné, avšak pouze ve sklenících s termostatem. Nejdůležitější aspekty pěstování, které je nutno dodržet, jsou teplota nad 25 °C, vysoká relativní vlhkost vzduchu a dostatečná zálivka [4].

V minulosti byla největším světovým producentem zázvoru Čína. Současným největším světovým producentem zázvoru je Indie s 30 % celosvětové produkce. Čína s aktuálním podílem 20,5 % na celosvětové produkci zaujímá druhou příčku. Dalšími významnými producenty jsou Indonésie (12,7 %), Nepál (11,5 %) a Nigérie s 10 % celosvětové produkce [7].

## 1.2 Historie a tradiční využití zázvoru

Zázvor byl pěstován, šlechtěn a využíván Číňany již před rokem 400 př. n. l. Je ceněný po celém světě zejména pro své aroma. Především je využíván jako koření do jídel. Tradičně byl používán v lidovém léčitelství k léčení zažívacích potíží, nadýmání, průjmu, malárie, horečky a spoustě dalších zdravotních problémů. V tradiční arabské medicíně našel oddenek zázvoru uplatnění při léčbě sexuálních onemocnění a také jako afrodiziakum. V tradiční čínské medicíně je zázvor používán k detoxikaci těla a při potížích s trávicí soustavou. V některých zemích východní Afriky je zázvor nezbytný k vykonání náboženských a svatebních obřadů [6, 8].

Již ve 2. století n.l. byl na dovoz zázvoru do římského impéria, jako na jednu z mála komodit, uvalena povinnost platit daně za dovoz. V průběhu středověku byl zázvor jednou z privilegovaných komodit, se kterou mohlo být obchodováno [6].

V průběhu 13. a 14. století byl zázvor společně s pepřem jedním z nejcennějších koření, kde hmotnost 1 libry zázvoru byla rovna jedné ovci. V této době byly italským obchodníkům známy 3 druhy zázvoru: *belledi*, *colombino* a *micchino*. Označení *Belledi* vychází nejspíše z arabského jazyka, kde znamená slovo „země“ a pravděpodobně se jednalo o běžný zázvor. *Colombino* bylo odvozeno ze starověkého názvu pro přístavní město Columbum, které se nachází v malém svazovém státě Kérala v jihovýchodní Indii. *Micchino* nejspíše poukazuje na zázvor přivezený z města Mecca, které se nachází na malabarském pobřeží, táhnoucím se po západním cípu indického subkontinentu [6].

V literatuře mohou být nalezeny i zmínky o tzv. „zeleném zázvoru“. Jednalo se o zázvor naložený v cukru, který byl hojně dovážen v období středověku do západních zemí. Byl považován za pochoutku [6].

Za dob Jindřicha VIII. byl zázvor doporučován jako ochrana před morem. V této době se také stal populárním zázvorový perník (angl. gingerbread), který si oblíbila i královna Alžběta I. a její dvůr. Historie vzniku zázvorového perníku sahá až do let 2400 př. n. l., kdy pekař na ostrově Rhodos nejspíše upekl první perník, odkud se rozšířil až do Egypta, kde jej podávali při ceremoniálech [6].

### 1.3 Chemické složení zázvoru

Základní údaje o chemickém složení sušeného zázvoru jsou uvedeny v Tab. 1. V průměru obsahuje zázvor 80 – 90 % vody. Další nejvíce zastoupenou složkou jsou sacharidy, které tvoří podstatnou část sušiny zázvoru. Nejdůležitější sacharidy přítomné v oddenku zázvoru jsou škrob a slizy. Byl zjištěn i obsah pentózanů (7,6 %) a v malém množství je přítomná i arabinóza, fruktóza, glukóza a sacharóza. Byly zjištěny i stopy rafinózy [9].

Tab. 1. Průměrné chemické složení sušeného zázvoru [10]

Složka	Obsah [%]	Složka	Obsah [mg/100 g]
Vlhkost	6,37	Sodík	5
Popel	6,3	Vápník	25,76
Hrubá bílkovina	8,58	Fosfor	12,56
Lipidy	5,35	Měď	0,001
Hrubá vláknina	3,25	Draslík	215
Sacharidy	68,15	Hořčík	5
Flavonoidy	6,38	Zinek	0,04
Taniny	3,54	Karotenoidy	0,00064

Zázvor obsahuje malé množství volných aminokyselin. Průměrné množství bílkovin v sušině zázvoru je 9 – 12 %. Bílkovina zázvoru je v průměru složena z 35,6 % albuminů, 17,9 % gluteninů, 16,9 % globulinů a 11 % prolaminů. Bílkoviny zázvoru jsou velmi bohaté na prolin a threonin [9].

Mezi nejdůležitější chemické složky zázvoru patří tzv. „štiplavé zásady“ gingeroly a shogaoly, které zázvoru udávají specifické aroma a jsou složkou silic a oleoresinů. Celková kvalita a obsah látek závisí na kultivaru a na podmínkách pěstování [5, 8, 11].

Čerstvý zázvor obsahuje průměrně 1-3 % silic a mnoho sloučenin, které způsobují štiplavou chuť. Nejvíce zastoupenou skupinou těchto látek jsou gingeroly, které se vyskytují v několika formách, nejvíce zastoupené jsou: 6-gingerol, 8-gingerol a 10-gingerol. Průměrné zastoupení jednotlivých

forem v čerstvém zázvoru je u 6-gingerolu 74%, u 8-gingerolu 11% a u 10-gingerolu 15%. Obecný vzorec gingerolů je uveden na Obr. 2. (n udává počet skupin CH<sub>2</sub>). V případě 6-gingerolu je n=4, molekula 8-gingerolu má n=6 a poslední z řady, 10-gingerol má počet methylových skupin 8. Po chemické stránce se jedná o fenolové alkanony, kde nejpálivější zástupce je 6-gingerol. Ostatní zástupci jsou přibližně 4x až 15x méně páliví [11, 12].

Složení silic a oleoresinů v zázvoru je proměnlivé a je závislé zejména na odrůdě. V Tab. 2. jsou uvedeny různé odrůdy zázvoru a jejich obsahy 6-gingerolu [9, 13].

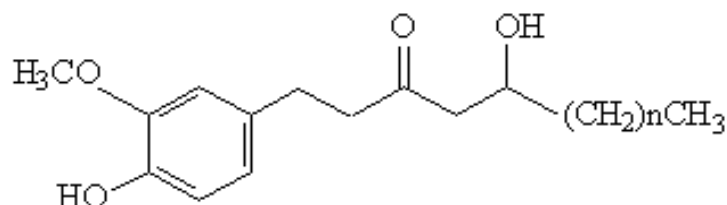
Tab. 2. Obsah 6-gingerolu v různých odrůdách zázvoru [g/100 g sušiny] [13]

Odrůda zázvoru	Obsah 6- gingerolu [g/100 g sušiny]
Rio	0,208
Rajasthan	0,208
Uttar Pradesh	0,174
Maran	0,173
Chhattisgarh	0,174
Assam	0,184
Sagar	0,197
Wynad	0,142
Nadia	0,155
Udaipur	0,117
Himachal Pradesh	0,125
Satara	0,165

Jelikož se zázvor používá zejména jako koření pro přípravu pokrmů pro lidskou potřebu, dochází k jeho tepelnému opracování, které iniciuje degradační reakce, vedoucí ke vzniku zingeronu z gingerolů, za uvolnění odpovídajících alkylů, kteří jsou zodpovědní za vznik pachutí. Degradační reakcí je retroaldolizace. Pokud dochází pouze k dehydrataci gingerolů, vznikají shogaoly. Tato reakce se uplatňuje již při skladování čerstvého zázvoru. Vznikající shogaoly jsou 2-60x méně páli-

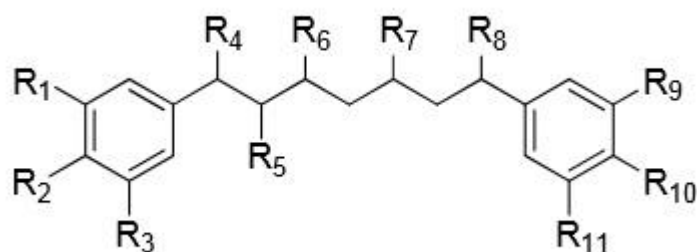


vé nežli gingeroly. V sušeném zázvoru je převládající složkou 6-shogaol, vznikající dehydratační reakcí z 6-gingerolu, oproti tomu se v čerstvém zázvoru 6-shogaol vyskytuje jen ve velmi malém množství [8, 11, 12].



Obr. 2. Obecný vzorec gingerolů

Další významnou skupinou látek, která se přirozeně vyskytuje v oddenku zázvoru, jsou diarylheptanoidy. Sloučeniny skupiny diarylheptanoidů mohou být specifikovány jako sloučeniny složené ze dvou aromatických kruhů, které jsou odděleny sedmi uhlíky a mají různé substituenty. Nejznámějším zástupcem je kurkumin. Chemická struktura diarylheptanoidů je uvedena na Obr. 3. [14].



Obr. 3. Chemická struktura diarylheptanoidů

Jedná se o skupinu látek, která vykazuje protizánětlivé, antioxidační, protinádorové, estrogení, melanogenní, hepatoprotektivní a neuroprotektivní účinky v lidském těle. Nacházejí se zejména v rostlinách zázvoru, kurkumy a galgánu. První diarylheptanoid byl izolován v roce 1815 a v současnosti je známo přes 400 druhů diarylheptanoidů, které byly izolovány z přírodních zdrojů [14].

Dále bylo zjištěno, že při skladování dochází postupně ke konverzi geranyl acetátu na geraniol až geranial, následované hydrolýzou a oxidací. Až 60 % obsaženého geranyl acetátu je po 3 měsíčním

skladování oxidováno. Bylo zjištěno, že při sušení zázvoru klesá obsah monoterpenů za současného zvýšení obsahu seskviterpenů [9].

### 1.3.1 Antioxidační aktivita zázvoru

Skupina sloučenin, nazývaná jako antioxidanty, mohou být definovány jako látky, které již ve velmi nízkých koncentracích ve srovnání s koncentrací oxidovatelného substrátu, zpomalují nebo zcela inhibují oxidaci substrátu. Fyziologická role antioxidantů je zabránit poškození buněk, ke kterému by mohlo dojít v důsledku působení volných radikálů [15].

V posledních letech bylo zjištěno mnoho důkazů, že volné radikály hrají důležitou roli při vzniku mnoha nemocí, jako například aterosklerózy, chronického selhání ledvin a diabetes mellitus [16].

Volné radikály mohou vznikat přímo v organismu různými pochody, jako například enzymatickými pochody, autooxidačními reakcemi nebo mohou uniknout z mitochondrií. Mezi nejdůležitější exogenní zdroje volných radikálů patří cigaretový kouř, znečišťující látky, xenobiotika a ionizační záření ( $\gamma$  záření a rentgenové záření). Působení volných radikálů v organismu člověka vede k poškození tkání [15, 17].

Antioxidanty podle jejich povahy a mechanismu účinku na inhibici volných radikálů jsou rozdělovány do několika skupin a to na antioxidační enzymy, antioxidanty přerušující řetězovou reakci a proteiny vázající přechodné kovy [18].

Antioxidanty přerušující řetězovou reakci jsou molekuly, které mohou přijímat elektrony z radikálu nebo odevzdávat elektrony radikálu, za současně tvorby stabilních vedlejších produktů. Tato skupina látek může být rozdělena podle povahy prostředí, ve kterém působí na lipofilní a hydrofilní antioxidanty [18].

Lipofilní antioxidanty jsou rozhodující složkou v prevenci oxidace lipidů. Nejdůležitější antioxidant této skupiny je vitamin E. Karotenoidy jsou dalšími zástupci lipofilních antioxidantů. Známo je přes 20 různých druhů, k nejvýznamnějším patří  $\beta$ -karoten [16].

Nejdůležitější antioxidant, inhibující radikály ve vodním prostředí, je vitamin C, neboli kyselina L-askorbová [16].

Další velkou skupinou antioxidantů jsou flavonoidy. Jedná se o velmi širokou skupinu fenolických látek, kterých je známo přes 4000. Jsou obsaženy v mnoha druzích ovoce, zeleniny a nápojích jako je čaj a káva. Jelikož se jedná o širokou skupinu sloučenin s rozdílnou strukturou, bývají rozděleny do mnoha podskupin na základě společných rysů. Jedná se například o flavanoly, flavony, katechiny, flavanony a isoflavonoidy [19].

Mezi nejdůležitější antioxidanty přítomné v zázvoru patří kyselina askorbová, terpenoidy, alkaloidy, flavonoidy, flavony, flavonové glykosidy, rutin a v menší míře  $\beta$ -karoten. Největší obsah flavonoidů i celkových polyfenolů byl zjištěn v listech rostliny, které ovšem nejsou konzumovány. Obsah polyfenolických látek v kořenu zázvoru byl nižší než v listech, ale nejnižší obsah celkových polyfenolů i flavonoidů byl zjištěn ve stonku. Antioxidační aktivita kořene a listů zázvoru se významně nelišila. Nejnižší antioxidační aktivita byla pozorována ve stoncích zázvoru [20].

Bylo dokázáno (pomocí metody DPPH), že délka alkylového řetězce nemá významný vliv na antioxidační aktivitu gingerolů, shogaoly vykazovaly mírně vyšší antioxidační aktivitu. I metodou OSI (oil stability index) bylo taktéž zjištěno, že délka alkylového řetězce nemá zásadní vliv na antioxidační aktivitu, a že shogaoly mají výrazně vyšší antioxidační aktivitu než jejich prekurzory (gingeroly). Ze studie vyplynulo, že na antioxidační aktivitu mají vliv zejména substituenty na alkylovém řetězci, nežli jeho délka [21].

Puengphian a Sirichote [22] zkoumali antioxidační aktivitu gingerolů, zejména vliv sušení na obsah 6-gingerolu v zázvoru a jeho antioxidační aktivitu. Vzhledem k faktu, že značná část zázvoru je konzumována v sušeném stavu jako součást koření je sledování změn v průběhu sušení důležité. Bylo zjištěno, že zázvor, který byl sušen při teplotě 55 °C po dobu 11 hodin, vykazoval nižší obsah 6-gingerolu. Jeho obsah klesl z 21,15 mg/g sušiny zázvoru na 18,81 mg/g sušiny zázvoru. Také bylo zjištěno, že antioxidační aktivita a obsah polyfenolů byl vyšší u sušeného zázvoru, než u čerstvého vzorku. Jak bylo popsáno výše, a jak uvádí Puengphian a Sirichote dochází v průběhu sušení k rozkladu gingerolů na shogaoly případně zingerony, které vykazují vyšší antioxidační aktivitu [22].

Navzdory vyšší antioxidační aktivitě v sušeném zázvoru dochází v průběhu jeho sušení ke změnám, které nepříznivě ovlivňují senzoričnou jakost výrobku. Dochází ke změně barvy v důsledku Millardových reakcí. Vznikají látky, které udávají sušenému zázvoru pachů, a také se snižuje štiplavost chuti, která je dána zejména množstvím 6-gingerolu. Množství 6-gingerolu se v průběhu sušení snižuje. Kim Min-Hee a kol. [23] testovali různé varianty dehydratace zázvoru. Bylo vyzkoušeno konvenční sušení horkým vzduchem, sublimační sušení a dehydratace za pomoci maltodextrinu. Bylo zjištěno, že dehydratace za použití 80 % maltodextrinu byla ve srovnání s ostatními metodami nejšetnější, byl zachován nejvyšší obsah 6-gingerolu, došlo k nejmenšímu ovlivnění barvy a senzoričká zkouška v parametrech barva, vůně, textura, vzhled a celkové hodnocení bylo nejlépe hodnoceno u vzorků dehydratovaných pomocí maltodextrinu [23].

V Tab. 3. je uvedeno porovnání několika druhů zeleniny a aromatických rostlin a jejich antioxidační aktivita (AA) zjištěná metodou ORAC a vyjádřená jako  $\mu\text{mol}$  ekvivalentu trolox na 100 g čerstvé hmoty [24].

*Tab. 3. Antioxidační aktivita vybraných druhů zeleniny a aromatických bylin [24]*

Rostlina	Antioxidační aktivita [ $\mu\text{mol}$ /100 g]
Zázvor	14840,2
Koriandr	5141,3*
Česnek	5346
Cibule	342
Červené chilli	509
Rajče	697
Majoránka	27297,2*
Tymián	27425,5*
Špenát	2732
Zelí	2050

*\*Vyjádřeno na 100 g sušiny aromatické byliny*

### 1.3.2 Antimikrobiální účinky zázvoru

Zázvor je znám pro své pozitivní účinky na lidské zdraví. Je využíván po dlouhou dobu v lidovém léčitelství i moderní medicíně. Bylo provedeno mnoho studií, které zkoumali vliv látek obsažených v zázvoru na různé mikroorganismy [25].

Zázvor, stejně jako některé jiné rostliny (česnek, koriandr, pepř) vykazuje antimikrobiální účinky i proti rezistentním kmenům bakterií, které způsobují průjemová onemocnění, proto by užití jejich extraktů mohlo být použito k léčbě těchto onemocnění. Bylo však by nutno zjistit jejich případnou toxicitu, vedlejší účinky a farmokinetické účinky. Je známo, že vysoké dávky zázvoru mohou způsobit žaludeční potíže [26].

Ve studii provedené Parkem a Baem [25] byl zkoumán vliv 10-gingerolu a 12-gingerolu na bakterie, které způsobují onemocnění dásní a dutiny ústní. Jednalo se o bakterie rodu *Porphyromonas* a *Prevotella*. Bylo zjištěno, že 10-gingerol a 12-gingerol v koncentracích 6 – 30 µg/ml inhibovaly výše zmíněné bakterie [25].

Antimikrobiální účinky silic a oleoresinů izolovaných ze zázvoru v různých rozpouštědlech byly zkoumány Singh a kol. [27]. Silice a oleoresiny byly extrahovány v rozličných rozpouštědlech (ethanol, methanol, CCl<sub>4</sub>, isooktan). Kultivace probíhala na agarovém médiu. Antimikrobiální účinky byly srovnávány s některými antibiotiky (streptomycin a chloramfenykol). Byly zjišťovány fungicidní (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus solani*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* a *Fusarium moniliforme*) a bakteriocidní účinky (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*). Bylo zjištěno, že zázvorové silice a oleoresiny vykazují střední až dobré fungicidní vlastnosti na použité plísně s výjimkou *Aspergillus niger*, který byl vůči nižším dávkám oleoresinů odolný. Při studiu bakteriocidních účinků bylo zjištěno, že *Escherichia coli* byla zcela rezistentní na silice i oleoresiny. Výsledkem studie bylo zjištění, že bakteriocidní účinky silic jsou srovnatelné s bakteriocidními účinky streptomycinu a jsou účinnější než chloramfenykol. Bylo zjištěno, že oleoresiny vykazují nižší bakteriocidní účinky než silice. Antimikrobiální účinky jsou způsobeny zastoupením mnoha fenolických sloučenin (eugenoly, shoagoly, zingerony, gingerdioly, gingeroly), které působí synergicky [27].

Bylo zjištěno, že gingeroly, které jsou obsaženy zejména v čerstvém zázvoru, jsou *in vitro* účinné i proti bakterii *Helicobacter pylori*, která je původcem vzniku žaludečních vředů [28].

## 1.4 Využití zázvoru

Kořen zázvoru bývá používán při mírnění křečí a nevolnosti. Jeho účinnost byla sledována v několika studiích a bylo prokázáno, že má účinky podobné léku metoklopramid. Orální podávání zázvoru také zvyšuje sekreci slin, žaludečních šťáv, produkci žluči a v neposlední řadě zlepšuje střevní peristaltiku. Podávání zázvoru je kontraindikováno u pacientů trpících žlučovými kameny [28].

Zázvor ve formě prášku je součástí některých přírodních prostředků, které jsou určeny k potlačení žaludeční nevolnosti, zejména při cestování dopravními prostředky. Výhodou zázvorového preparátu je, že nezpůsobuje ospalost, a tudíž je vhodný i pro řidiče [28].

Zevní aplikace bývá užívána při zánětech kloubů. V současnosti je kořen zázvoru ve zpracované formě součástí až 51 % všech léčebných přípravků na bázi bylin používané v čínské medicíně. Oficiálně je zázvor užíván při léčbě průjemových onemocnění, bolestí břicha, zvracení, abnormálního děložního krvácení, kašle a dušnosti. Dnes nachází uplatnění i při výrobě alkoholických a nealkoholických nápojů a zaujímá v ohledu světově používaných koření společně s kurkumou významnou roli [2, 5].

Běžnějším využitím zázvoru je použití jako koření a to jak ve své čerstvé, tak i sušené podobě nebo v různých směsích s jinými druhy koření (kari koření) [28].

Před zvýšenou konzumací zázvoru je nutno varovat lidi užívající warfarin, kyselinu acetylsalicylovou nebo nesteroidní antiflogistika, neboť vysoké dávky zázvoru (10-14 g sušeného zázvoru/den) mohou zvýšit účinnost antikoagulační terapie. Klinická významnost však ještě stanovena nebyla. Dále není užívání preparátů na bázi zázvoru doporučeno pro ženy těhotné a lidem užívající antikoagulační a imunosupresiva (zázvor snižuje vstřebatelnost cyklosporinu podaného orálně) [28].

Na trhu existuje celá řada různých výrobků ze zázvoru, například zázvorový sirup (Obr. 4.). Jedná se o viskózní nealkoholickou tekutinu s výraznou vůní a chutí. Příznivě působí na funkci žaludku, bývá podáván při pálení žáhy, plynatosti, případně nevolnostech [29].



Obr. 4. Zázvorový sirup [30]

Dalším výrobkem ze zázvoru jsou zázvorové pivo. Ve světě jsou známy dva druhy zázvorového piva, které se liší metodou výroby. Prvním druhem je tzv. „stone ginger beer“, který je vyráběn fermentací směsi zázvoru, vody, cukru a vinanu draselného. Bývá přidávána pomerančová kůra, pomerančová šťáva nebo kyselina citronová. Druhotná fermentace probíhá ve spotřebitelském balení a výrobek obsahuje malé množství alkoholu [31].

Druhou skupinou zázvorových piv jsou tzv. „ginger ale“ občas nazývané jako „glass ginger“. Hlavním specifikem této skupiny zázvorových piv je, že nebyly v procesu výroby fermentovány. Díky tomu se vyznačují výraznějším zázvorovým aromatem a levnější výrobou a neobsahují alkohol [31].

Mezi největší spotřebitele zázvorového piva patří Trinidad a Tobago u pobřeží Severní Ameriky, kde je pivo konzumováno nejvíce v průběhu oslav vánočních svátků [31].

Kandovaný zázvor (Obr. 5.) patří také mezi oblíbené významné výrobky ze zázvoru. Může být konzumován přímo nebo se používá pro další kulinární úpravu, zpravidla se přidává do koláčů nebo může být namáčen v čokoládě. Výhodou je dobrá údržnost. Výroba spočívá v proslazování tenkých plátek pomocí sacharózy za zvýšené teploty [32].



*Obr. 5. Kandovaný zázvor [33]*

V Japonsku je běžný tzv. „růžový zázvor“, který je zpravidla podáván k sushi a vyznačuje se sladkokyselou chutí. Jedná se o tenké plátky nakládaného zázvoru, který je směsí různých odrůd zázvoru a druhů octa. Přesné složení odrůd a použitých octů je tajemstvím každého výrobce [34].

## 2 KŘEN

U nás pěstovaný křen selský (*Armoracia rusticana*) náleží do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*) [35].

Zástupce čeledi brukvovitých lze charakterizovat jako vyšší dvouděložné rostliny, které jsou řazeny do řádu brukvotvarých (*Brassicales*). V čeledi jsou zastoupeny trvalky, dvouletky i jednoletky. Převážnou částí čeledi brukvovitých jsou byliny, vzácně lze nalézt i keře. Barva květů bývá nejčastěji žlutá nebo bílá a nejběžnějším typem plodu v čeledi brukvovitých je pukavá šešule nebo šešulka. Typický je obsah „páchnoucích“ látek, které se uvolňují při poškození pletiv [36].

Významnými zástupci jsou řepka olejka (*Brassica napus*), hořčice bílá, květák, zelí, kapusta, kedlubny, řeřicha, ředkve a křen [36, 37].

Křen je pěstován pro svůj silně aromatický kořen, který nachází uplatnění jako koření, zelenina nebo léčivý prostředek. Pochází nejspíše z oblastí jihovýchodní Evropy a západní Asie. Do střední Evropy se rozšířil díky Slovanům v době stěhování národů. Na našem území je pěstován od 12. století, od 17. století byl šlechtěn. V dnešní době je rozšířen celosvětově a snadno v písčitéch lokalitách podél vodních toků zplaňuje [35].



Obr. 6. Křen selský (*Armoracia rusticana*) [38] a kořen křenu (vpravo) [39]

Křen je vytrvalou bylinou, která se vyznačuje mohutným válcovitým kořenem, jak je vidět na Obr. 6. Z kořene vyrůstají růžice listů a květní lodyhy, které bývají dlouhé až 2 metry. Plodem křene selského je kulovitá šešulka, avšak v našich podmínkách se zpravidla nevytváří. Křen se v našich oblastech rozmnožuje vegetativně za pomoci podzemních výběžků nebo úlomků kořene [40].



## 2.1 Pěstování a sběr křenu

Ideální podmínky pro růst křenu mohou být charakterizovány jako oblasti s mírným podnebím, kde vykazuje dlouhé vegetační období, které začíná na jaře a končí s prvními mrazy na podzim. V průběhu léta vyžaduje vyšší teploty. Na konci léta a začátku podzimu vyžaduje naopak nižší teploty, které podpoří rozvoj kořenového systému. Ideální půdní podmínky mohou být popsány jako hluboké kypré hlinité půdy, které umožňují kořenům snadný růst a také usnadňují jejich sklizeň [41].

Křen bývá pěstován jako trvalka. První sadba bývá zpravidla prováděna začátkem jara. Na podzim, po prvních mrazech, je kořen sklizen. Zpravidla takovým způsobem, že část kořene zůstane hluboko v zemi. V dalším vegetačním období vyrůstají z hluboko uložených fragmentů původního kořene nové výhonky. Na konci vegetačního období je opět sklizen plnohodnotný kořen křenu, bez nutnosti sadby. Tento postup lze opakovat 10 – 20 let. Nevýhodou pěstování křenu je velmi obtížné přerušování a přechod na pěstování odlišné komodity, z důvodu hluboko uložených fragmentů kořene křenu, ze kterého se rostlina regeneruje [41].

Nejvhodnější skladovací podmínky kořene křenu jsou chladné a vlhké sklepy, kde je kořen zahrnut pískem [35, 40].

K zajímavým odrůdám patří maďarský křen s chráněným označením původu „Hajdúsági torna“. Maďarský křen se vyskytuje v oblasti Hajdúság. Křen, pěstovaný v této oblasti, lze od ostatních rozeznat díky jeho specifickým vlastnostem. Mezi hlavní specifické vlastnosti patří tlusté, tmavozelelé listy, rovný válcovitý kořen světlehnědé barvy se sněhobílou dužinou a nízký obsah hořčičné silice (allylisothiokyanátu). Díky nízkému obsahu hořčičné silice vykazuje jemnější štiplavou chuť. Průměrný obsah allylisothiokyanátu u „Hajdúsági torna“ křenu je 1,44 g/100 g čerstvého křenu [42].

## 2.2 Chemické složení křenu

Přehled o základním chemickém složení čerstvého a konzervovaného kořenu křenu je uveden v Tab. 4.

Ač je křen řazen mezi zeleninu, která obsahuje zpravidla značné množství vody, vyniká v obsahu sušiny, která se pohybuje v rozmezí 31,5 – 33,83 % [43].

Obsah vitamínu C je značně závislý na odrůdě, délce skladování a podmínkách pěstování, ale i na klimatických podmínkách v průběhu vegetačního období. Obsah vitamínu C se u „Hajdúsági tor- ma“ křenu pohybuje v rozmezí 26 až 150 mg/100 g [42].

Kosson a Horbowicz [43] zkoumali vliv skladování 2 odrůd křenu po dobu 10 měsíců. Zjistili, že obsah vitamínu C se u čerstvě sklizených vzorků liší. V průběhu 10 měsíčního skladování byl u všech testovaných vzorků pozorován úbytek množství vitamínu C. V křenu původem z Polska byl zjištěn úbytek vitamínu C z množství 119,6 mg/ 100 g čerstvého křenu na hodnotu 86,8 mg/100 g čerstvého křenu. V případě maďarského křenu byl pozorován úbytek vitamínu C z původního množství 227,1 mg/ 100 g čerstvého křenu na hodnotu 156,3 mg/100 g čerstvého křenu [43].

Významný je i obsah polyfenolů, který je také ovlivněn odrůdou, klimatem, podmínkami zpracová- ní a řadou dalších faktorů [44].

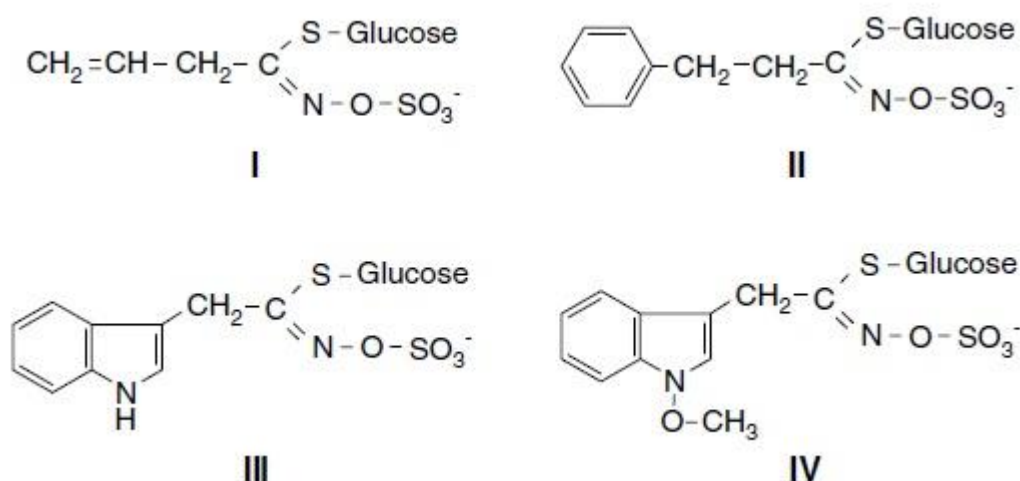
Tab. 4. Průměrné chemické složení čerstvého a konzervovaného kořenu křenu [45]

Složka	Čerstvý křen [g/100 g]	Konzervovaný křen [g/100 g]
Proteiny	2,6	1,18
Sacharidy	9,4	11,29
Lipidy	0,3	0,69
Hrubá vláknina	4,0	3,3
Sodík	0,014	0,314
Hořčík	0,037	0,027
Vitamin C	0,12	0,0249
Vápník	0,115	0,056

Nejvýznamnější chemické složky, které kořen křenu obsahuje, a které jsou společné pro celou čeleď brukvovitých, jsou glukosinoláty. Jedná se o sloučeniny, které ve své struktuře mají vázaný atom síry a molekulu glukózy. Glukosinoláty jsou druhotné metabolity, které vznikají z aminokyselin. Na základě aminokyseliny, která je prekurzorem glukosinolátu, je lze rozdělit do 3 skupin na alifatické, aromatické a indolylové. Hlavními aminokyselinami, které jsou prekurzory glukosinolátů, jsou methionin, tryptofan a fenylalanin. Hlavním zástupcem alifatických glukosinolátů, který jsou odvo-

zeny od methioninu je sinigrin. Alifatické glukosinoláty, od methioninu odvozené, jsou nejhojněji se vyskytující skupinou látek v čeledi brukvovitých. Mezi další zástupce patří glukorafhanin, progoitrin, glukoerucin a glukoiberin. Druhým nejvíce zastoupeným glukosinolátem v křenu je glukonasturtin, který je odvozený od aminokyseliny fenylalaninu a tudíž je řazen do skupiny aromatických glukosinolátů. Poslední skupinou, která není v kořenu křenu výrazně zastoupena, jsou indolylové glukosinoláty odvozené od aminokyseliny tryptofanu. Hlavními zástupci jsou glukobrassicin, neoglukobrassicin a 4-hydroxyglukobrassicin [46, 47].

Obvykle kořen křenu obsahuje 8 různých glukosinolátů. Na Obr. 7. jsou uvedeny 4 základní glukosinoláty, které tvoří většinu přítomných glukosinolátů v křenu. Sinigrin (2-propenyl glukosinolát) (I na Obr. 7.) reprezentuje až 83 % všech glukosinolátů v křenu. Spolu s glukonasturtinem (2-fenylethylglucosinolát) (II), který tvoří 11 % všech přítomných glukosinolátů, zaujímají tyto dvě sloučeniny dohromady více jak 90 % všech glukosinolátů obsažených v křenu [46].



Obr. 7. Hlavní zástupci glukosinolátů obsažených v kořenu křenu [46]

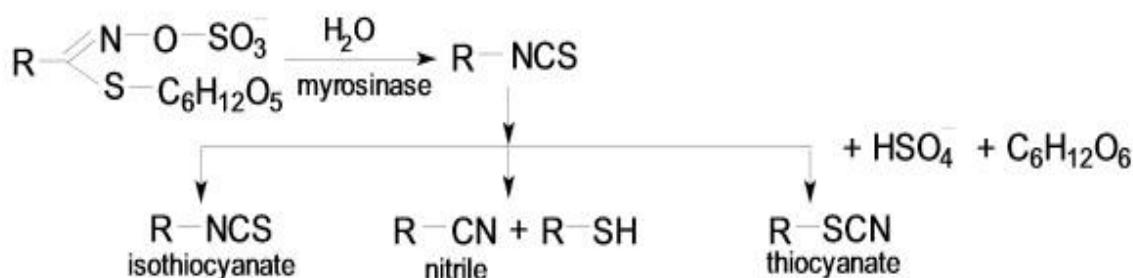
Glukobrassicin (3-indolylmethyl glucosinolát) (Obr. 7., III) a neoglukobrassicin (N-methoxy-3-indolylmethylglucosinolát) (IV) tvoří minoritní množství přítomných glukosinolátů [46].

Jak bylo popsáno výše, nejdůležitějším glukosinolátem přítomným v kořenu křenu je sinigrin. Jedná se o hydrofilní záporně nabitou molekulu. Je přítomna ve většině rostlin čeledi brukvovitých, ale může být nalezena i v jiných druzích rostlin. Sinigrin i ostatní glukosinoláty jsou známy pro své antikarcinogenní účinky a potencionální účinek proti škůdcům a chorobám. Nejen sinigrin, ale i jeho rozkladné produkty jsou považovány za velmi silné fungicidy [48].

Mezi hlavní produkty tepelného rozkladu sinigrinu, při úpravě brukvovité zeleniny mohou být zařazeny 3-butenylnitril, allylisothiokyanát, desulfo-sinigrin a N, N'-dialkylthiomočoviny [49].

Glukosinoláty jako takové nemají příliš intenzivní aroma a nedávají křenu typickou štiplavou chuť. Jsou uloženy ve vakuolách. Ke vzniku silného štiplavého aromatu dochází až v okamžiku, kdy jsou vakuoly obsahující glukosinoláty porušeny [49].

Glukosinoláty jsou součástí přirozené obrany křenu proti býložravcům a patogenům. Pokud dojde k porušení pletiv, jsou glukosinoláty hydrolyzovány za účasti enzymu myrozinázy na glukózu a sloučeniny jako isothiokyanáty, nitrily, thiokyanáty a další. Tyto sloučeniny bývají nazývány jako hořčičné silice a vykazují fytoncidní účinky. Schéma této reakce je uvedeno na Obr. 8. [46, 50].



Obr. 8. Schéma degradace glukosinolátů za účasti enzymu myrozinázy [50]

### 2.3 Antimikrobiální vlastnosti křenu

Křen jako takový vykazuje výrazné antimikrobiální vlastnosti, které jsou způsobeny obsahem fytoncidních látek. Dobře známé antimikrobiální účinky jsou především u isothiokyanátů, které vznikají působením enzymu myrozinázy na glukosinoláty [48].

Nejdůležitější isothiokyanáty z hlediska antimikrobiální aktivity jsou ty, které vznikají rozkladem sinigrinu, tedy glukosinolátu, který je nejvíce zastoupen v kořenu křenu. Isothiokyanáty vzniklé ze sinigrinu vykazují antimikrobiální účinnost zejména proti bakteriím *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* a *Staphylococcus aureus*, plísním a kvasinkám, tedy proti závažným patogenům, které se mohou vyskytovat v potravinách [51].

Ve studii provedené Shinem, Jung-Shuem a kol. [51] byl zkoumán vliv přidavku isothiokyanátů, izolovaných z křenu, na údržnost sýru tofu, který byl skladován po dobu 10 dnů při teplotě 10 °C. Byl sledován nárůst počtu bakterií v sýru tofu oproti vzorku bez přidavku isothiokyanátů. Bylo zjištěno, že při koncentraci isothiokyanátů 300 ppm byl růst bakterií výrazně potlačen [51].

Isothiokyanáty (ITK) vzniklé rozkladem aromatických glukosinolátů, vykazují vyšší antimikrobiální účinky než ITK odvozené od alifatických prekurzorů. Lepší antimikrobiální účinky byly prokázány na bakteriích rodu *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* a *Vibrio* [52].

Dofour a kol. [53] zkoumali antimikrobiální účinky allylisothiokyanátu (AITK) na bakterie rodu *Campylobacter jejuni*, které byly izolovány z kuřecího trusu, infikovaných lidí a kontaminovaných potravin. AITK je hydrolytickým produktem degradace sinigrinu. Bylo zjištěno že AITK vykazuje silné bakteriostatické účinky i bakteriocidní účinky na testované kmeny bakterie *Campylobacter jejuni* [53].

U křenu byl také popsán amenzálismus. Jedná se o interakci mezi dvěma a více organismy, kde jeden organismus produkuje chemické látky za účelem potlačení jiných organismů nebo omezení jejich životních podmínek. Amenzálismus křenu byl popsán vůči organismům, které se vyskytují v půdě. Jde zejména o bakterie, houby, viry, hlístice a různé druhy plevelů [47].

Křen obsahuje velké množství fytoncidních látek, díky kterým může být strouhaný křen uchovávan při chladírenských teplotách až po dobu 14 dní [54].

## 2.4 Antioxidační aktivita křenu

Několika studiemi bylo potvrzeno, že křen vykazuje vysokou antioxidační aktivitu ve srovnání s BHA (butylhydroxyanisol), BHT (butylhydroxytoluen) a  $\alpha$ -tokoferolem, které jsou přidávány do potravin za účelem ochrany tuků před oxidací [44].

V Tab. 5. jsou uvedeny hodnoty celkového obsahu polyfenolů u některých druhů rostlin. Celkový obsah polyfenolů je vyjádřen v mg ekvivalentu kyseliny ferulové na 100 g křenu [55].

Tab. 5. Obsah celkových polyfenolů v některých druzích rostlin [55]

Vzorek	Celkové polyfenoly [mg FAE/100 g]
Brokolice	290
Celer	59
Cibule	150
Cuketa	38
Brambory (červené)	781
Zelí bílé	108
Mrkev	156
Křen	481
Růžičková kapusta	91

## 2.5 Využití křenu

V minulosti se křen využíval jako léčivá rostlina, ve středověku byl užíván jako prostředek pro podporu trávení. V dnešní době se využívá zejména v potravinářství, kde je ceněn pro štiplavou chuť. Je podáván zejména k masovým pokrmům [56].

Vzhledem k faktu, že křen je v potravinářství využíván již dlouhou dobu (zejména ke kořenění masných produktů), je považován za bezpečný, avšak použití křenu ve vysokých dávkách za účelem zajištění údržnosti potravin (díky antimikrobiálním vlastnostem) je problematické, protože ve vysokých dávkách nepříznivě ovlivňuje organoleptické vlastnosti potravin [51].

Křen je používán na výrobu mnoha produktů, jako příklad může být uveden sterilovaný křen, mletý křen, sušený křen, křenová pasta nebo křenové silice a křenové extrakty. Při zpracování je křen strouhán, drcen, škrábán nebo lisován. Při těchto mechanických procesech jsou do vzduchu uvolňovány štiplavé látky, které mohou způsobit pálení očí [54].

Jablkový křen může být charakterizován jako hustá studená omáčka, která je připravována z nastrouhaného křenu, do kterého je přidána sůl, ocet, nastrouhaná jablka, cukr a hovězí vývar. Omáč-

ka se používá nejčastěji jako příloha k vařenému masu. Spolu s brusinkami a smetanou se také používá ke zvěřině. Většina takto připravených omáček pochází z Německa nebo ze Skandinávie [54].

Křenová silice je získávána destilací z nastrohaných kořenů křenu. Mezi charakteristickou vlastností oleje patří světle žluté zabarvení. Jedná se o viskózní tekutinu, kde typické aroma zajišťuje zejména sinigrin [54].

Křenové víno, které působí diureticky je vyráběno z tenkých křenových plátků, které jsou v nádobě zalaty vínem a jsou ponechány louhovat 24 hodin [54].

Křenová pasta je vyráběna ze sušeného kořene křenu, který je rozemlet na prášek a poté smíchán s vodou. Je vytvořena velmi viskózní pasta, která je zpravidla konzumována k červenému masu nebo rybám [54].

Mladé listy křenu jsou využívány na přípravu salátů. K ochucení pokrmů je nejvíce užíván čerstvý jemně nastrohaný křen, jelikož sterilováním a sušením dochází ke ztrátám velkého množství aromatických látek [54].

V současnosti křen nachází uplatnění i mimo potravinářský obor a to zejména díky obsahu enzymu peroxidázy, která je v současnosti široce využívána. Získávání enzymu peroxidázy z rostliny křenu selského je v současné době levnější než jeho získávání mikrobiální cestou. Peroxidáza je používána v soupravách pro testování glukózy a cholesterolu v krvi. Peroxidázy jsou také důležité v průmyslu. Jsou využívány při bělení, degradaci celulózy na palivo a v neposlední řadě k odstraňování karcinogenních sloučenin z odpadních vod a také k odstraňování stop toxických organických sloučenin v pitné vodě. Největším výrobcem peroxidázy izolované z křenu je USA [57].

### 3 METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH ANALYTICKÝCH UKAZATELŮ

#### 3.1 Metody stanovení obsahu vody a sušiny ve vzorcích

Hlavními důvody, proč stanovovat obsah vody v potravinách, jsou technologická a hygienická jakost, jelikož obsah vody, potažmo aktivita vody přímo ovlivňuje údržnost potravin. Je mnohdy nezbytné stanovit její obsah v potravině, aby bylo možné zjistit, zda byly dodrženy předepsané parametry. Dalším hlediskem může být hledisko ekonomické, kdy je v provozu vhodné kontrolovat obsah sušiny, zda je v souladu s vyhláškou [58].

Stanovení vody ve vzorku může být rozděleno na přímé a nepřímé. U přímého stanovení je stanoven přímo obsah vody. U nepřímých stanovení je nejprve stanovena sušina vzorku a z ní je dopočítán obsah vody ve vzorku. Každá metoda má své výhody i nevýhody a mnohdy je nutno zvolit metodu na základě povahy vzorku, přístrojovému vybavení a na přesnosti, s jakou je nutno obsah vody ve vzorku vyjádřit [58].

Nepřímou metodou pro stanovení obsahu vody je gravimetrické stanovení sušiny, ze které je následně dopočítán obsah vody ve vzorku. Jelikož je sušina definována jako neodpařitelný zbytek po zahřívání do konstantní hmotnosti, dojde k odparu i jiných těkavých látek než je voda. Při gravimetrickém stanovení sušiny je důležité volit teplotu a délku sušení s ohledem na povahu a složení vzorku. Výhodou vážkového stanovení sušiny je velmi malá náročnost na přístrojové vybavení. Běžně se sušina stanovuje sušením při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti, tzn. dokud rozdíl mezi dvěma posledními váženými není nižší než 1 mg [58].

#### 3.2 Stanovení refraktometrické sušiny

Základní veličinou, kterou refraktometrie používá je index lomu. Index lomu souvisí s povahou čisté látky, její hustotou, případně s hustotou jejího roztoku. Je závislý na vlnové délce použitého záření, teplotě i tlaku, avšak v případě kapalin a pevných látek je vliv tlaku zanedbatelný. Zpravidla se hodnota indexu lomu udává při průchodu světla ze vzduchu do kapaliny při teplotě 20 °C. V ideálních vícesložkových soustavách, ve kterých při jejich vzniku nedochází ke změnám polarizovatelnosti nebo objemu jednotlivých složek, je závislost indexu lomu na složení směsi velmi blízká lineární závislosti, pokud je složení takovéto směsi vyjádřeno v objemových zlomcích a je zde v platnosti pravidlo o aditivitě indexů lomu [59].



Index lomu je měřen pomocí refraktometrů, kterých existuje velké množství. V zásadě jde o přímé měření indexu lomu, nebo o měření rozdílu indexu lomu známého prostředí s neznámým prostředím (vzorkem), tzv. interferenční refraktometry. Většina refraktometrů používaných v potravinářství je kalibrována pro různé účely a výsledky poskytují v různých hodnotách. Nejčastější jednotkou je °BX, která udává g sacharózy ve 100 g roztoku [60].

Refraktometrie je ceněna pro svou rychlost, relativně nízkou pořizovací cenu refraktometrů a pro potřebu malých objemů vzorku pro analýzu (1-2 ml). Spolehlivě je využívána pro rychlou kontrolu technologických procesů, kde není vyžadována velká přesnost [60].

### 3.3 Metody stanovení hrubé vlákniny

Pod pojmem vláknina je označována část potravy člověka, která je rezistentní vůči hydrolyze trávicími šťávami. Nejčastěji je zde zařazována celulóza, lignin a některé hemicelulózy. Tyto skupiny látek bývají souhrnně označovány jako hrubá vláknina a jedná se o složené sacharidy [61].

V současné době existují 3 skupiny metod pro stanovení obsahu vlákniny a to neenzymaticko-gravimetrické, enzymaticko-gravimetrické a enzymaticko-chemické [61].

Metoda neenzymaticko-gravimetrická, která byla také použita v této práci, slouží ke stanovení pouze hrubé vlákniny, protože není schopná zcela zachytit pektiny, některé hemicelulózy a pod. [61].

#### 3.3.1 Stanovení hrubé vlákniny podle Henneberga a Stohmanna

Stanovení hrubé vlákniny podle Henneberga a Stohmanna patří do skupiny neenzymaticko-gravimetrického stanovení hrubé vlákniny, která byla zavedena již v roce 1860. Výhodou metody je malá náročnost na vybavení laboratoře. Jedná se o metodu vhodnou ke stanovení hrubé vlákniny v rostlinných materiálech. Princip je založen na dvoustupňové hydrolyze, nejprve v prostředí zředěné  $H_2SO_4$  a následně ve zředěném roztoku NaOH za definovaných podmínek. Tímto postupem je ve vzorku izolován nerozpustný podíl vlákniny (celulóza, některé hemicelulózy a lignin). Je zjišťován zbytek po hydrolyze, od kterého je odečtena hmotnost popelu s korekcí [62].

### 3.4 Metody pro stanovení antioxidační aktivity

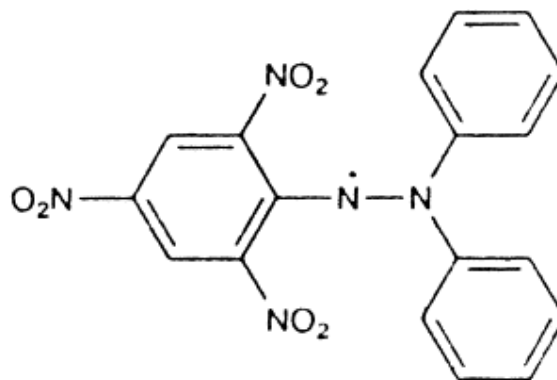
Existuje velké množství metod, které slouží ke zjištění antioxidační aktivity *in vitro*. Je ale problematické hodnotit antioxidační aktivitu u vzorků, které obsahují velké množství různých sloučenin, které spolu mohou vzájemně interagovat. V některých případech může dojít k synergickému působení antioxidantů a jiných sloučenin, jindy může naopak docházet k inhibici antioxidačního působení [63].

U mnoha sloučenin, které vykazují antioxidační vlastnosti nebo je nějakým způsobem ovlivňují, dochází v průběhu trávení k chemickým změnám a musí být také zohledněna vstřebatelnost a změny antioxidačních látek při průchodu metabolickými drahami, proto je vhodné zkoumat antioxidační aktivitu potravin i za použití metod *in vivo* [63].

Široké spektrum metod, které se používají pro stanovení antioxidační aktivity, je dáno tím, že nízkomolekulární antioxidanty mohou působit mnoha různými mechanismy. Nejběžnější reakcí je přímá reakce s umělými radikály, tzv. vychytávání nebo zhašení radikálů. Zde může být zařazena metoda používající DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), metoda TEAC využívající sloučeninu ABTS (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát) a metoda za použití galvinoxylu. Mezi další metody hodnotící eliminaci různých kyslíkových radikálů může být zařazena metoda ORAC, která je založena na vychytávání hydroxylových radikálů a metodu sledující vychytávání superoxidového anion radikálu. Poslední skupinou jsou metody hodnotící eliminaci lipidové peroxidace [64].

#### 3.4.1 Metoda za použití DPPH

Metoda za použití DPPH je považována za základní metodiku pro stanovení antiradikálové aktivity čistých látek a některých směsných vzorků. Principem metody je reakce vzorku se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem (DPPH). Vzorec DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) je uveden na Obr. 9. Při jeho reakci s antioxidanty dochází k redukci radikálu na difenylpikrylhydrazin, což přináší pokles jeho absorbance, která je sledována měřením na spektrofotometru při vlnové délce 517 nm. Změna absorbance se měří po uplynutí konstantního časového úseku nebo se může pracovat v kinetickém režimu. V situacích, kdy je vzorek zbarven, a tudíž by mohl ovlivnit absorbanci, může být ke stanovení antiradikálové aktivity použita detekce za pomoci HPLC. V tomto případě je hodnocena plocha píku radikálu DPPH. U směsných vzorků bývá antiradikálová aktivita zpravidla vyjadřována v ekvivalentech kyseliny askorbové nebo v ekvivalentech Troloxu [64, 65].



Obr. 9. Chemická struktura radikálu DPPH

### 3.5 Metody pro stanovení obsahu polyfenolických látek

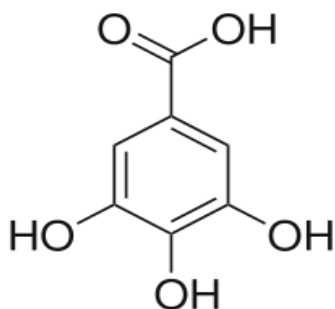
Dnes používané metody pro stanovení obsahu polyfenolických látek je možno rozdělit na dvě základní skupiny. První skupinou jsou metody, které využívají společných vlastností určité skupiny fenolických látek, jsou proto stanoveny jako jejich suma a výsledek bývá vyjádřen v mg ekvivalentu konkrétní fenolické sloučeniny, zvolené jako standard. Pro stanovení jednotlivých polyfenolů je dnes převážně používána vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s rozličnými detektory (UV-VIS, DAD, MS) [66].

#### 3.5.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla

Hojně využívanou metodou pro stanovení celkového obsahu polyfenolů je spektrofotometrické stanovení za použití Folin-Ciocalteuova činidla (FC) [19].

Hlavními funkčními složkami FC je směs kyselin fosfomolybdenové a fosfowolframové. Reaguje v bazickém prostředí s fenoly a redukujícími látkami za vzniku barevných sloučenin. Vzniklé barevné komplexy vykazují absorpenci při vlnových délkách 550 – 750 nm. Nejvyšší absorpenci vykazují produkty reakce při vlnové délce 750 nm [67].

Metodou je stanoven celkový obsah polyfenolů. Vzhledem k tomu, že tato skupina sloučenin reprezentuje stovky různých sloučenin, je nutné vyjádřit celkový obsah polyfenolů jako ekvivalent některého chemického individua. Nejvíce se jako standard využívá kyselina gallová, jejíž vzorec je uveden na Obr. 10. Její výhodou je ve výborná stabilita v krystalické formě. V roztocích však snadno oxiduje, proto je nutné připravené kalibrační roztoky skladovat v chladničce a co nejdříve upotřebit [19, 68].



Obr. 10. Vzorec kyseliny gallové

Teoreticky je možné použít jako standard jakoukoliv látku fenolické povahy. Je ovšem doporučováno používat jako standard kyselinu gallovou, díky vhodným vlastnostem, popsaných výše, a snadnému srovnávání výsledků, pokud je v různých měřeních použit stejný standard. Výsledky jsou uváděny v mg ekvivalentu standardu na 100 g vzorku, kdy je zdůrazněno, že nebyl stanoven obsah kyseliny gallové ve vzorku, ale obsah všech látek reagujících podobně jako kyselina gallová [68].

Při použití této metody je nutno brát v úvahu, že v mnoha případech může dojít k nežádoucím interakcím, které snižují přesnost výsledků. Hlavními sloučeninami, které ovlivňují výsledky metody za použití Folin-Ciocalteuova činidla jsou oxid siřičitý, kyselina askorbová a fruktóza a glukóza. Oxid siřičitý, jako individuum, neredukuje FC činidlo, k redukci dochází jen v přítomnosti polyfenolických sloučenin. Tato situace je vyvolána tím, že FC činidlem oxidované polyfenoly jsou zpětně redukovány oxidem siřičitým. V přítomnosti  $\text{SO}_2$  tedy dochází k regeneraci oxidovaných polyfenolů, což má za následek zvýšenou míru redukce FC činidla. Získané výsledky obsahu polyfenolů za použití FC jsou pak vyšší, než je skutečnost. Mnoho autorů se pokoušelo stanovit korekční faktory pro vzorky s obsahem  $\text{SO}_2$ , avšak bylo zjištěno, že závislost není konstantní. Proto nebylo možné stanovit přesné korekce. Přibližné korekce byly stanoveny v rozmezí 0,1 - 0,2, neboli obsah 10 mg/l  $\text{SO}_2$  ve vzorku vyvolá reakci, jako by ve vzorku bylo přítomno o 1 - 2 mg/l polyfenolů více. V případě kyseliny askorbové je efekt na výsledný obsah polyfenolů za použití metody s FC činidlem ještě vyšší. Například pro korekci obsahu polyfenolů v ovoci, které přirozeně obsahuje velká množství vitamínu C, je nutno pro každý 1 mg/l obsahu kyseliny askorbové snížit celkový obsah polyfenolů o 1 mg/l. Korekce v případě kyseliny askorbové vykazuje na rozdíl od oxidu siřičitého konstantní závislost [19, 68].

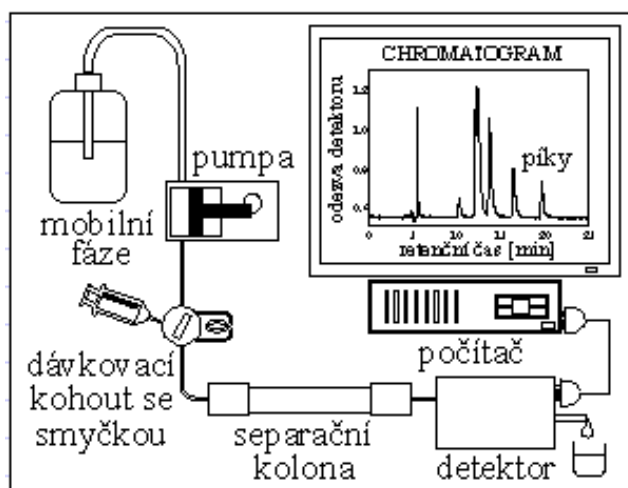
### 3.5.2 Stanovení polyfenolů metodou HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) je v současnosti jednou z nejpoužívanějších separačních metod, jenž je založena na principu rovno-

vážné distribuce analytů mezi mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou) fází. Mezi nejběžnější stacionární fáze patří silikagel, aminopropyl, kyanopropyl nebo různé dioly. Mobilní fáze je tvořena například n-hexanolem nebo chloroformem [69].

HPLC se nejčastěji využívá při stanovení netěkavých polárních látek. Během separace se uplatňují interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární fází nebo sorpce analytů na stacionární fázi [70].

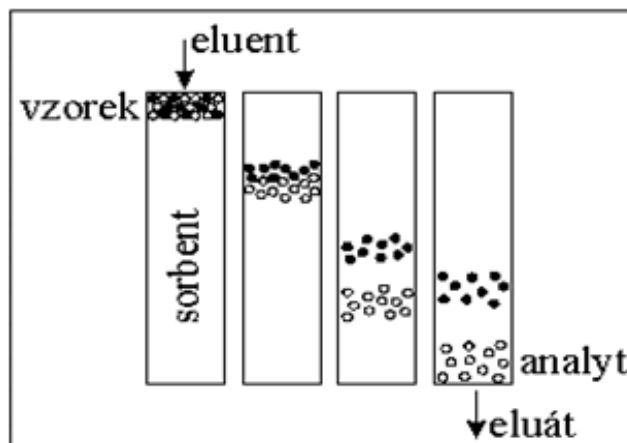
Na Obr. 11. je uvedeno schematické znázornění přístroje HPLC. Mezi základní součásti přístroje patří zásobníky mobilní fáze, pumpa, dávkovací vysokotlaký ventil se smyčkou, separační kolona, detektor a zařízení pro vyhodnocení dat [71].



Obr. 11. Schéma přístroje HPLC [71]

Mobilní fáze musí být připravena z chemicky čistých látek, protože na jejich složení závisí kvalita a účinnost separace na koloně. Pomocí pumpy je vytvářen požadovaný tlak a je zabezpečen konstantní průtok mobilní fáze. Dávkovací vysokotlaký ventil umožňuje dávkovat vzorek i při vysokých tlacích (60 - 80 MPa). Separace probíhá v koloně. Jedná se o kapiláru, ve které je rovnoměrně rozprostřena stacionární fáze. Pro úspěšnou separaci jednotlivých složek na koloně musí analyty vykazovat rozdílnou afinitou vůči sorbentu. Separace látek, probíhající na koloně, je posuzována několika parametry, a to účinností, rozlišením a výškovým ekvivalentem teoretického patra [71, 72].

Na Obr. 12. je znázorněn proces separace jednotlivých analytů vzorku na koloně.



Obr. 12. Proces separace vzorku na koloně [71]

Detektory jsou umístěny za kolonou, kde analyzují eluát. Zaznamenávají rozdíl mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fáze, která obsahuje eluovanou složku. Odezva detektorů je ovlivněna objemovou rychlostí toku mobilní fáze, teplotou, nečistotami v mobilní fázi a náhodným šumem [73].

Detektor by měl být schopen rozlišit všechny přítomné komponenty, měl by tedy být univerzální. Měl by vykazovat vysokou citlivost, nízkou úroveň šumu a odolnost ke změnám teploty, tlaku a průtoku mobilní fáze. Mezi používané detektory ve spojení s HPLC patří absorpční fotometrický detektor, fluorescenční detektor, refraktometrický detektor, ampérometrický detektor, vodivostní detektor, detektor s diodovým polem (DAD) a hmotnostní spektrometr [70, 73].

Informace získané z chromatogramu mohou poskytovat jak kvalitativní informaci o analytu, která je prezentována retenčním časem (poloha píku v chromatogramu), tak i kvantitativní informaci o analytu, která je určena velikostí plochy píku [71].

V současnosti se jedná o nejpoužívanější metodu pro stanovení jednotlivých fenolů. Běžně jsou používány kolony o průměru 3 - 5 mm a délce 10 – 25 cm se stacionární fází  $C_{18}$ , která bývá nejčastěji vázána na silikagel [74].

Při analýze fenolických látek je nejčastěji využívána gradientová eluce, kde je mobilní fáze složena z polární a nepolární části. Do vodné fáze může být přidáno malé množství kyseliny octové pro zvýšení retence slabě kyselých látek nebo slabé zásady pro zvýšení retence slabě zásaditých látek. Jako mobilní fáze bývá nejčastěji využíváno metanolu, acetonitrilu, propanolu, butanolu, tetrahydrofuranu nebo ethylacetátu. Eluce bývá většinou prováděna s binárním lineárním gradientem [66, 74].

Podle Dalluge a kol. [75], kteří analyzovali čajové katechiny pomocí HPLC s reverzní fází, bylo dosaženo nejlepšího rozlišení při použití mobilní fáze metanol-voda, acetonitril-voda a acetonitril s přídavkem trifluoroctové kyseliny. Pro eluci použili kolonu s oktadecylsilylovou fází a detekci provedli spektrofotometrickým měřením při vlnové délce 210 nm [75].

V současnosti mezi nejužívanější detektory ve spojení s HPLC pro analýzu polyfenolů patří optické a hmotnostní detektory. Mezi optickými detektory se do popředí dostává UV/VIS a DAD, který pracuje v širším spektru vlnových délek. Pro vyhodnocení pak není použito jen retenční chování na koloně, ale i spektrální vlastnosti stanovované látky [76].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 4 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části práce bylo charakterizovat křen a zázvor, jejich chemické složení, vlastnosti a využití. Dále byly v teoretické části popsány metody stanovení analytických ukazatelů, které byly stanovovány v praktické části.

Náplní praktické části diplomové práce bylo stanovení sušiny, refraktometrické sušiny, celkového obsahu kyselin a hrubé vlákniny v nativních vzorcích křenu a zázvoru. Dále bylo cílem stanovit antioxidační aktivitu a celkový obsah polyfenolů v křenu, zázvoru a vybraných produktech. V praktické části byly také stanoveny jednotlivé fenoly metodou HPLC/UV u vybraných vzorků křenu a zázvoru.

## 5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

V praktické části diplomové práce bylo analyzováno 6 vzorků zázvoru (4 vzorky nativního oddenku a dva vzorky sušeného mletého zázvoru) a 7 vzorků křenu (3 vzorky nativních kořenů a 4 vzorky výrobků z křenu). Podrobný popis vzorků zázvoru a křenu je uveden v Tab. 6. a 7.

Tab. 6. Specifikace vzorků zázvoru

Vzorek	Forma	Charakteristika vzorku	Zdroj	Země původu
Zázvor 1	nativní oddenek	tržní síť – SPAR s.r.o, prodejna Zlín, balen do PE	nákup: říjen 2012	Čína
Zázvor 2	nativní oddenek	tržní síť – BILLA spol. s.r.o., prodejna Zlín	nákup: říjen 2012	Čína
Zázvor 3	nativní oddenek	tržní síť - KAUF LAND v.o.s., prodejna Zlín	nákup: říjen 2012	Čína
Zázvor 4	nativní oddenek	tržní síť - ALBERT a.s., prodejna Kro- měříž	nákup: říjen 2012	Čína
Zázvor 5	sušený, mletý	Zázvor mletý, Výrobce: Vitana a.s., By- šice, ČR	datum spotřeby: 21.8.2014	Čína
Zázvor 6	sušený, mletý	Zázvor mletý, Výrobce: Kotányi s.r.o. Praha, ČR	datum spotřeby: 11.10.2014	Čína

Tab. 7. Specifikace vzorků křenu

Vzorek	Forma	Charakteristika vzorku	Zdroj	Země původu
Křen 1	nativní kořen	tržní síť – SPAR s.r.o, prodejna Zlín, balen do PE	nákup: říjen 2012	Maďarsko
Křen 2	nativní kořen	tržní síť - Tržiště ve Zlíně, balen do PE	nákup: říjen 2012	ČR
Křen 3	nativní kořen	Produkt domácího pěstování z lokality Kroměříž, čerstvý vzorek	sklizeň: říjen 2012	ČR
Křen 4	strouhaný	Křen strouhaný, složení: křen strouhaný (95%), řepkový olej, kys. citronová, sůl, disířičitan sodný. Výrobce: Efko CZ s.r.o., Veselí nad Lužnicí, ČR, balení: sklo	datum spotřeby: 18.12.2012	Rakousko
Křen 5	strouhaný	Vitae d'Oro, křen strouhaný, chemicky konzervovaný, složení: křen strouhaný (60%), voda, kvasný lihový ocet, jedlý olej, cukr, sůl, disířičitan sodný. Vyrobeno pro KAUF LAND, balení: sklo	datum spotřeby: 21.12.2012	Polsko
Křen 6	strouhaný	Křeník - křenová příloha k pokrmům, chemicky konzervovaný, složení: křen (50%), voda, cukr, olej, ocet, sůl, kys. citronová, kys. askorbová, sířičitany. Výrobce: Hamé s.r.o., Bzenec, ČR, balení: sklo	datum spotřeby: 27.8.2013	ČR
Křen 7	strouhaný	Křen strouhaný, chemicky konzervovaný, složení: křen (60%), ocet, olej, voda, cukr, výrobek ze syrovátky, kys. citronová, sůl, disířičitan sodný. Výrobce: SPAK foods s.r.o., Sušice, ČR, balení: sklo	datum spotřeby: 30.5.2013	ČR

## 5.1 Použité chemikálie

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (P. Lukeš, Uherský Brod)
- NaOH (Mach Chemikálie s.r.o., Ostrava)
- aceton (P. Lukeš, Uherský Brod)
- demineralizovaná voda
- etanol (P. Lukeš, Uherský Brod)
- DPPH (Sigma-Aldrich, Francie)
- standard kyseliny askorbové (Fluka – Chemika, Švýcarsko)
- standard kyseliny gallové (Sigma-Aldrich, Francie)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, Praha)
- roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (P. Lukeš, Uherský Brod)
- acetátový pufr (pH= 5,5) (P. Lukeš, Uherský Brod)
- fenolftalein
- methanol pro HPLC (LAB-SCAN, UK)
- acetonitril (Fisher Scientific, Pardubice)
- kyselina trifluoroctová (Fisher Scientific, Pardubice)
- standard kyseliny ferulové (Sigma-Aldrich, Francie)
- standard kyseliny sinapové (Sigma-Aldrich, Francie)
- standard rutinu (Sigma-Aldrich, Francie)

## 5.2 Použité přístroje a pomůcky

- analytické váhy OHAUS – Voyager Pro, USA
- spektrofotometr Libra S6, Biochrom, UK
- sušárna Venticell, BMT a.s., ČR
- pH metr GRYF 209, ČR
- muflová pec MLW, DE
- hliníkové misky
- filtrační sáčky F57, ANKOM, USA
- analyzátor ANKOM 200/220 Fiber analyzer, USA
- laboratorní sklo a pomůcky
- digitální refraktometr HANNA HI 96801, USA
- mikrofiltry (LNY 1345-100, LUT Syringe Filters Nylon 13 mm, 0,45 mm, pk/100, LABICOM s.r.o, ČR)

- Aparatura pro HPLC-UV-VIS (DIONEX ULTIMATE 3000 SYSTEM), USA
  - autosampler DIONEX ULTIMATE 3000 WPS-3000 SL a WPS-3000 RS
  - pumpa DIONEX ULTIMATE 3000 SD
  - kolona WATREX NUCLEOSIL 120-5 C18 (250 x 4 mm)
  - detektor DIONEX Diode Array Detector, DAD-3000 RS
  - vyhodnocovací program HyStar

## 6 METODIKA STANOVENÍ

### 6.1 Stanovení obsahu sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny ve vzorcích křenu a zázvoru byla použita kontrolní metoda.

Nativní vzorky křenu a zázvoru byly zbaveny všech nejedlých součástí. Jedlé součásti jednotlivých vzorků byly dezintegrovány za použití kuchyňského struhadla z nerezavějící oceli. Do předem vysušených a zvážených hliníkových misek bylo naváženo 5 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Misky se vzorkem byly nejdříve předsušeny v elektrické sušárně při teplotě 55 °C po dobu 24 hodin a následně sušeny při  $t = 105$  °C do konstantní hmotnosti. Výsledkem měření je průměr ze 3 stanovení.

Obsah sušiny  $S$  [%] byl vypočítán podle vztahu:

$$S = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \cdot 100$$

kde:  $m_1$  – hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

$m_2$  – hmotnost prázdné misky [g]

$m_3$  – hmotnost vzorku [g]

### 6.2 Stanovení obsahu refraktometrické sušiny

Nativní vzorky zázvoru byly zbaveny všech nejedlých součástí a dezintegrovány pomocí struhadla. Z rozmělněných vzorků byla získána šťáva, která byla použita pro měření. Refraktometrická sušina byla měřena na digitálním refraktometru hanna hi 96801. Použitý digitální refraktometr poskytuje výsledky v jednotkách °BX (g sacharózy / 100 g vzorku). Výsledkem je průměr ze tří stanovení.

Vzhledem k povaze nativních vzorků křenu nebylo možné stanovení refraktometrické sušiny provést tímto způsobem.

### 6.3 Stanovení hrubé vlákniny

Ke stanovení obsahu hrubé vlákniny (HV) v nativních vzorcích křenu a zázvoru byl použit vysušený vzorek získaný postupem uvedeným v kap. 6.1.

Do předem zváženého prázdného filtračního sáčku F57 (s přesností na 0,0001 g), který byl předem proprán v acetonu a dokonale odvětrán v digestoři, byl navážen 1 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Filtrační sáčky se vzorky a filtrační sáček pro stanovení korekce (prázdný) byly zataveny. Ze zatavených sáčků se vzorkem byl extrahován tuk propíráním acetonem v uzavřené nádobě. Následně byly filtrační sáčky opět odvětrány v digestoři. Filtrační sáčky byly poté umístěny do zavěšovače a vloženy do analyzátoru ankom 200/220 Fiber analyzer. Do přístroje byla přidána 0,1275 M  $H_2SO_4$  a hydrolyza vzorků probíhala za zvýšené teploty s třepáním. Po této době byly sáčky v přístroji promývány 3x po dobu 5 minut horkou vodou (85-90 °C). Následně byl postup opakován s přidavkem 0,313 M NaOH. Po konečném promytí byly sáčky ponořeny do acetonu, odvětrány v digestoři a následně sušeny v sušárně při 105 °C po dobu 4 hodin. Vysušené filtrační sáčky se vzorky byly zváženy s přesností na 0,0001 g a následně spáleny v muflové peci při 550 °C (5 hodin) v předem vyžehnaném a zváženém kelímku. Po vychladnutí kelímků v exsikátoru byly vzorky opět zváženy s přesností na 4 desetinná místa.

Obsah hrubé vlákniny HV [%] v sušině vzorku byl vypočítán podle vztahu:

$$HV = \frac{(m_r - m_{ps}c_1) - (m_{cp} - m_{ps}c_2)}{m_{nv}} \cdot 100$$

kde:

- $m_{ps}$  hmotnost prázdného sáčku [g]
- $m_{nv}$  hmotnost navážky vzorku [g]
- $m_r$  hmotnost vysušeného sáčku s rezidui vzorku po hydrolyze [g]
- $m_{cp}$  hmotnost popela po spálení vysušeného sáčku s rezidui vzorku po hydrolyze [g]
- $c_1$  korekce hmotnosti sáčku po hydrolyze
- $c_2$  korekce hmotnosti sáčku po spálení

$$c_1 = \frac{m_s}{m_{ps}} \quad c_2 = \frac{m_p}{m_{ps}}$$

- $m_s$  hmotnost vysušeného sáčku po hydrolyze [g]
- $m_p$  hmotnost popela sáčku [g]

## 6.4 Stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost (TK) byla stanovena u nativních vzorků křenu a zázvoru alkalimetrickou titrací za použití 0,1 M roztoku NaOH. Pro analýzu bylo naváženo množství vzorku s přesností na 0,001 g kvantitativně převedeno do 250 ml odměrné baňky. K analýze bylo použito 50 ml filtrátu. Bod ekvivalence byl určen hodnotou pH 8,1, což je obecně uznávaná hodnota pro stanovení titrační kyselosti u zeleniny. Pro měření pH byl použit pH metr gryf 209. Roztok NaOH byl standardizován na kyselinu šťavelovou za použití indikátoru fenolftaleinu. V okolí pH 8,1 byl zvolen přídavek odměrného roztoku (OR) po 0,1 ml. Přesná spotřeba odměrného roztoku pro titraci byla spočítána extrapolací pro hodnotu pH = 8,1. Výsledkem je průměrná hodnota ze tří stanovení.

Titrační kyselost (TK) byla vyjádřena jako obsah převládající kyseliny - kyseliny jablečné [g/100 g jedlého podílu] ve vzorcích křenu. U vzorků zázvoru byla TK vyjádřena jako obsah převládající kyseliny - kyseliny šťavelové [g/100 g jedlého podílu] podle vztahu:

$$TK = \frac{V_{ex} \cdot c_{NaOH} \cdot \frac{1}{2} \cdot M_k \cdot f}{m_v} \cdot 100$$

kde:

- $V_{ex}$  spotřeba OR NaOH zjištěná z titračního stanovení a vypočtená z extrapolace [l]
- $c_{NaOH}$  koncentrace OR NaOH [mol/l]
- $M_k$  převládající kyselina [kys. jablečná = 134,09 g/mol, kys. šťavelová = 90,03 g/mol]
- $f$  poměrový faktor [5]
- $m_v$  navážka vzorku [g]

## 6.5 Stanovení antioxidační aktivity vzorků metodou DPPH

### 6.5.1 Příprava výluhů pro stanovení antioxidační aktivity

Nativní vzorky křenu a zázvoru byly zbaveny všech nejedlých součástí a byly dezintegrovány pomocí kuchyňského nerezového struhadla. Vzorky strouhaných křenů byly navažovány bez dalších úprav.

Pro přípravu výluhu pro stanovení bylo naváženo na analytických vahách 5 g vzorku s přesností na 0,0001 g. V případě sušených vzorků bylo naváženo na analytických vahách 0,5 g s přesností na 4 desetinná místa. Při optimalizaci stanovení byl navážený vzorek rozmělněn v třecí misce za přidav-



ku 25 ml etanolu nebo vroucí vody a kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 50 ml a doplněn po rysku. Takto připravený vzorek byl za občasného promíchání ponechán 20 minut v temnu extrahovat. Po 20 minutách byl vzorek přefiltrován a neředěný filtrát byl použit pro stanovení antioxidační aktivity za použití metody DPPH.

### 6.5.2 Optimalizace a stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

DPPH poskytuje v roztocích relativně stabilní radikály, které se vyznačují fialovým zabarvením. Při eliminaci radikálů DPPH dochází k odbarvování roztoku, a tedy ke změně absorbance. Na základě zjištěných změn absorbance roztoku DPPH po přidavku definovaného množství vzorku, může být zjištěna schopnost vzorku eliminovat volné radikály (antioxidační aktivita). Zpravidla se antioxidační aktivita vyjadřuje jako obsah mg ekvivalentu kyseliny askorbové v definovaném množství vzorku.

Při hledání optimálních reakčních podmínek byly vyzkoušeny koncentrace DPPH: 0,15; 0,2 a 0,25 mmol/l v rozpouštědlech metanol a etanol. Dále byl testován vliv extrakčního rozpouštědla pro přípravu výluhu. Optimálních výsledků při stanovených navážkách vzorků bylo dosaženo při koncentraci DPPH 0,2 mmol/l v etanolu, proto v dalším měření byla použita tato varianta. Při zkoumání vlivu rozpouštědel demineralizované vody a etanolu pro extrakci vzorku (20 min.) nebyl zjištěn zásadní rozdíl ve výsledcích antioxidační aktivity, a proto byla zvolena demineralizovaná voda.

Reakční směs pro spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity se skládala z roztoku DPPH, acetátového pufru a filtrátu vzorku. Reakční směs byla připravena v zábrusových zkumavkách následovně: do zkumavky bylo napipetováno 1 ml acetátového pufru o  $\text{pH} = 5,5$ , dále 0,1 ml filtrátu vzorku a 1,9 ml 0,2 mmol/l roztoku DPPH. Takto připravená reakční směs byla ponechána 1 hodinu v temnu za občasného promíchání v uzavřených zkumavkách při laboratorní teplotě. Následně byla změřena absorbance na spektrofotometru Libra S6 při vlnové délce 515 nm proti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven obdobným způsobem s tím rozdílem, že místo filtrátu byla přidána demineralizovaná voda. Zjištěná hodnota absorbance filtrátu vzorku byla použita pro výpočet hodnoty inaktivace.

Pro určení hodnoty inaktivace bylo potřebné zjistit hodnotu absorbance kontrolního vzorku a jeho slepého pokusu. Kontrolní vzorek byl připraven smícháním 1 ml acetátového pufru, 0,1 ml demineralizované vody (náhrada za filtrát vzorku) a 1,9 ml 0,2 mmol/l DPPH. Slepý pokus ke kontrolnímu

vzorku byl připraven smícháním 1 ml acetátového pufru, 0,1 ml demineralizované vody a 1,9 ml etanolu (korekce za DPPH, u kterého bylo jako rozpouštědla použito etanolu).

Ze získaných hodnot absorbance kontrolního vzorku a filtrátu byla spočítána hodnota inaktivace [%], která byla přepočítána na mg ekvivalentu kyseliny askorbové ve 100 g jedlého podílu vzorku. Pro přepočet mg ekvivalentu kyseliny askorbové ve vzorku bylo nutné sestavit kalibrační křivku kyseliny askorbové, která byla měřena za stejných reakčních podmínek.

Inaktivace [%] byla vypočítána podle vztahu:

$$I = \frac{K - A}{K} \cdot 100$$

kde:

- K absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 515 nm
- A absorbance filtrátu vzorku při vlnové délce 515 nm

### 6.5.3 Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Pro kalibrační křivku byl připraven zásobní roztok kyseliny askorbové (KA) o koncentraci 0,1000 g/l. Ze zásobního roztoku byly ředěním připraveny tyto koncentrace roztoků KA [g/l]: 0,08; 0,07; 0,06; 0,05; 0,04; 0,02; 0,01 a 0,005 g/l. Příprava reakčních směsí, měření absorbance a výpočet inaktivace [%], byla provedena postupem uvedeným v kapitole 6.5.2, kde příslušné koncentrace kalibračních roztoků nahradily filtrát vzorku.

Z koncentrací KA [g/l] a jim odpovídajících hodnot inaktivace [%] byl sestrojen graf závislosti inaktivace na koncentraci KA v kalibračním roztoku.

Body grafu byly proloženy lineární regresí a byla zjištěna rovnice lineární regrese, ze které byly spočítány jednotlivé mg ekvivalentu KA ve 100 g jedlého podílu zkoumaných vzorků zázvoru a křenu.

## 6.6 Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla

### 6.6.1 Příprava výluhů pro stanovení celkového obsahu polyfenolů

Nativní vzorky křenu a zázvoru byly zbaveny všech nejedlých součástí a byly dezintegrovány za použití kuchyňského nerezového struhadla. Strouhané vzorky křenu byly navažovány bez dalších úprav. Navážky vzorků, jejich extrakce a filtrace byla provedena postupem uvedeným v kap. 6.5.1. Filtrát byl použit pro stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla.

### 6.6.2 Optimalizace a stanovení celkového obsahu polyfenolů

Při hledání optimálních reakčních podmínek byly vyzkoušeny různé koncentrace filtrátu vzorku (koncentrovaný, ředěný) a extrakční roztoky (etanol, demineralizovaná voda). Dále byly testovány různá ředění Folin-Ciocalteuova činidla (FC) a koncentrace  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Optimálních výsledků, při stanovených navážkách vzorků, bylo dosaženo při použití neředěného filtrátu vzorku. Jako optimální koncentrace FC pro další měření bylo zvoleno desetinasobné zředění roztoku FC. Při zkoumání vlivu rozpouštědel demineralizované vody a etanolu pro extrakci vzorku nebyl zjištěn významný rozdíl ve výsledcích celkového obsahu polyfenolů, a jako rozpouštědlo byla zvolena demineralizovaná voda.

Reakční směs pro spektrofotometrické stanovení celkového obsahu polyfenolů se skládala z: 0,1 ml filtrátu vzorku, 1 ml demineralizované vody a 1 ml zředěného roztoku Folin-Ciocalteuova činidla. Takto připravená reakční směs, v uzavřených zábrusových zkumavkách, byla ponechána za občasného promíchání 5 minut v temnu. Poté byl k reakční směsi přidán 1 ml 10 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Za občasného promíchání byla reakční směs uložena po dobu 15 minut v temnu. Následně byla změřena absorbance na spektrofotometru Libra S6 při vlnové délce 750 nm proti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven obdobným způsobem s tím rozdílem, že místo 0,1 ml filtrátu vzorku byla přidána demineralizovaná voda ve stejném objemu.

Celkový obsah polyfenolů ve vzorku byl vyjádřen jako obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g vzorku. Pro vyjádření CP bylo nutné sestavit kalibrační křivku kyseliny gallové za stejných reakčních podmínek.

### 6.6.3 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Pro potřeby stanovení kalibrační křivky byl připraven zásobní roztok kyseliny gallové (KG) o koncentraci 1,0000 g/l. Ze zásobního roztoku byly ředěním připraveny koncentrace roztoků [g/l]: 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05; 0,03 a 0,01 [g/l]. Příprava reakčních směsí pro stanovení kalibrační křivky KG a měření pro jednotlivé koncentrace byla provedena postupem uvedeným v kap. 6.6.2, kde místo filtrátu vzorku byl přidán kalibrační roztok ve stejném objemu.

Z koncentrací KG [mg/ml] v kalibračním roztoku a jim odpovídajících hodnot absorbancí byl sestrojen graf závislosti absorbance na koncentraci KG [mg/ml] v kalibračním roztoku. Body grafu byly proloženy lineární regresí a byla zjištěna rovnice lineární regrese, ze které byl vyjádřen obsah mg ekvivalentu KG ve 100 g jedlého podílu zkoumaných vzorků zázvoru a křenu.

## 6.7 Stanovení fenolů za použití metody HPLC

Pro stanovení fenolů ve vzorcích zázvoru a křenu byla použita metoda HPLC s UV-VIS detekcí, kde standardy i vzorky zázvoru a křenu byly měřeny při vlnových délkách 205; 210; 275 a 375 nm.

Pro separaci byla použita kolona wartex nucleosil 120-5 C18 (250 x 4 mm) o velikosti částic 5  $\mu\text{m}$  a velikosti pórů 12 nm.

Při měření byla použita gradientová eluce, kde přesné složení mobilních fází v průběhu gradientové eluce je uvedeno v Tab. 8.

Mobilní fáze A byla složená z vody, acetonitrilu a kyseliny trifluoroctové v poměru 95 : 50 : 0,035.

Mobilní fáze B byla složená ze stejných složek v poměru 50 : 50 : 0,025.

Eluce probíhala za teploty 30 °C, průtok mobilní fáze byl 1 ml/min a objem nástřiku vzorku byl 10  $\mu\text{l}$ .

Délka analýzy byla 32 minut.

Tab. 8. Složení mobilních fází v průběhu gradientové eluce

Čas [min]	Mobilní fáze A [%]	Mobilní fáze B [%]
0	15	85
5	20	80
15	30	70
20	50	50
25	30	70
27	15	85

### 6.7.1 Příprava výluhů pro stanovení fenolů pomocí HPLC

Nativní vzorky zázvoru a křenu byly zbaveny nejdých součástí a následně byly dezintegrovány za pomoci nerezového struhadla. Pro přípravu výluhu bylo naváženo 5 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Navážka vzorku byla rozmělněna v třecí misce za použití přibližně 20 ml metanolu určeného pro HPLC analýzu. Jemně rozetřený vzorek byl kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky a doplněn metanolem. Takto připravený vzorek byl za občasného promíchání ponechán v temnu 1 hodinu extrahovat. Následně byl vzorek zfiltrován a filtrát vzorku byl použit pro stanovení fenolů pomocí HPLC.

### 6.7.2 Stanovení kalibračních křivek standardů

Pro měření kalibračních křivek standardů rutinu, kyseliny gallové, kyseliny sinapové a kyseliny ferulové bylo naváženo 0,001 g příslušného standardu s přesností na 4 desetinná místa. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněna metanolem po rysku. Ze zásobního roztoku standardu o koncentraci 100 µg/ml byly ředěním za použití mobilní fáze A získány koncentrace 20; 30 a 50 µg/ml, které byly proměřeny za podmínek, které jsou uvedeny v kap. 6.7.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUSE

Byl stanoven obsah sušiny u nativních vzorků zázvoru a křenu a refraktometrická sušina u nativních vzorků zázvoru. Hrubá vláknina a titrační kyselost byla stanovena u všech nativních vzorků křenu a zázvoru. U všech vzorků křenu a zázvoru byl stanoven celkový obsah polyfenolů, vyjádřený jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g jedlého podílu a antioxidační aktivita vyjádřená jako mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 100 g jedlého podílu. Dále byl stanoven obsah jednotlivých fenolů ve vzorcích zázvoru a křenu za použití metody HPLC/UV.

### 7.1 Výsledky stanovení zázvoru

#### 7.1.1 Stanovení sušiny zázvoru

Stanovení obsahu sušiny u nativních vzorků zázvoru bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.1. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 9. Výsledkem je průměr ze 3 stanovení ( $S_p$ ) se směrodatnou odchylkou (s).

Výsledný obsah sušiny v jednotlivých vzorcích čerstvého zázvoru se pohyboval v rozmezí 4,93 - 10,99 %. Nejvyšší obsah sušiny byl zaznamenán u vzorku zázvoru 2, který byl prodáván volně a v nechlazených prostorách, což mohlo vést k vyššímu odparu vody při skladování a následnému zvýšení sušiny. Na obsah sušiny má vliv i délka skladování vzorku po sklizni, kde u čerstvých vzorků je předpoklad vyššího zastoupení vody a tedy nižšího obsahu sušiny. Délku skladování jednotlivých vzorků při zakoupení nebylo možné zjistit. Zázvor 1 a zázvor 3 vykazovaly podobné obsahy sušiny, oba vzorky byly prodávány za chladírenských teplot. Vzorek s nejnižším obsahem sušiny byl vzorek zázvoru 4.

K.P. Prabhakaran Nair [6] uvádí obsah sušiny v různých odrůdách čerstvého zázvoru vypěstovaných na území Brazílie v rozmezí 10 – 20 %. Dále uvádí, že složení zázvoru je závislé na klimatických podmínkách pěstování, odrůdě zázvoru, složení půdy, přepravě a skladování v průběhu distribuce. Z tohoto důvodu může být sušina zázvoru značně proměnlivá.

Tab. 9. Výsledky stanovení sušiny u nativních vzorků zázvoru

Vzorek	$m_2$ [g]	$m_3$ [g]	$m_1$ [g]	S [%]	$S_p$ [%]	s
Zázvor 1	23,1499	5,1377	23,5459	7,71	7,84	0,35
	22,2974	5,1951	22,6912	7,58		
	23,7307	4,9509	24,1387	8,24		
Zázvor 2	22,3615	5,1967	22,9463	11,25	10,99	0,24
	25,8256	5,1483	26,3885	10,93		
	24,9472	4,9879	25,4856	10,79		
Zázvor 3	21,5500	5,0124	21,9311	7,60	7,38	0,26
	23,7123	4,9746	24,0826	7,44		
	24,1816	4,9321	24,5316	7,10		
Zázvor 4	23,3515	5,1672	23,6145	5,09	4,93	0,14
	22,8341	5,2173	23,0891	4,89		
	23,7243	5,1960	23,9743	4,81		

### 7.1.2 Stanovení refraktometrické sušiny zázvoru

Refraktometrie nachází největší uplatnění v oblasti měření koncentrace cukerných roztoků a zjišťování čistoty chemických látek. Při měření čirých jednosložkových roztoků je refraktometrie poměrně přesná metoda (v případě binárních roztoků lze koncentrace jednotlivých složek dopočítat z kalibrační křivky).

Refraktometrická sušina byla stanovena postupem uvedeným v kap. 6.2. Výsledkem je průměr ze tří stanovení ( $RS_p$ ) Výsledné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 10.

Hodnoty refraktometrické sušiny se pohybovaly v rozmezí 2,9 – 4,2 °BX. Obsah cukrů, a tedy i refraktometrická sušina, je značně závislý na odrůdě, délce skladování, pěstebních a skladovacích podmínkách. Výsledky refraktometrické sušiny jsou také ovlivněny přítomností látek necukerné povahy, což mohl být také jeden z důvodů, proč se hodnoty refraktometrické sušiny pohybovaly v rozmezí 1,3 °BX.

Tab. 10. Výsledky stanovení refrakt. sušiny vzorků zázvoru

Vzorek	RS <sub>1</sub> [°BX]	RS <sub>2</sub> [°BX]	RS <sub>3</sub> [°BX]	RS <sub>p</sub> [°BX]	s
Zázvor 1	4,2	4,1	4,2	4,2	0,1
Zázvor 2	2,9	2,9	2,9	2,9	0
Zázvor 3	3,6	3,7	3,6	3,6	0,1
Zázvor 4	3,7	3,8	3,8	3,8	0,1

### 7.1.3 Stanovení obsahu hrubé vlákniny zázvoru

Obsah hrubé vlákniny ve vzorcích zázvoru byl stanoven postupem uvedeným v kap. 6.3. Výsledkem je průměr ze 2 stanovení (HV<sub>p</sub>). Výsledky stanovení hrubé vlákniny vzorků zázvoru jsou uvedeny v Tab. 11.

Tab. 11. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny (HV) ve vzorcích zázvoru

Vz.	m <sub>ps</sub> [g]	m <sub>nv</sub> [g]	m <sub>r</sub> [g]	m <sub>cp</sub> [g]	HV [%]	HV <sub>p</sub> [%]
Zázvor 1	0,4690	0,9995	0,5748	0,0166	9,43	9,57
	0,4812	1,0009	0,5876	0,0144	9,71	
Zázvor 2	0,4856	1,0009	0,5759	0,0145	8,10	8,12
	0,4588	0,9991	0,5508	0,0155	8,15	
Zázvor 3	0,4789	0,9998	0,5991	0,0140	11,14	11,36
	0,4832	1,0009	0,6094	0,0155	11,58	
Zázvor 4	0,4869	1,0010	0,6324	0,0150	13,56	13,35
	0,5083	0,9992	0,6514	0,0172	13,15	
korek.	0,5106	-	0,5157	0,0106	-	-



Byl stanoven obsah hrubé vlákniny ve vzorcích zázvoru, který reprezentuje množství přítomné celulózy, ligninu a některých hemicelulóz v sušině vzorku. Obsah hrubé vlákniny ve vzorcích zázvoru se pohyboval v rozmezí 8,12 % až 13,35 %.

K.P. Prabhakaran Nair [6] uvádí průměrný obsah hrubé vlákniny v zázvoru z Bangladéše 10,3 %. Dále uvádí obsahy hrubé vlákniny ve dvou odrůdách brazilského zázvoru, v odrůdě Gigante v rozmezí 5,5 – 11,72 % a v odrůdě Calpira 9,56 – 13,17 %. Je patrné, že obsah hrubé vlákniny v zázvoru je variabilní a závisí na odrůdě. Ale jelikož není známo, jaká byla odrůda jednotlivých vzorků (prodejce neuvádí), mohlo se jednat o vzorky rozdílných odrůd, nicméně námi zjištěný rozsah obsahu hrubé vlákniny dobře koresponduje s hodnotami publikovanými K.P. Prabhakaran Nair, i když se v našem případě jednalo o zázvor původem z Číny.

#### 7.1.4 Stanovení titrační kyselosti zázvoru

Titrační kyselost byla stanovena postupem uvedeným v kap. 6.4. Hodnoty pH a objem přidávaného odměrného roztoku NaOH při titraci u jednotlivých vzorků zázvoru v okolí bodu ekvivalence  $\text{pH} = 8,1$  jsou uvedeny v Tab. 12. Měření bylo provedeno 3x.

Tab. 12. Spotřeba OR NaOH v okolí bodu ekvivalence při stanovení TK zázvoru

V [ml]	Zázvor 1			Zázvor 2			Zázvor 3			Zázvor 4		
	pH			pH			pH			pH		
0,4	7,82	7,84	7,83	7,84	7,86	7,84	7,89	7,92	7,91	7,85	7,87	7,88
0,5	8,05	8,06	8,05	8,08	8,09	8,06	8,09	8,12	8,11	8,06	8,09	8,08
0,6	8,24	8,23	8,22	8,27	8,29	8,26	8,29	8,31	8,3	8,27	8,28	8,26

Hodnoty titrační kyselosti vyjádřené jako obsah kyseliny šťavelové jsou uvedeny v Tab. 13. Výsledkem je průměr ( $\text{TK}_p$ ) ze tří stanovení.

Tab. 13. Titrační kyselost vzorků zázvoru

Vzorek	V <sub>ex</sub> [ml]	c <sub>NaOH</sub> [mol/l]	m <sub>v</sub> [g]	TK [g/100 g]	TK <sub>p</sub> [g/100 g]	s
Zázvor 1	0,526	0,1040	25,3451	0,049	0,049	0,001
	0,529			0,049		
	0,523			0,048		
Zázvor 2	0,505	0,0922	26,7750	0,039	0,040	0,001
	0,514			0,040		
	0,520			0,040		
Zázvor 3	0,495	0,1040	26,8892	0,043	0,043	0,001
	0,505			0,044		
	0,490			0,043		
Zázvor 4	0,505	0,1040	25,1889	0,047	0,047	0,001
	0,519			0,048		
	0,511			0,047		

Obsah celkového množství kyselých reagujících látek, vyjádřený jako obsah kyseliny šťavelové, se pohyboval v rozmezí 0,040 – 0,049 g/100 g. Zjištěné množství kyselin v zázvoru je velmi malé, ve srovnání například s okurkou, která je konzervářsky řazena mezi potraviny technologicky málo kyselé, uvádí Lavinia a kol. [77] titrační kyselost 0,28 g/100 g čerstvé hmoty, vyjádřenou jako obsah kyseliny jablečné.

### 7.1.5 Stanovení antioxidační aktivity zázvoru metodou DPPH

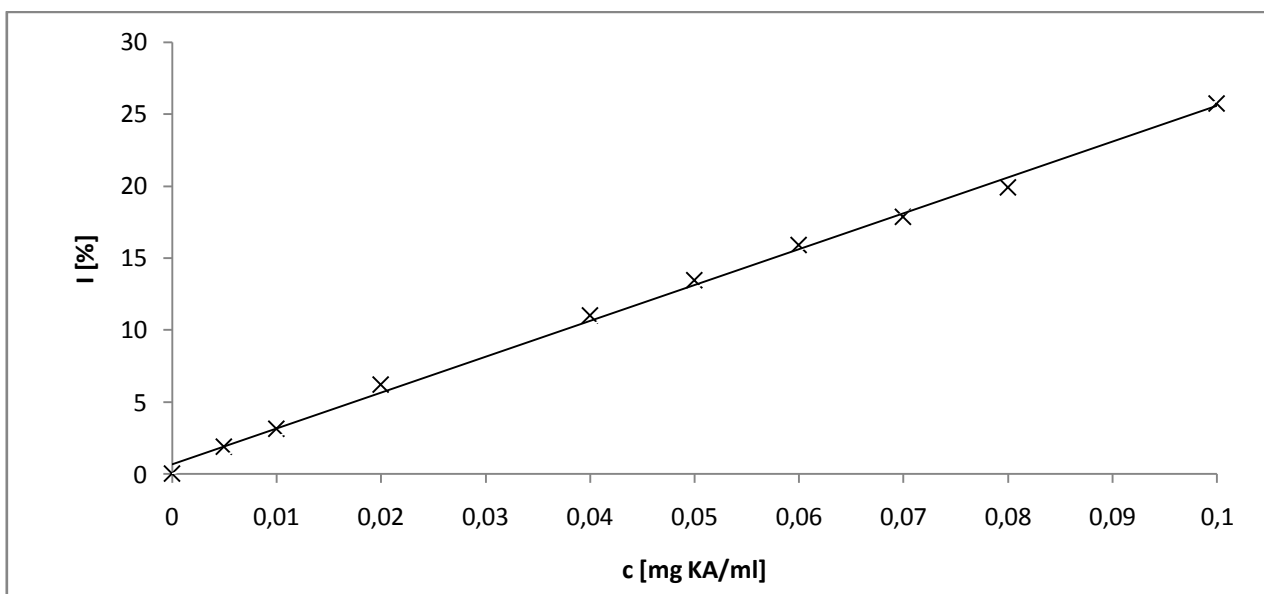
V Tab. 14. jsou uvedeny koncentrace kyseliny askorbové [mg/ml] a jim odpovídající hodnoty inaktivace [%], použité pro sestavení kalibrační křivky postupem uvedeným v kap. 6.5.3.

Graf závislosti inaktivace [%] na koncentraci kyseliny askorbové v roztoku [mg/ml] je uveden na Obr. 13. Z grafu zjištěná rovnice lineární regrese byla použita pro výpočet obsahu mg ekvivalentu

kyseliny askorbové ve 100 g jedlého podílu vzorků zázvoru. Hodnota absorbance kontrolního vzorku pro sestavení kalibračního grafu byla 1,271.

Tab. 14. Hodnoty pro kalibrační křivku KA

$c_{KA}$ [mg/ml]	Absorbance	Inaktivace [%]
0,005	1,247	1,888
0,01	1,231	3,147
0,02	1,192	6,216
0,04	1,131	11,015
0,05	1,100	13,454
0,06	1,069	15,893
0,07	1,044	17,860
0,08	1,018	19,906
0,1	0,944	25,728



Obr. 13. Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci

Rovnice regresní přímky, zjištěná z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 249,04x + 0,6776,$$

kde  $y$  je hodnota inaktivace [%] a  $x$  je koncentrace kyseliny askorbové [mg/ml].

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9975$ .

Antioxidační aktivita metodou DPPH byla stanovena u 4 nativních vzorků zázvoru a u 2 sušených mletých vzorků zázvoru. Stanovení antioxidační aktivity u vzorků zázvoru bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.5.

Obsah mg ekvivalentu KA ve 100 g jedlého podílu vzorků byl vypočítán na základě navážky vzorku z rovnice regresní přímky a výsledky jsou uvedeny v Tab. 15. Hodnota absorbance kontrolního vzorku byla 1,347. Výsledkem je průměr ze 3 stanovení.

Obsah mg ekvivalentu kyseliny askorbové ve 100 g nativního vzorku zázvoru se pohyboval v rozmezí 84,66 – 135,61 mg/100 g vzorku. Vzorky zázvoru 1 a 4 a zázvoru 2 a 3 mají podobné hodnoty antioxidační aktivity. Podobnost výsledků mohla být zapříčiněna situací, kdy vzorky mohly být sklizeny ve stejném období, případně se může jednat o vzorky stejné odrůdy nebo pěstované v podobných (blízkých) lokalitách. Všechny vzorky jsou původem z Číny, avšak vzhledem k velikosti území, různorodým klimatickým podmínkám a nedostatku informací od prodejce není možné rozdíly mezi vzorky přesně specifikovat.

Vzorky 5 a 6 byly sušené mleté zázvory, které vykazovaly podstatně vyšší antioxidační aktivitu v rozpětí 646,67 – 685,55 mg ekvivalentu KA/100 g vzorku. Při hodnocení antioxidační aktivity by ale mělo být přihlíženo k reálně možnému množství konzumace sušených a nativních vzorků zázvoru.

Tab. 15. Hodnoty obsahu mg ekvivalentu kyseliny askorbové (ekv. KA) ve 100 g vzorku zázvoru

Vzorek	m [g]	A <sub>1</sub>	I <sub>1</sub> [%]	A <sub>2</sub>	I <sub>2</sub> [%]	A <sub>3</sub>	I <sub>3</sub> [%]	ekv. KA <sub>p</sub> [mg/100 g]	s
Zázvor 1	3,142	1,054	21,752	1,052	21,900	1,050	22,049	135,61	0,95
Zázvor 2	3,139	1,154	14,328	1,151	14,551	1,154	14,328	87,78	0,82
Zázvor 3	3,007	1,187	13,357	1,185	13,504	1,189	13,212	84,66	0,98
Zázvor 4	3,027	1,109	19,051	1,112	18,832	1,109	19,051	121,38	0,84
Zázvor 5	0,516	1,112	17,446	1,115	17,223	1,115	17,223	646,67	5,00
Zázvor 6	0,515	1,100	18,377	1,099	18,411	1,104	18,040	685,55	7,99

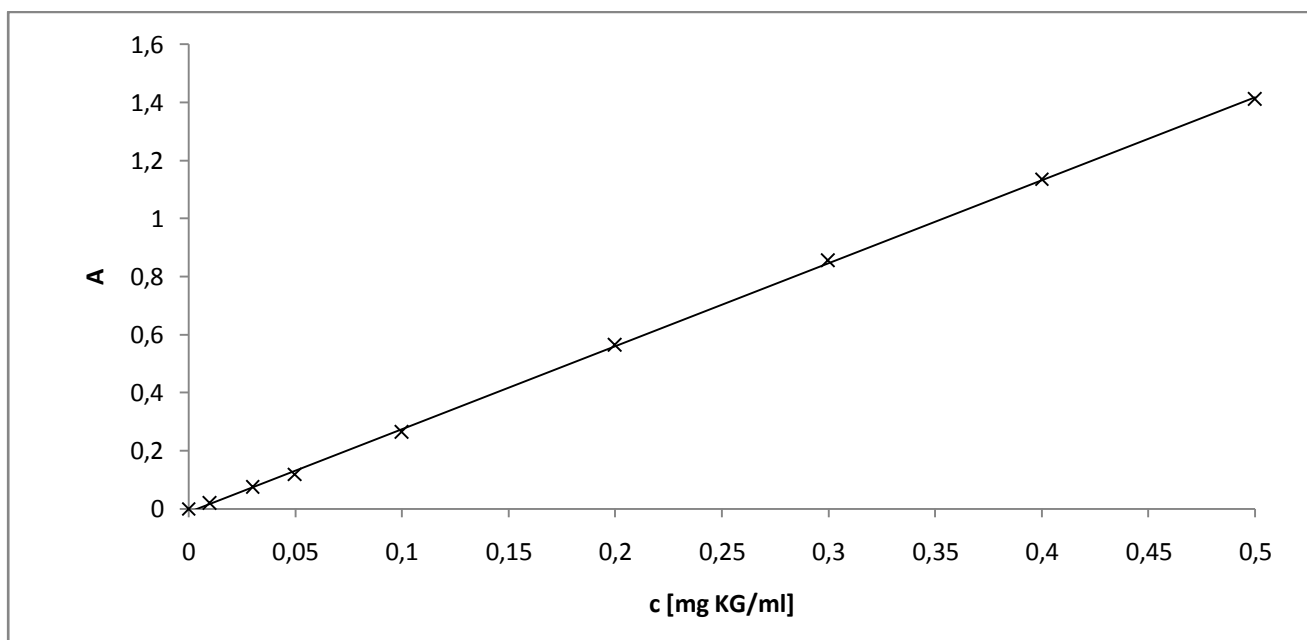
Chan a Lim a kol. [78] uvádí antioxidační aktivitu u několika různých odrůd zázvoru vyjádřenou jako obsah mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 100 g čerstvého zázvoru v rozmezí 84 - 124 mg/100 g vzorku. Tyto údaje potvrzují variabilitu výsledků antioxidační aktivity zázvoru v rámci různých odrůd. Námi zjištěné hodnoty AA vzorků zázvoru jsou v souladu s publikovanými údaji.

### 7.1.6 Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven za použití Folin-Ciocalteuova činidla (FC) u všech šesti vzorků zázvoru. Stanovení bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.6. Získané hodnoty, ze kterých byla sestrojena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové, jsou uvedeny v Tab. 16. Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů je uvedena na Obr. 14.

Tab. 16. Hodnoty pro sestavení kalibrační křivky KG

Koncentrace KG [mg/ml]	Absorbance
0,01	0,018
0,03	0,073
0,05	0,119
0,10	0,264
0,20	0,563
0,30	0,855
0,40	1,136
0,50	1,411



Obr. 14. Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové

Z kalibračního grafu zjištěná rovnice lineární regrese má tvar:

$$y = 2,8595x - 0,012,$$

kde  $y$  je absorbance a  $x$  je koncentrace kyseliny gallové [mg/ml] v roztoku.

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9998$ .

Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové ve 100 g vzorku je uveden v Tab. 17.

Tab. 17. Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové (ekv. KG) ve 100 g vzorku zázvoru

Vz	m [g]	A <sub>1</sub>	ekv. KG <sub>1</sub> [mg/100 g]	A <sub>2</sub>	ekv. KG <sub>2</sub> [mg/100 g]	A <sub>3</sub>	ekv. KG <sub>3</sub> [mg/100 g]	ekv. KG <sub>p</sub> [mg/100 g]	s
1	3,142	0,193	114,09	0,193	114,09	0,196	115,75	114,64	0,95
2	3,139	0,185	109,74	0,182	108,07	0,185	109,74	109,18	0,96
3	3,007	0,195	120,37	0,196	120,96	0,191	118,04	119,79	1,54
4	3,027	0,277	166,94	0,274	165,21	0,277	166,94	166,36	1,00
5	0,516	0,208	745,51	0,203	728,57	0,204	731,95	735,34	8,97
6	0,515	0,243	865,79	0,246	875,98	0,243	865,79	869,19	5,88

Zjištěný obsah celkového množství polyfenolů v nativních vzorcích zázvoru, vyjádřený jako obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g vzorku, se pohyboval v rozmezí 109,18 – 166,36 mg/100 g vzorku. U sušených vzorků byly hodnoty v rozmezí 735,34 – 869,19 mg/100 g vzorku.

Chan a Lim a kol. [78] uvádí celkový obsah polyfenolů vyjádřený v mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g čerstvého kořene zázvoru 157 mg/100 g vzorku. Námi zjištěné obsahy jsou mírně nižší, s výjimkou vzorku zázvoru 4, který vykazoval podobný obsah CP.

Celkový obsah polyfenolů v sušených vzorcích zázvoru 5 a 6 byl výrazně vyšší než v případě nativních vzorků a pohyboval se v rozmezí 735,34 – 869,19 mg/100 g vzorku.

Při hodnocení celkového obsahu polyfenolů by ale mělo být přihlíženo i k reálně možnému množství konzumace sušených a nativních vzorků zázvoru.

### 7.1.7 Stanovení jednotlivých fenolů v zázvoru pomocí HPLC/UV

Jednotlivé fenoly byly v chromatogramu identifikovány na základě retenčního času standardu (rutinu, kyseliny gallové, kyseliny kumarové, resveratrolu, kyseliny kávové, kyseliny vanilové, kyseliny skořicové, kyseliny sinapové, quercetinu, kyseliny ferulové a katechinu), měřeného za stejných podmínek. Pomocí programu HyStar byly zjištěny plochy píků detekovaných fenolů a z příslušné rovnice regrese byl vypočítán obsah fenolu ve 100 g vzorku na základě navážky vzorku.

#### 7.1.7.1 Kalibrační křivka rutinu

Největší absorpce záření rutinu byla pozorována při vlnové délce 205 nm. Retenční čas rutinu byl 20,42 minut. K sestavení kalibrační křivky byla použita průměrná hodnota ze 3 měření. V Tab. 18. je uvedena průměrná plocha píku ( $P_p$ ) [mAUs] rutinu pro koncentrace 20, 30 a 50  $\mu\text{g/ml}$ .

*Tab. 18. Data pro sestavení kalibrační křivky rutinu při vlnové délce 205 nm*

Koncentrace rutinu [ $\mu\text{g/ml}$ ]	$P_p$ [mAUs]
20	14327,0
30	24313,0
50	43725,3

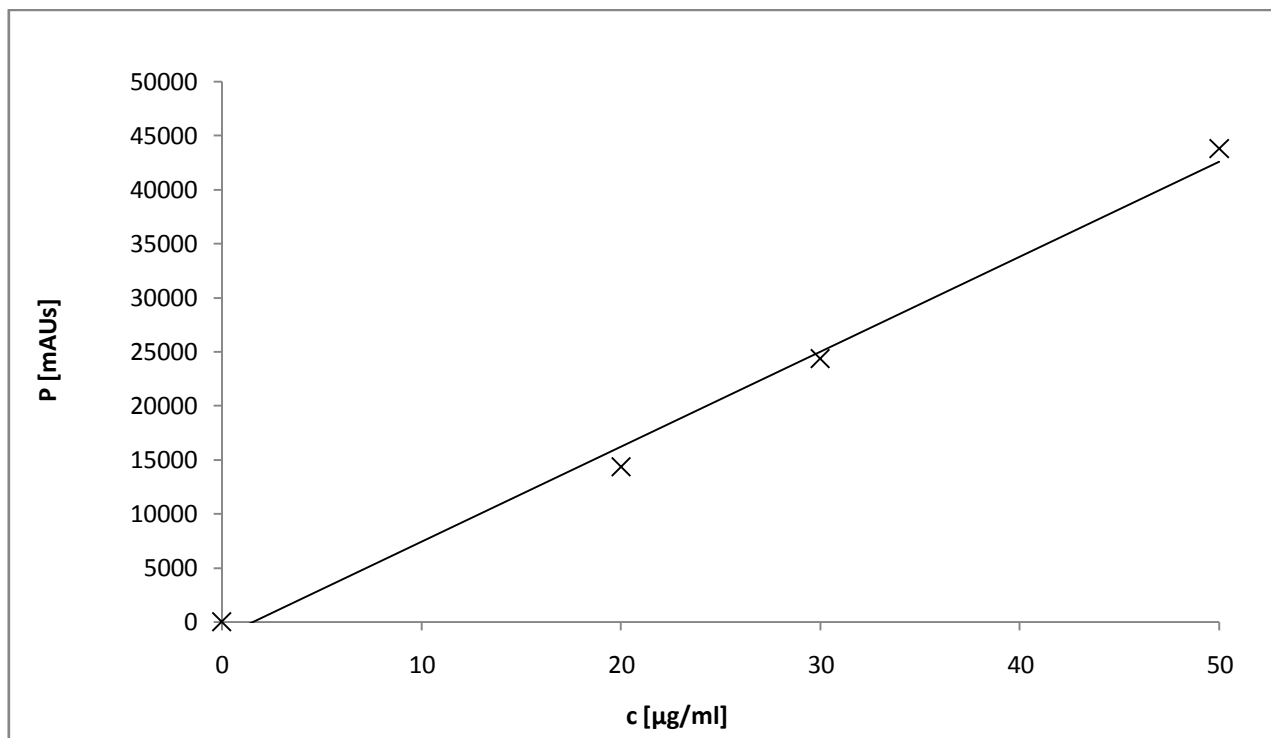
Na Obr. 15. je uvedena kalibrační křivka rutinu při vlnové délce 205 nm. Rovnice regresní přímky, zjištěná z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 879,8x - 1396,8$$

kde  $y$  je plocha píku [mAUs] a  $x$  je koncentrace rutinu [ $\mu\text{g/ml}$ ].

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9928$ .





Obr. 15. Kalibrační křivka rutinu při vlnové délce 205 nm

#### 7.1.7.2 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Největší absorpce záření kyseliny gallové bylo pozorováno při vlnové délce 210 nm. Zjištěný retenční čas kyseliny gallové byl 3,43 minuty. K sestavení kalibrační křivky byla použita průměrná hodnota ze 3 měření. V Tab. 19. jsou uvedeny průměrné hodnoty plochy píku (P) [mAUs] kyseliny gallové pro koncentrace 20, 30 a 50 µg/ml.

Tab. 19. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny gallové při vlnové délce 210 nm

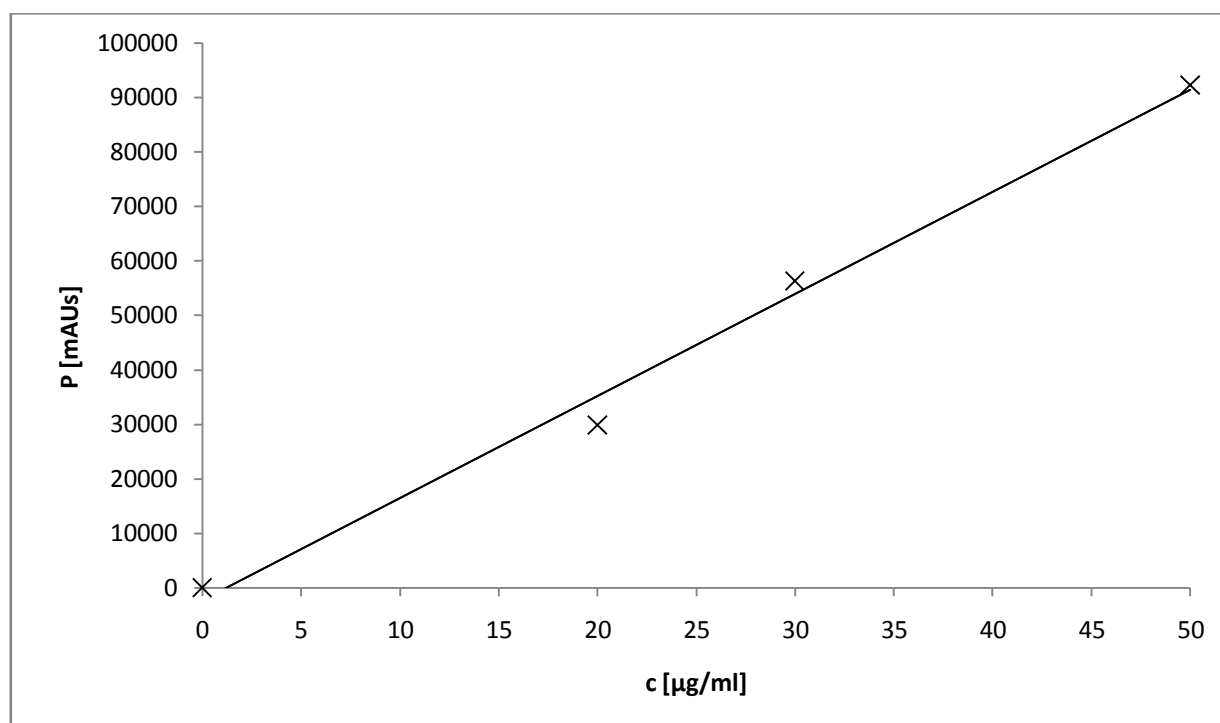
Koncentrace kys. gallové [µg/ml]	P <sub>p</sub> [mAUs]
20	29790,3
30	56252,6
50	92183,5

Na Obr. 16. je uvedena kalibrační křivka kyseliny gallové při vlnové délce 210 nm. Rovnice regresní přímky, zjištěná z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 1874,5x - 2306,8$$

kde  $y$  je plocha píku [mAU] a  $x$  je koncentrace kyseliny gallové [ $\mu\text{g/ml}$ ].

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9912$ .



Obr. 16. Kalibrační křivka kyseliny gallové při vlnové délce 210 nm

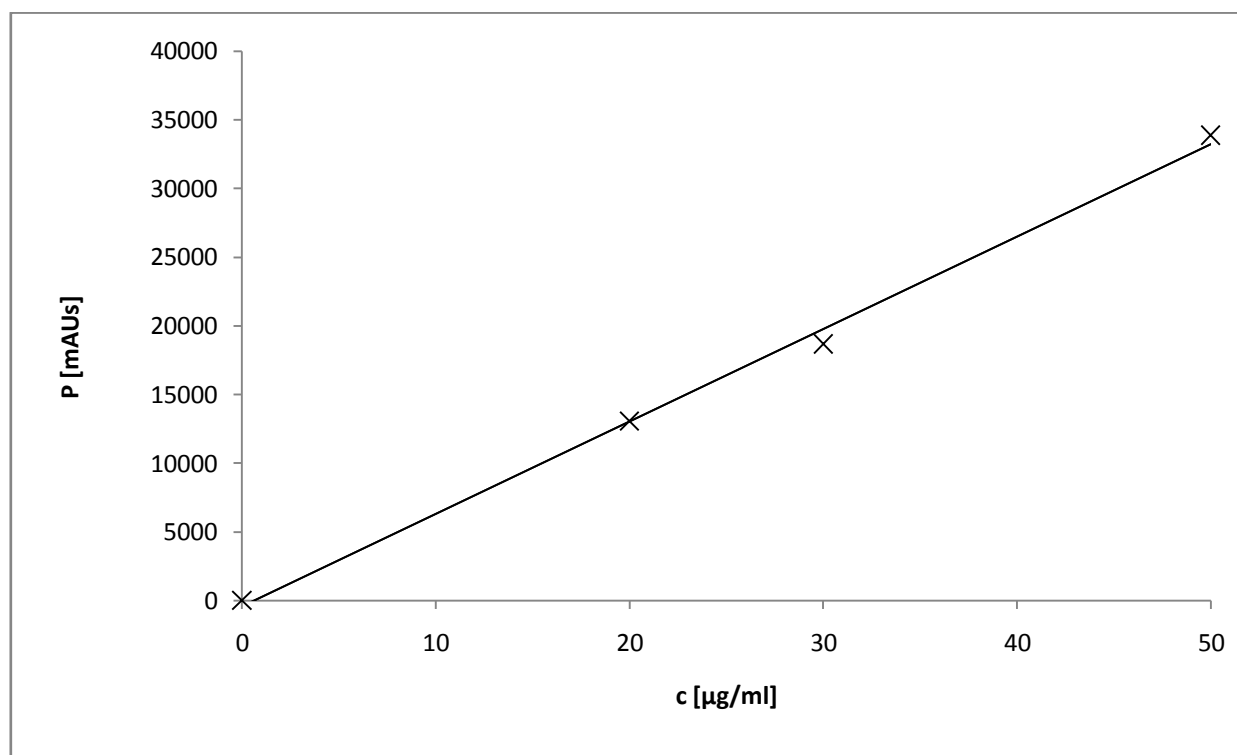
### 7.1.7.3 Kalibrační křivka kyseliny sinapové

Největší absorpce záření kyseliny sinapové bylo pozorováno při vlnové délce 205 nm. Zjištěný retenční čas kyseliny sinapové byl 21,79 minut. K sestavení kalibrační křivky byla použita průměrná hodnota ze 3 měření. V Tab. 20. jsou uvedeny průměrné hodnoty plochy píku ( $P$ ) [mAU] kyseliny sinapové pro koncentrace 20, 30 a 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Tab. 20. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny sinapové při vlnové délce 205 nm

Koncentrace kys. sinapové [ $\mu\text{g/ml}$ ]	$P_p$ [mAU]
20	13061,4
30	18666,4
50	33859,2

Na Obr. 17. je uvedena kalibrační křivka kyseliny sinapové při vlnové délce 205 nm.



Obr. 17. Kalibrační křivka kyseliny sinapové při vlnové délce 205 nm

Rovnice regresní přímky, zjištěná z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 672,7x - 420,678$$

kde  $y$  je plocha píku [mAU] a  $x$  je koncentrace kyseliny sinapové [ $\mu\text{g/ml}$ ].

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,997$ .

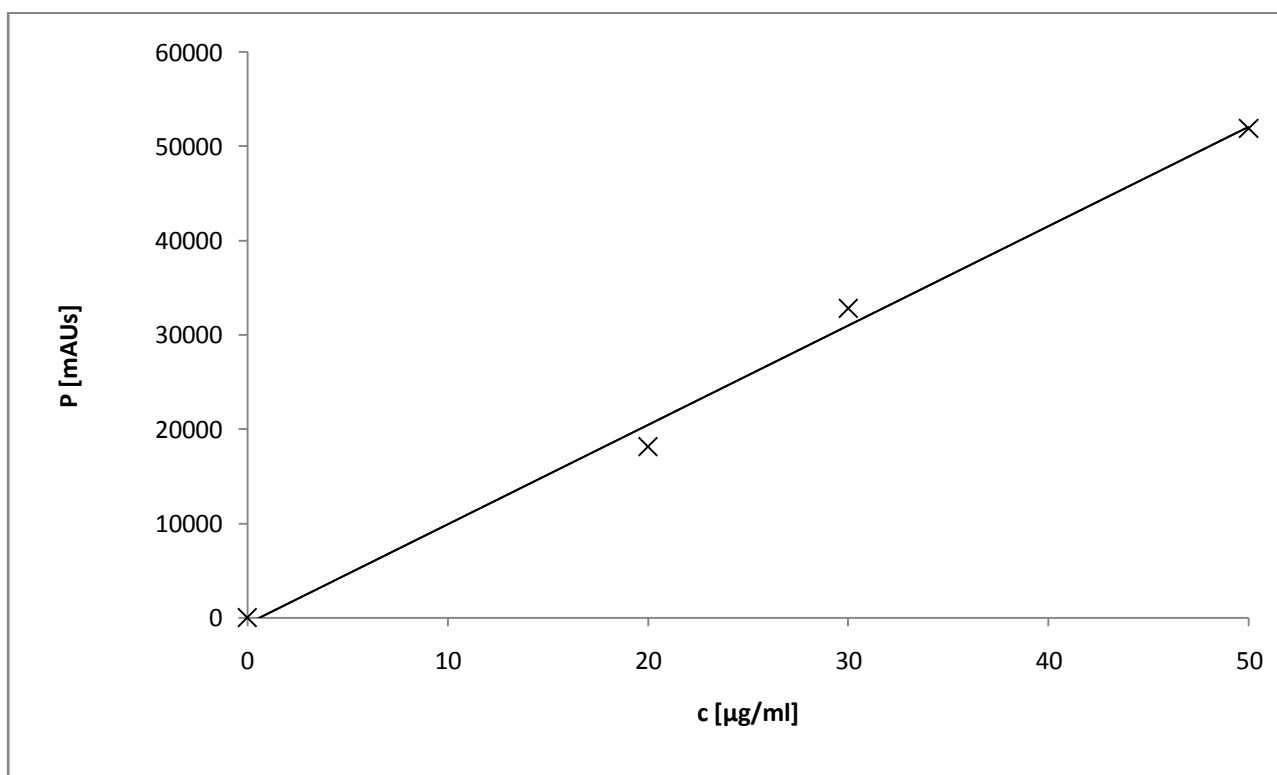
#### 7.1.7.4 Kalibrační křivka kyseliny ferulové

Největší absorpce záření kyseliny ferulové bylo pozorováno při vlnové délce 210 nm. Zjištěný retenční čas kyseliny ferulové byl 21,38 minut. K sestavení kalibrační křivky byla použita průměrná hodnota ze 3 měření. V Tab. 21. jsou uvedeny průměrné hodnoty plochy píku (P) [mAU] kyseliny ferulové pro koncentrace 20, 30 a 50  $\mu\text{g/ml}$ .

Tab. 21. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny ferulové při vlnové délce 210 nm

Koncentrace kys. ferulové [ $\mu\text{g/ml}$ ]	$P_p$ [mAU]
20	18115,5
30	32820,9
50	51880,3

Na Obr. 18. je uvedena kalibrační křivka kyseliny ferulové při vlnové délce 210 nm.



Obr. 18. Kalibrační křivka kyseliny ferulové při vlnové délce 210 nm

Rovnice regresní přímky, zjištěná z kalibrační křivky, má tvar:

$$y = 1054,3x - 652,28$$

kde  $y$  je plocha píku [mAU] a  $x$  je koncentrace kyseliny ferulové [ $\mu\text{g/ml}$ ].

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9936$ .

V Tab. 22., 23., 24. a 25. jsou uvedeny výsledky stanovení jednotlivých fenolů, které byly detekovány ve vzorcích zázvoru na základě dostupných standardů rutinu, kyseliny gallové, kyseliny kumarové, resveratrolu, kyseliny kávové, kyseliny vanilové, kyseliny skořicové, kyseliny sinapové, quercetinu, kyseliny ferulové a katechinu. Hodnoty obsahu jednotlivých fenolů ve vzorcích zázvoru byly vypočítány z rovnice lineární regrese pro příslušný fenol na základě navážky vzorku, které jsou uvedeny v Tab. 26.

Tab. 22. Průměrný obsah rutinu ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru

Vzorek	Rutin							
	$P_1$ [mAU]	$P_2$ [mAU]	$P_3$ [mAU]	$c_{f1}$	$c_{f2}$	$c_{f3}$	$c_{fp}$	$s$
Zázvor 1	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 2	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 5	349,0	366,1	353,2	1,98	2,00	1,99	1,99	0,01
Zázvor 6	538,9	574,2	551,0	2,19	2,23	2,20	2,21	0,02

ND – nedetekováno

Tab. 23. Průměrný obsah kyseliny gallové ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru

Vzorek	Kyselina gallová							
	$P_1$ [mAU]	$P_2$ [mAU]	$P_3$ [mAU]	$c_{f1}$	$c_{f2}$	$c_{f3}$	$c_{fp}$	$s$
Zázvor 1	1892,7	1966,4	1958,8	2,24	2,28	2,28	2,27	0,02
Zázvor 2	2126,7	2163,8	2153,8	2,37	2,39	2,38	2,38	0,01
Zázvor 5	812,2	803,5	788,5	1,66	1,66	1,65	1,66	0,01
Zázvor 6	1355,1	1408,7	1418,8	1,94	1,97	1,97	1,96	0,02

Tab. 24. Průměrný obsah kyseliny sinapové ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru

Vzorek	Kyselina sinapová							
	P <sub>1</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>2</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>3</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	c <sub>f1</sub>	c <sub>f2</sub>	c <sub>f3</sub>	c <sub>fp</sub>	s
Zázvor 1	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 2	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 5	5502,3	5549,1	5561,4	8,80	8,86	8,88	8,85	0,04
Zázvor 6	2644,3	2629,1	2640,9	4,53	4,50	4,52	4,52	0,02

ND – nedetekováno

Tab. 25. Průměrný obsah kyseliny ferulové ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru

Vzorek	Kyselina ferulová							
	P <sub>1</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>2</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>3</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	c <sub>f1</sub>	c <sub>f2</sub>	c <sub>f3</sub>	c <sub>fp</sub>	s
Zázvor 1	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 2	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Zázvor 5	3971,9	3997,5	3982,9	4,38	4,41	4,39	4,39	0,02
Zázvor 6	1605,3	1586,8	1597,7	2,13	2,11	2,12	2,12	0,01

ND – nedetekováno

Tab. 26. Navážky vzorků zázvoru k analýze fenolů pomocí HPLC/UV

Vzorek	Zázvor 1	Zázvor 2	Zázvor 5	Zázvor 6
Navážka [g]	4,9934	4,9983	5,0058	5,0331

U čerstvých vzorků zázvoru byla prokázána pouze kyselina gallová v množství 2,27 – 2,38 mg/100 g vzorku.

Ve vzorcích zázvoru 5 a 6, které byly sušené vzorky, se podařilo prokázat všechny zmíněné fenoly. Obsah rutinu byl v rozmezí 1,99 – 2,21 mg/100 g, zjištěný obsah kyseliny sinapové byl 4,52 – 8,85

mg/100 g. Posledním stanoveným fenolem byla kyselina ferulová, jejíž obsah v sušených vzorcích zázvoru byl v rozmezí 2,12 – 4,39 mg/100 g vzorku. Byl pozorován výrazný rozdíl v obsahu kyseliny sinapové a ferulové v sušených vzorcích zázvoru, který mohl být způsoben rozdílnými pěstebními podmínkami, odrůdou, stářím nebo technologií zpracování.

Ghasemzadeh a kol. [20] uvádí přítomnost rutinu (0,452 mg/g sušiny zázvoru), kyseliny gallové (0,141 mg/g sušiny zázvoru) a kyseliny ferulové (0,116 mg/g sušiny zázvoru) v kořenu zázvoru a jejich proměnlivé zastoupení v závislosti na pěstebních podmínkách a odrůdě.

Ling a kol. [79] uvádí přítomnost kyseliny sinapové v kořenu rostliny *Boesenbergia rotunda* („fingerroot“), která je blízkým příbuzným zázvoru a náleží do stejné čeledi zázvorovitých.

## 7.2 Výsledky stanovení křenu

### 7.2.1 Stanovení sušiny křenu

Vlastní stanovení sušiny u nativních vzorků křenu bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.1. Obsah sušiny byl stanoven u 3 nativních vzorků křenu. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 27. Výsledkem je průměr ze tří stanovení.

Tab. 27. Výsledky stanovení sušiny (S) u nativních vzorků křenu

Vzorek	m <sub>2</sub> [g]	m <sub>3</sub> [g]	m <sub>1</sub> [g]	S [%]	S <sub>p</sub> [%]	s
Křen 1	23,3743	5,1262	24,9709	31,15	31,58	0,37
	22,4467	4,9223	24,0093	31,75		
	23,3256	5,1228	24,9564	31,83		
Kkřen 2	23,8249	5,0905	25,4792	32,50	32,65	0,16
	21,8960	5,0701	23,5500	32,62		
	23,6822	5,0702	25,3463	32,82		
Křen 3	22,8513	4,9146	24,4690	32,92	33,59	0,59
	23,5569	5,0176	25,2550	33,84		
	23,0498	4,9529	24,7349	34,02		

Sušina nativních vzorků křenu se pohybovala v rozmezí 31,58 – 33,59 %.

Kosson [43] zkoumal vliv skladování na obsah sušiny křenu čerstvých vzorků původem z Polska a Maďarska po dobu 10 měsíců. Uvádí, že sušina polského křenu byla v průběhu skladování v rozmezí 31,5 – 33, 83 %, u maďarského křenu bylo rozmezí obsahu sušiny v průběhu desetiměsíčního skladování 31,84 – 34,67 %. Námi zjištěné hodnoty sušiny korespondují s publikovanými údaji.

### 7.2.2 Stanovení obsahu hrubé vlákniny křenu

Obsah hrubé vlákniny, ve 3 nativních vzorcích křenu, byl stanoven postupem uvedeným v kap. 6.3. Výsledkem stanovení jednotlivých vzorků je průměr ze 3 stanovení, které jsou uvedeny v Tab. 28.

Tab. 28. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny (HV) ve vzorcích křenu

Vzorek	$m_{ps}$ [g]	$m_{nv}$ [g]	$m_r$ [g]	$m_{cp}$ [g]	HV [%]	HV <sub>p</sub> [%]	s
Křen 1	0,4815	1,0016	0,5749	0,0118	8,66	8,65	0,04
	0,4857	1,0002	0,5820	0,0147	8,68		
	0,4918	1,0001	0,5861	0,0136	8,60		
Křen 2	0,4853	0,9999	0,5776	0,0138	8,37	8,42	0,09
	0,4884	0,9994	0,581	0,0126	8,53		
	0,4834	1,0015	0,5767	0,0147	8,37		
Křen 3	0,4828	1,0008	0,5789	0,0112	9,00	8,94	0,08
	0,4779	1,0009	0,5733	0,0109	8,96		
	0,4955	1,0007	0,5923	0,0136	8,85		
korekce	0,5106	-	0,5157	0,0106	-	-	

Obsah hrubé vlákniny v nativních vzorcích křenu se pohyboval v rozmezí 8,42 – 8,94 %.

Kopec [80] uvádí v potravinářských tabulkách průměrný obsah hrubé vlákniny v křenu 6,2 %. Námi zjištěné hodnoty jsou mírně vyšší, avšak je nutno brát v úvahu, že obsah hrubé vlákniny je i v rámci



jednoho rostlinného druhu proměnlivý, závislý na mnoha faktorech a v potravinářských tabulkách jsou uváděny průměrné obsahy složek.

Křen je řazen mezi kořenovou zeleninu. V obsahu hrubé vlákniny zaujímá křen mezi běžně dostupnou kořenovou zeleninou se svojí průměrnou hodnotou přední příčky. Například celer obsahuje průměrně 3,7 %, mrkev 3,0 %, petržel 1,8 % a tuřín 2,5 % hrubé vlákniny [80]. I ve srovnání s ostatními druhy zeleniny vykazuje kořen křenu vyšší obsahy hrubé vlákniny. Avšak vzhledem k množství v jakém je konzumován a frekvenci konzumace netvoří významný podíl konzumované hrubé vlákniny v potravě člověka.

### 7.2.3 Stanovení titrační kyselosti křenu

Titrační kyselost byla stanovena u tří vzorků nativního křenu postupem uvedeným v kap. 6.4. Hodnoty pH a objem NaOH při titraci u jednotlivých vzorků křenu v okolí bodu ekvivalence pH = 8,1 jsou uvedeny v Tab. 29. Výsledkem stanovení je průměr ze tří hodnot.

Tab. 29. Spotřeba OR a odpovídající hodnoty pH při stanovení titr. kyselosti křenu

V [ml]	Křen 1			V [ml]	Křen 2			V [ml]	Křen 3		
	pH				pH				pH		
1,9	7,33	7,30	7,31	2,5	7,75	7,61	7,67	3	8,04	8,02	8,07
2,0	7,61	7,56	7,59	2,6	7,90	7,89	7,88	3,1	8,13	8,11	8,16
2,1	7,97	7,94	7,96	2,7	8,03	7,97	7,96	3,2	8,21	8,20	8,24
2,2	8,14	8,14	8,13	2,8	8,22	8,14	8,12	3,3	8,28	8,27	8,28

Hodnoty titrační kyselosti křenu byly vyjádřeny jako obsah kyseliny jablečné na 100 g jedlého podílu. Jejich průměrné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 30.

Titrační kyselost nativních vzorků křenu vyjádřená jako obsah kyseliny jablečné se pohybovala v rozmezí 0,310 – 0,432 g/100 g vzorku.

Výzkumný ústav potravinářský v Bratislavě [81] uvádí hodnoty celkového obsahu kyselin v křenu 0,68 g/100 g jedlého podílu. Námi zjištěné hodnoty obsahu kyselin ve vzorcích křenu, vyjádřené jako obsah kyseliny jablečné, jsou nižší.

Lavinia a kol. [77] uvádí, že obsah kyselin je v zelenině proměnlivý, závislý na mnoha faktorech, například na podmínkách pěstování, klimatických podmínkách a stupni zralosti.

Tab. 30. Titrační kyselost vzorků křenu

Vzorek	$V_{ex}$ [ml]	$c_{NaOH}$ [mol/l]	$m_v$ [g]	TK [g/100 g]	TK <sub>p</sub> [g/100 g]	s
Křen 1	2,182	0,0922	21,7498	0,310	0,310	0,001
	2,176			0,309		
	2,180			0,310		
Křen 2	2,788	0,0922	26,3513	0,327	0,325	0,003
	2,777			0,326		
	2,737			0,321		
Křen 3	3,089	0,1040	21,8891	0,436	0,432	0,004
	3,067			0,433		
	3,033			0,428		

#### 7.2.4 Stanovení antioxidační aktivity křenu metodou DPPH

Antioxidační aktivita metodou DPPH byla stanovena u tří nativních vzorků křenu a u čtyř výrobků z křenu. Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.5.

V Tab. 14. jsou uvedeny hodnoty koncentrace kyseliny askorbové [mg/ml] a jim odpovídající hodnoty inaktivace [%], které byly použity pro sestavení kalibračního grafu (Obr. 13.).

Graf závislosti inaktivace [%] na koncentraci kyseliny askorbové [mg/ml] v roztoku je uveden v kap. 7.1.5 na Obr. 13.

Obsah mg ekvivalentu KA ve 100 g jedlého podílu vzorků křenu byl vypočítán z rovnice regresní přímky na základě navážky vzorku a výsledné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 31.

Tab. 31. Hodnoty obsahu mg ekvivalentu kyseliny askorbové (ekv. KA) ve 100 g vzorku křenu

Vzorek	m [g]	A <sub>1</sub>	I <sub>1</sub> [%]	A <sub>2</sub>	I <sub>2</sub> [%]	A <sub>3</sub>	I <sub>3</sub> [%]	ekv. KA <sub>p</sub> [mg/100 g]	s
Křen 1	4,038	1,295	3,860	1,291	4,157	1,296	3,786	16,19	0,98
Křen 2	4,051	1,278	5,122	1,282	4,826	1,280	4,974	21,29	0,73
Křen 3	4,058	1,225	9,057	1,221	9,354	1,223	9,206	42,19	0,73
Křen 4	4,029	1,208	10,319	1,210	10,171	1,206	10,468	48,05	0,74
Křen 5	4,053	1,142	18,719	1,143	18,648	1,141	18,790	89,37	0,35
Křen 6	3,986	1,004	28,541	1,001	28,754	1,004	28,541	140,70	0,62
Křen 7	3,975	1,055	24,911	1,056	24,840	1,051	25,196	122,76	0,95

Obsah mg ekvivalentu kyseliny askorbové ve 100 g nativního vzorku křenu (vzorek 1 - 3) se pohyboval v rozmezí 16,19 – 42,19 mg/100 g jedlého podílu vzorku. Nejvyšší hodnotu antioxidační aktivity vykazoval vzorek pocházející z domácího pěstitelství. Důvodem může být i čerstvost vzorku. Je známo, že v průběhu skladování obsah některých složek zodpovědných za antioxidační aktivitu klesá (např. vitamin C). Tudíž u čerstvých vzorků je předpokládána vyšší antioxidační aktivita. U ostatních nativních vzorků, které byly zakoupeny v tržní síti, nelze přesně definovat dobu od sklizně a délku skladování.

V případě vzorků 4 - 7 se jednalo o výrobky ze strouhaného křenu. Hodnocení výsledků antioxidační aktivity u výrobků je problematické, z důvodu přítomnosti mnoha potravinářských aditiv. Vzorek křenu 6 obsahoval přídatek kyseliny askorbové, což se mohlo projevit i v nejvyšší zjištěné antioxidační aktivitě vzorku. Ostatní výrobky ze strouhaného křenu taktéž vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu ve srovnání se vzorky nativními.

### 7.2.5 Stanovení celkového obsahu polyfenolů za použití Folin-Ciocalteuova činidla

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven za použití Folin-Ciocalteuova činidla (FC) celkem u tří nativních vzorků křenu a čtyř výrobků z křenu. Stanovení bylo provedeno postupem uvedeným v kap. 6.6.

Hodnoty, ze kterých byla sestrojena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové [mg/ml], jsou uvedeny v Tab. 16. (7.1.6).

Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů je uvedena na Obr. 14. (7.1.6).

Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové ve 100 g jedlého podílu vzorků křenu je uveden v Tab. 32.

Tab. 32. Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové (ekv. KG) ve 100 g vzorku křenu

Vz.	m [g]	A <sub>1</sub>	ekv. KG <sub>1</sub> [mg/100 g]	A <sub>2</sub>	ekv. KG <sub>2</sub> [mg/100 g]	A <sub>3</sub>	ekv. KG <sub>3</sub> [mg/100 g]	ekv. KG <sub>p</sub> [mg/100 g]	s
1	4,038	0,169	78,378	0,173	80,110	0,174	80,543	79,68	1,15
2	4,051	0,120	56,976	0,124	58,702	0,119	56,544	57,41	1,14
3	4,058	0,211	96,089	0,213	96,951	0,209	95,227	96,09	0,86
4	4,029	0,229	104,592	0,234	106,762	0,230	105,026	105,46	1,15
5	4,053	0,238	107,856	0,241	109,150	0,244	110,444	109,15	1,30
6	3,986	0,340	154,414	0,345	156,607	0,344	156,168	155,73	1,16
7	3,975	0,208	96,776	0,215	99,885	0,210	97,655	98,10	1,60

V případě nativních vzorků se hodnoty celkového obsahu polyfenolů vyjádřených jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g vzorku pohybovaly v rozmezí 57,41 – 96,09 mg/100 g jedlého podílu. Vyšší obsah CP u nativního vzorku křenu 3 může být vysvětlen vyšším obsahem kyseliny askorbové, protože se jednalo čerstvý vzorek (analýza byla provedena do týdne od doby sklizně), kdežto zbylé vzorky byly zakoupeny v tržní síti, po bližší nespecifikované době po sklizni.

Vzorky křenu 4 - 7 byly výrobky z křenu, kde výrobce uváděl obsah nativního křenu v rozmezí 50 – 95 %. Vzorek křenu 4, který byl prodáván v strouhané formě (95 %), byl svou povahou nejvíce podobný nativním vzorkům. Avšak výrobce uvádí, že do výrobku byly přidány siričitany, což se může projevit i na výsledné hodnotě celkového obsahu polyfenolů.

Podle Worlstada [68] je měření celkového obsahu polyfenolů za použití FC činidla ovlivněno přítomností zejména oxidu siřičitého a kyselinou askorbovou. Nejvyšší obsah celkových polyfenolů byl zjištěn u křenu č. 6. Jednalo se o výrobek, u kterého výrobce uváděl obsah nativního křenu pouze 50 %, což bylo nejmenší množství křenu obsažené ve zkoumaných výrobcích. Nejvyšší zjištěná hodnota celkových polyfenolů byla pravděpodobně způsobena přidavkem jak disiřičitanů, tak i kyseliny askorbové ve výrobku. Pro přesnější stanovení celkového obsahu polyfenolů touto metodou by bylo nutné stanovit specificky obsah disiřičitanů a zjištěné hodnoty obsahu polyfenolů upravit korekcí.

### 7.2.6 Stanovení jednotlivých fenolů v křenu pomocí HPLC/UV

Jednotlivé fenoly byly v chromatogramu identifikovány na základě retenčního času standardu, měřeného za podmínek, které jsou uvedeny v kap. 6.7. Pomocí programu HyStar byly zjištěny plochy píků detekovaných fenolů a z příslušných rovnic lineárních regresí uvedených v kap. 7.1.7.1 a 7.1.7.2 byl vypočítán obsah fenolů ve 100 g vzorku na základě navážky. Výsledky stanovení fenolů v křenu jsou uvedeny v Tab. 33. a 35. Navážky vzorků křenu jsou uvedeny v Tab. 34.

Tab. 33. Průměrný obsah rutinu ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích křenu

Vzorek	Rutin							
	P <sub>1</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>2</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	P <sub>3</sub> [mAU <sub>s</sub> ]	c <sub>f1</sub>	c <sub>f2</sub>	c <sub>f3</sub>	c <sub>fp</sub>	s
Křen 1	148,4	154,9	151,8	1,74	1,75	1,75	1,75	0,01
Křen 2	ND	ND	ND	-	-	-	-	-
Křen 3	198,8	208,7	201,8	1,79	1,80	1,79	1,79	0,01
Křen 4	733,9	752,0	746,4	2,42	2,44	2,43	2,43	0,01

ND – nedetekováno

Tab. 34. Navážky vzorků křenu k analýze fenolů pomocí HPLC/UV

Vzorek	Křen 1	Křen 2	Křen 3	Křen 4
Navážka [g]	5,0302	5,0243	5,0640	5,0125

Tab. 35. Průměrný obsah kyseliny gallové ( $c_{fp}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích křenu

Vzorek	Kyselina gallová							
	P <sub>1</sub> [mAUs]	P <sub>2</sub> [mAUs]	P <sub>3</sub> [mAUs]	c <sub>f1</sub>	c <sub>f2</sub>	c <sub>f3</sub>	c <sub>fp</sub>	s
Křen 1	225,3	231,1	247,7	1,34	1,35	1,35	1,35	0,01
Křen 2	85,8	94,7	89,2	1,27	1,28	1,27	1,27	0,01
Křen 3	903,1	921,8	916,8	1,69	1,70	1,70	1,70	0,01
Křen 4	2290,7	2371,8	2299,3	2,45	2,49	2,45	2,46	0,02

Ve 3 vzorcích křenu byl rutin stanoven v rozmezí 1,74 – 2,43 mg/100 g vzorku, nejvíce rutin se vyskytovalo ve vzorku křenu 4. Jednalo se o výrobek ve strouhané formě, původem z Rakouska. Ve vzorku křenu 2, který byl podle prodejce původem z ČR a byl prodáván na trhu balený v PE folii, nebyl rutin detekován. Lepore [82] uvádí křen jako zdroj rutinu, ale množství nespecifikuje.

Obsah kyseliny gallové byl zjištěn v rozmezí 1,27 – 2,46 mg/100 g vzorku. Nejmenší obsah kyseliny gallové, byl zjištěn ve vzorku křenu 2, u kterého také nebyl detekován rutin. Nejvíce kyseliny gallové bylo prokázáno ve vzorku křenu 4, u kterého byl taktéž určen nejvyšší obsah rutinu.

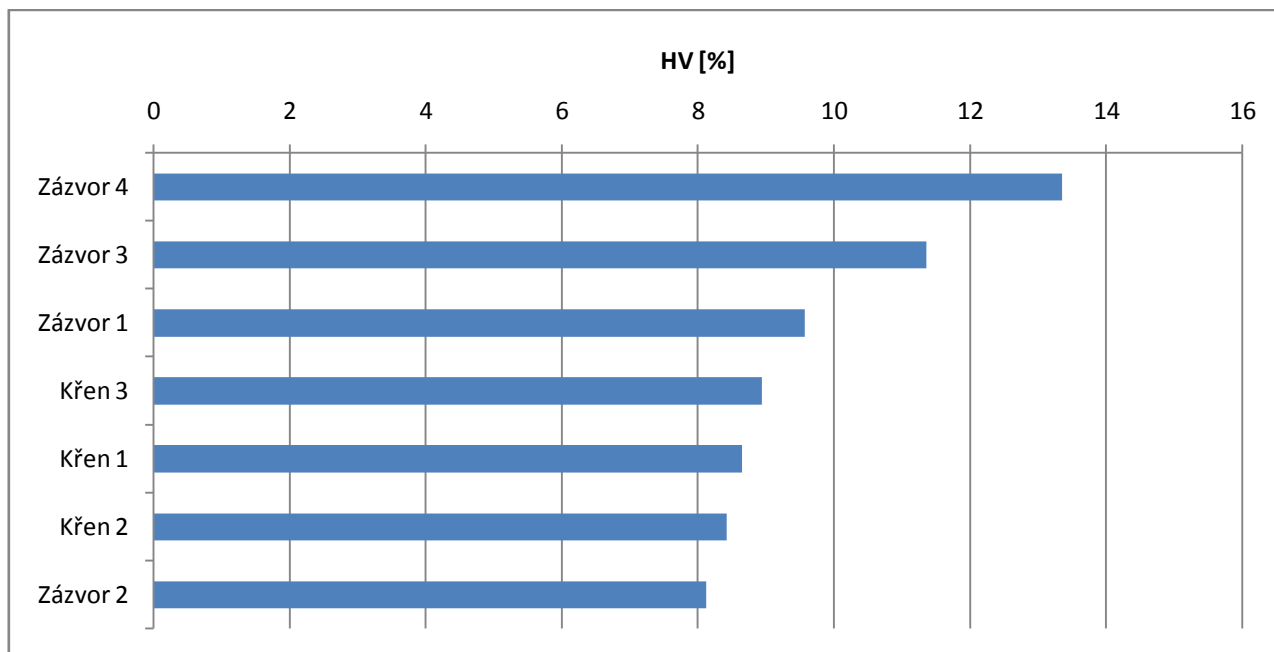
Kyselina ferulová a kyselina sinapová nebyla detekována v žádném vzorku křenu.

## 7.3 Porovnání vybraných parametrů zázvoru a křenu

### 7.3.1 Porovnání obsahu hrubé vlákniny v nativních vzorcích zázvoru a křenu

Na Obr. 19. jsou porovnány obsahy HV [%] u 7 analyzovaných nativních vzorků, 4 vzorků zázvoru a 3 vzorků křenu.

Vzorky s nejvyšším obsahem hrubé vlákniny byly zázvor 4 a 3. Zbylé vzorky vykazovaly přibližně stejné obsahy hrubé vlákniny. Nejnižší obsah hrubé vlákniny měly vzorky zázvor 2 a křen 2.

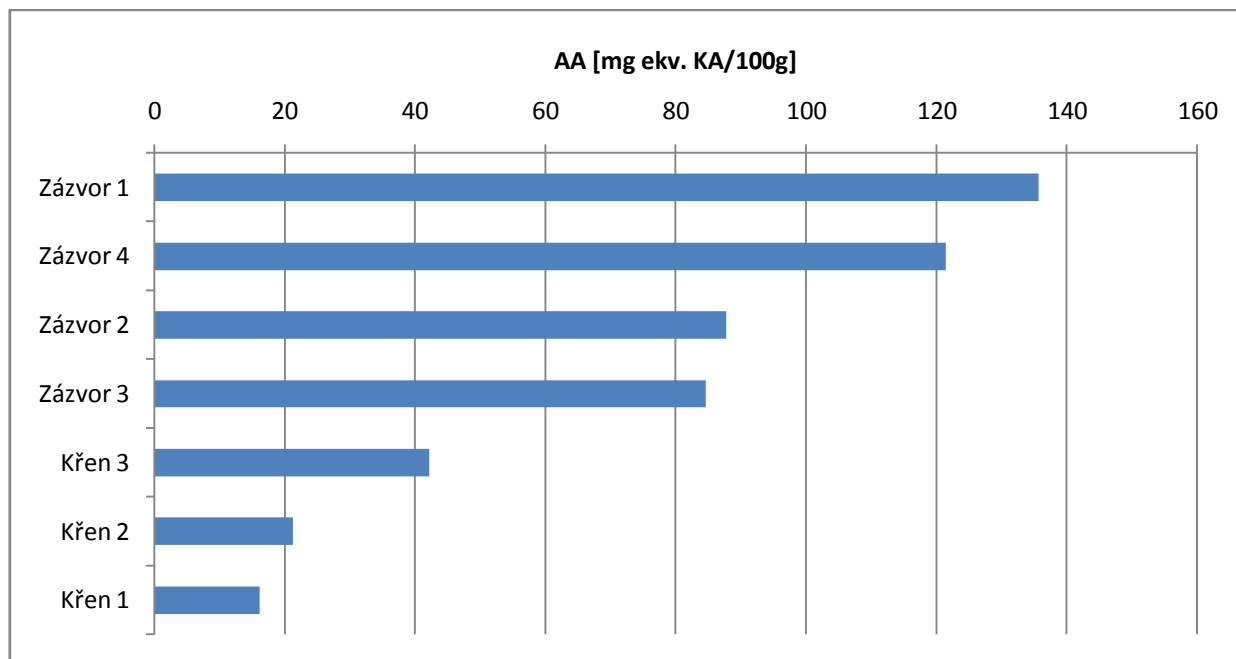


Obr. 19. Porovnání obsahu HV v nativních vzorcích křenu a zázvoru

### 7.3.2 Porovnání antioxidační aktivity nativních vzorků zázvoru a křenu

Na Obr. 20. jsou porovnány hodnoty AA všech analyzovaných nativních vzorků.

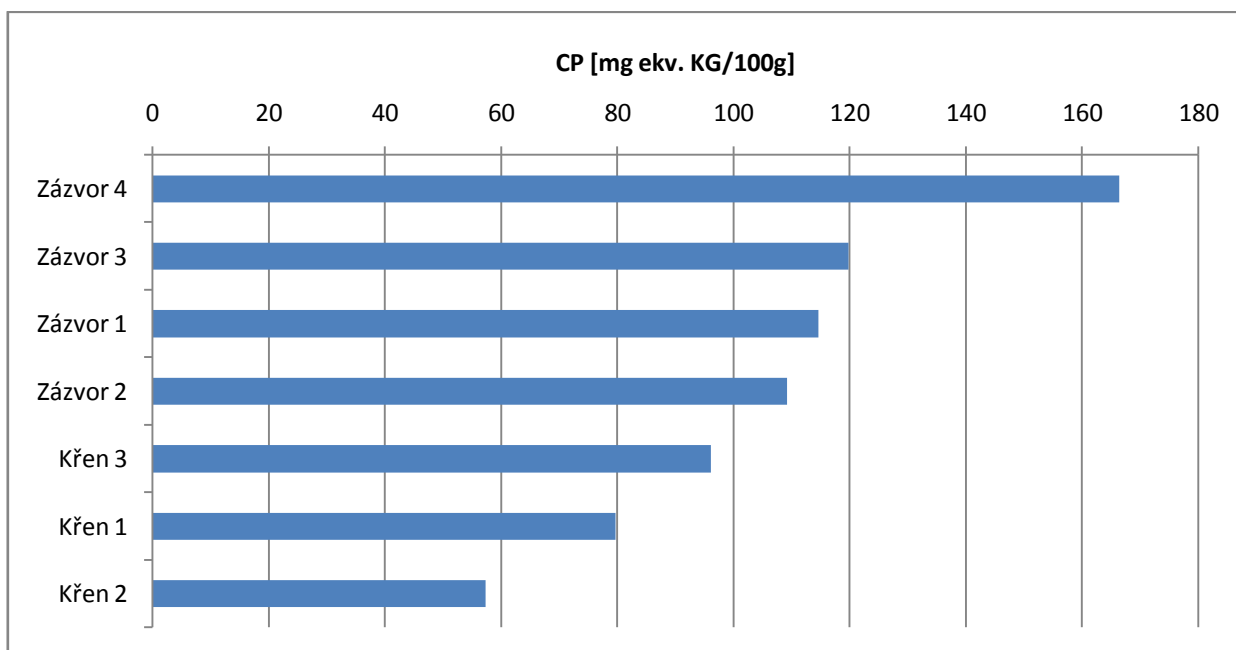
Všechny testované vzorky zázvoru vykazovaly výrazně vyšší hodnoty antioxidační aktivity, než vzorky křenu. Nejvyšší hodnotu AA vykazovaly vzorky zázvoru 1 a 4. Naopak nejnižší hodnotu AA vykazoval vzorek nativního křenu 1 původem z Maďarska. Vzorek křenu 3, produkt domácího pěstování z lokality Kroměříž, vykazoval prakticky dvojnásobnou hodnotu AA oproti zbylým nativním vzorkům křenu, avšak jen třetinovou hodnotu antioxidační aktivity oproti vzorku zázvor 1.



Obr. 20. Porovnání AA nativních vzorků křenu a zázvoru

### 7.3.3 Porovnání celkového obsahu polyfenolů nativních vzorků zázvoru a křenu

Na Obr. 21. jsou porovnány obsahy celkových polyfenolů v nativních vzorcích křenu a zázvoru vyjádřené jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g vzorku.



Obr. 21. Porovnání CP v nativních vzorcích křenu a zázvoru



Při porovnání hodnot antioxidační aktivity a obsahu polyfenolů ve vzorcích je možné si povšimnout, že vysoká antioxidační aktivita nutně nemusí znamenat i nejvyšší obsah polyfenolů a tedy fakt, že AA vzorků zázvoru a křenu je závislá i na obsahu jiných složek s antioxidačním působením. Vzorky křenů, které poměrně výrazně zaostávaly v antioxidační aktivitě ve srovnání se vzorky zázvorů, mají podobné hodnoty CP jako vzorky zázvoru.

## ZÁVĚR

Zázvor i křen vykazují antioxidační a antimikrobiální účinky, obě rostliny jsou užívány v léčitelství. Křen vykazuje lepší antimikrobiální vlastnosti než zázvor, díky obsahu glukosinolátů, ze kterých působením enzymu myrosinázy vznikají isothiokyanáty a thiokyanáty. Obsah vitamínu C je podle literatury vyšší v křenu (až 302 mg/100 g čerstvého křenu). Zázvor oproti tomu vykazuje vyšší antioxidační aktivitu a to díky přítomnosti tzv. gingerolů, shagoalů, zingeronů a dalších látek. Křen je oblíbeným doplňkem zejména masových pokrmů, kde jej lze konzumovat čerstvý i konzervovaný, zpravidla v kombinaci s jablky, pro zmírnění pálivé chuti. Podporuje trávení, ale ve vysokých dávkách může působit dráždivě. Zázvor je nejoblíbenějším v zemích Asie. V Japonsku je nakládaný zázvor podáván k sushi, v Indii a Číně tvoří zázvor základ tamější kuchyně. Preparáty ze zázvoru pomáhají při žaludečních nevolnostech. Nadměrná konzumace zázvoru může naopak vyvolat podráždění žaludku.

Byly provedeny analýzy sušiny, refraktometrické sušiny, hrubé vlákniny, titrační kyselosti, antioxidační aktivity, obsahu celkových polyfenolů a obsahu jednotlivých fenolů ve vzorcích křenu a zázvoru.

Zjištěný obsah sušiny v nativních vzorcích zázvoru byl poměrně variabilní (4,93 - 10,99 %), ale zjištěné rozpětí nebylo v rozporu s hodnotami uvedenými jinými autory. Sušina křenu vykazovala oproti zázvoru menší variabilitu (31,58 – 33,59 %) a korespondovala se zjištěním jiných autorů.

Obsah hrubé vlákniny v křenu (8,42 – 8,94 %) byl ve srovnání s literaturou vyšší, ale ve srovnání se zázvorem nevykazoval takovou proměnlivost. Hrubá vláknina vzorků zázvoru se pohybovala v rozmezí 8,12 % až 13,35 %. Podle informací v literatuře je obsah hrubé vlákniny v zázvoru dosti proměnlivý, závislý na mnoha faktorech.

U nativních vzorků zázvoru byla také stanovena refraktometrická sušina, která se u jednotlivých vzorků lišila v rozmezí 1,3 °BX. Je známo, že obsah cukrů je proměnlivý a závislý na mnoha faktorech a výsledky jsou také ovlivněny přesností metody, která klesá s množstvím přítomných necukerných látek.

Při stanovení titrační kyselosti nativních vzorků křenu byl zjištěn ve srovnání s literaturou menší obsah kyselin (0,310 – 0,432 g/100 g vzorku). Zázvor vykazoval zřetelněji nižší hodnoty titrační kyselosti (0,040 – 0,049 g/100 g vzorku) ve srovnání s křenem a s obsahem kyselin v běžně konzumované zelenině.

Byla stanovena a porovnána antioxidační aktivita nativních vzorků zázvoru a křenu, a bylo zjištěno, že všechny nativní vzorky zázvoru vykazovaly výrazně vyšší antioxidační aktivitu (84,66 – 135,61 mg/100 g), než vzorky křenu (16,19 – 42,19 mg/100 g), vyjádřené jako obsah mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 100 g jedlého podílu.

Výsledky stanovení antioxidační aktivity výrobků z křenu mohou být ovlivněny přidanými látkami v průběhu zpracování, zejména siřičitanů, proto není vhodné hodnotit jejich antioxidační hodnotu ve srovnání s nativními vzorky, které přidané siřičitany neobsahují.

Nejvyšší obsah celkového množství polyfenolů vyjádřených jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g jedlého podílu vzorku byl pozorován u vzorku zázvoru 4 (166,36 mg/100 g), naopak nejnižší obsah byl pozorován u vzorku křenu 2 (57,41 mg/100 g).

Ve vzorcích křenu a zázvoru byly identifikovány jednotlivé fenoly za použití techniky HPLC/UV. V sušených vzorcích zázvoru se podařilo prokázat přítomnost kyseliny ferulové v množství 2,12 – 4,39 mg/100 g vzorku, kyseliny sinapové v množství 4,52 – 8,85 mg/100 g vzorku, kyseliny gallové v množství 1,66 - 1,96 mg/100 g vzorku a rutin v množství 1,99 – 2,20 mg/100 g vzorku. U nativních vzorků zázvoru se podařilo prokázat pouze kyselinu gallovou (2,27 - 2,38 mg/100 g vzorku). Ve vzorcích křenu se podařilo identifikovat kyselinu gallovou (1,35 – 2,46 mg/100 g vzorku) a rutin (1,74 – 2,43 mg/100 g vzorku). U obou fenolů bylo maximální množství pozorováno ve vzorku křenu č. 4. Jednalo se o strouhaný křen (95 % obsah křenu) s přidavkem látek jako kyselina citronová a disiřičitany.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Atlas rostlin: Zázvor pravý [online]. [cit. 2013-3-11]. Dostupný z WWW: <<http://bylinky.atlasrostlin.cz/zazvor-pravy>>
- [2] Farmakobotanická zahrada. Zingiberaceae / zázvorovité [online]. Hradec králové: VOŠ zdravotnická Hradec Králové. [cit. 2013-03-11]. Dostupné z: <http://fab.zshk.cz/vyuka/zingiberaceae.aspx>
- [3] ANDREASSON, E., JORGENSEN, L. Different Myrosinase and Idioblast Distribution in *Arabidopsis* and *Brassica napus*. American Society of Plant Physiologists. 2001, roč. 127, č. 4, s. 1750-1763. ISSN 1040-4651.
- [4] RŮŽIČKOVÁ, Gabriela. Ostatní koření pěstované mimo ČR. [online]. Brno: Agronomická fakulta. [cit. 2013-03-11]. Dostupné z: [http://www.pssp.cz/multi\\_dvd/ostatni-koreni-pestovatelne-mimo-ceskou-republiku.html](http://www.pssp.cz/multi_dvd/ostatni-koreni-pestovatelne-mimo-ceskou-republiku.html)
- [5] DENNIS, J., KENNETH, J., KERRY, H.: Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements. 2. ilu. vyd. New York: Routledge, 2002. ISBN 0789012650
- [6] PRABHAKARAN NAIR, K.,P., The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger: The Invaluable Medicinal Spice Crops. Newnes: Elsevier, 2013. ISBN 978-0-12-394-801-4
- [7] TOPNO, P., VINOETHINI, JAYAPRAKASH, S., H. Ginger-garlic paste in retort pouches and its quality. Journal of Food Process Engineering. 2011, roč. 36, č. 1, ISSN 1745-4530.
- [8] ALI, B., BLUNDEN, G., TANIRA, M. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): A review of recent research. Food and Chemical Toxicology. 2008, roč. 46, s. 409-420. ISSN: 0278-6915.
- [9] PAKRASHI, Sathyes a Anita PAKRASHI. Ginger: A Versatile Healing Herb. New Delhi: Vedams, 2003. ISBN 81-7936-008-3.
- [10] OTUNOLA, G., OLOYEDE, O., OLADIJI, A., Comparative analysis of the chemical composition of three spices – *Allium sativum L.* *Zingiber officinale Rosc.* and *Capsicum frutescens L.* commonly consumed in Nigeria. African Journal of Biotechnology. 2010, roč. 41, č. 9, s. 6927-6931. ISSN 1684-5315.
- [11] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-4-5.

- [12] SUZANNA, M., ZICK, Z., DJURIC, M., MACK, T., Pharmacokinetics of 6-Gingerol, 8-Gingerol, 10-Gingerol, and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008, roč. 17, č. 8, s. 1930-1936. ISSN 1538-7755.
- [13] PWAR, N., PAI, S., NIMBALKAR, M. RP-HPLC analysis of phenolic antioxidant compound 6-gingerol from different ginger cultivars. *Food Chemistry.* 2011, roč. 126, s. 1330-1336. ISSN 0308-8146.
- [14] HAINING, L., GAIMEI, S. Naturally Occurring Diarylheptanoids - A Supplementary Version. *Rec. Nat. Prod.* 2012, roč. 6, č. 4, s. 321-333. ISSN 1307-6167.
- [15] YOUNG, IS., WOODSIDE, JV., Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001, roč. 54, s. 176-186. ISSN 2161-0681.
- [16] SKENDERI, K. P., TSIRONI, M., LAZAROPOULOU, C. Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. *European Journal of Clinical Investigation.* 2008, roč. 38, č. 3, s. 159-165. ISSN 1365-2362.
- [17] TANDON, V., GUPTA, B., Free radicals / reactive oxygen species. *Jk-Practitioner.* 2005, roč. 12, č. 3, s. 143-148. ISSN 0971-8834.
- [18] MAESTRI, D. M., V. NEPOTE a A. L., LAMARQUE. *Phytochemistry: Advances in Research.* Kerala: Research Signpost, 2006. ISBN 81-308-0034-9.
- [19] KAHKONEN, M., HOPIA, A., VUORELA, H. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 1999, roč. 47, č. 1, s. 3954-3962. ISSN 0021-8561.
- [20] GHASEMZADEH, A., JAAFAR, H. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Molecules.* 2010, roč. 15, s. 4324-4333. ISSN 1420-3049.
- [21] YUKI, M., HIROE, K., MASASHI, H., NOBUJI, N., Antioxdant properties of gingerol related compounds from ginger. *BioFactors.* 2004, roč. 21, s. 293-296. ISSN 1872-8081.
- [22] PUENGPHEAN, CH., SIRICHOTE, A. [6]-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extracts from supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *As. J. Food Ag-Ind.* 2008, roč. 1, č. 1, s. 29-36. ISSN 1906-3040.

- [23] KIM, M., H., KIM, M., K. Dehydration of Sliced Ginger Using Maltodextrin and Comparison with Hot-air Dried and Freeze-dried Ginger. *Korean J. Food Sci. Technology*. 2009, roč. 41, č. 2, s. 146-150. ISSN 0367-6293.
- [24] NINFALI, P, MEA, G., GIORGINI, S. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*. 2005, roč. 93, č. 1, s. 257-266. ISSN 0007-1145.
- [25] PARK, M., BAE, J. Antibacterial Activity of [10]-Gingerol and [12]-Gingerol isolated from Ginger Rhizome Against Periodontal Bacteria. *Phytoter. Res*. 2008, roč. 22, s. 1446-1449. ISSN 1099-1573.
- [26] RAHMAN, S., PARVEZ, A., K., ISLAM, R. Antibacterial activity of natural spices on multiple drug resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water, Bangladesh. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2011, roč. 10, s. 1-4. ISSN 1476-0711.
- [27] SINGH, G., KAPOOR, I., PRATIBHA, S., CAROLA, S., Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*. 2008, roč. 46, č. 10, s. 3295–3302. ISSN 0278-6915.
- [28] TŮMOVÁ, L., Zázvor – využití v terapii a jeho možné interakce s ostatními léčivy. *Prakt. Lékáren*. 2009, roč. 5, č. 6, s. 296-297. ISSN 1801-2434.
- [29] SETYANINGSIH, E., HARINI, N. The Influence of Three Stabilizers and Its Concentration on Ginger Syrup Quality. *Tropika*. 1998, roč. 6, č. 2, s. 173-179. ISSN:0854-6533.
- [30] Léčivé rostliny: zázvorový sirup [online]. [cit. 2012-03-13]. Dostupné z: [http://www.leciverostliny.com/index.php?route=product/product&product\\_id=560](http://www.leciverostliny.com/index.php?route=product/product&product_id=560)
- [31] DOOKERAN, M., M., GAIL, S., H., AKINGBALA, B. Laboratory manufacture and comparison of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) beer quality. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 2004, roč. 2, č. 3, s. 29-33. ISSN 1459-0255.
- [32] KNECHTEL, H. Guidelines for preparation of candied ginger. *Candy Industry and Confectioners' Journal*. 1969, roč. 132, č. 5, s. 25.
- [33] Persofrut: kandovaný zázvor [online]. [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: <http://persofrut.all.biz/en/candied-ginger-g1829337>
- [34] Japonské zboží: Nakládaný zázvor Gari Shoga [online]. [cit. 2012-04-1]. Dostupné z: <http://www.susi.cz/?produkt=27058>

- [35] SARLI, G., LISI, A., AGNETA, R., GRIECO, S., IERARDI, G., Collecting horseradish (*Armoracia rusticana*, Brassicaceae): local uses and morphological characterization in Basilicata (Southern Italy). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2012, roč. 59, č. 5, s. 889-899. ISSN 0925-9864.
- [36] Květena České republiky: *Brassicaceae* – brukvovité [online]. [cit. 2012-04-2]. Dostupné z: <http://www.kvetenacr.cz/celed.asp?IDceled=3>
- [37] AgroKrom – systém pro poradce, agronomy a manažery v rostlinné výrobě: hořčice [online]. [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: [www.agrokrom.cz/texty/metodiky/radce\\_hospodare/radce\\_horcice.pdf](http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/radce_hospodare/radce_horcice.pdf)
- [38] *Armoracia rusticana* - křen selský [online]. [cit. 2013-03-13]. Dostupné z: <http://botanika.wendys.cz/kytky/K500.php>
- [39] Křen selský [online]. [cit. 2013-2-14]. Dostupný z: [www.vegmania.cz/vegpedie/kren](http://www.vegmania.cz/vegpedie/kren)
- [40] SAMPLINER, D., MILLER, A., Ethnobotany of Horseradish (*Armoracia rusticana*, Brassicaceae) and Its Wild Relatives (*Armoracia* spp.): Reproductive Biology and Local Uses in Their Native Ranges. *Economic Botany*. 2009, roč. 63, č. 3, s. 303-313. ISSN 0013-0001.
- [41] BRATSCHE, A. Specialty crop profile: Horseradish. Virginia Tech. Virginia Polytechnic Institute and State University, 2009, 10s.
- [42] Poradensko-informační centrum Agrární komory ČR: Maďarský křen s chráněným označením původu [online]. [cit. 2012-03-03] Dostupný z WWW: <http://www.apic-ak.cz/novinky/madarsky-kren-s-chranenym-oznaceni-puvodu.php>
- [43] KOSSON, R., HORBOWIZ, M. Effect of long term storage on some nutritive components and isothiocyanates content in root of two horseradish types. *Vegetable Crop Research Bulletin*. 2008, vol. 69, s. 155-164. ISSN 1506-9427.
- [44] TOMSONE, L., KRUMA, Z., GALOBURDA, R., Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*). *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 2012, roč. 64, s. 903-908. ISSN 2010-3778.
- [45] Louis Bonduelle Foundation: Horseradish [online]. [cit. 2012-04-3]. Dostupné z: <http://www.fondation-louisbonduelle.org/france/en/know-your-vegetables/nutritional-assets-of-vegetables/raifort.html#axzz2R1MOfIKZ>

- [46] ALNSOUR, M., KLEINWACHTER, M., BOHME, J., SELMAR, D., Sulfate determines the glucosinolate concentration of horseradish in vitro plants (*Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. & Scherb.). Journal of the Science of Food and Agriculture. 2013, roč. 93 s. 918-923. ISSN 0022-5142.
- [47] XIAN, L., KUSHAD, M. Correlation of Glucosinolate Content to Myrosinase Activity in Horseradish (*Armoracia rusticana*). J. Agric. Food Chem. 2004, roč. 52, č. 23, s. 6950-6955. ISSN 0021-8561.
- [48] LIN, T., HUANG, J., KUMAR, P. Determination of Sinigrin in Vegetable Seeds by Online Microdialysis Sampling Coupled to Reverse-Phase Ion-Pair Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. 2010, roč. 58, č. 8, s. 4571-4575. ISSN 0021-8561.
- [49] HANSCHEN, F., BAUER, A., MEWIS, I. Thermally Induced Degradation of Aliphatic Glucosinolates: Identification of Intermediary Breakdown Products and Proposed Degradation Pathways. J. Agric. Food Chem. 2012, roč. 60, č. 39, s. 9890-9899. ISSN 0021-8561.
- [50] ZUKALOVÁ, H., VAŠÁK, J., The role and effects of glucosinolates of Brassica species – A review. Rostlinná Výroba. 2002, roč. 48, č. 4, s. 175-180. ISSN 0370-663X.
- [51] SHIN, I., JUNG-SU, H., KYU-DUCK, H., DONG-HWA, CH., Effect of isothiocyanates from horseradish (*Armoracia rusticana*) on the quality and shelf life of tofu. Food Control. 2010, roč. 21, s. 1081-1086. ISSN 0956-7135.
- [52] JANG, M., HONG, E., KIM, G. Evaluation of antibacterial activity of 3-butenyl, 4-pentenyl, 2-phenylethyl, and benzyl isothiocyanate in *Brassica* vegetables. Journal of Food Science. 2010, roč. 75, č. 7, s. 412-416. ISSN 1750-3841.
- [53] DOFOUR, V., ALAZZAM, B., ERMEL, G. Antimicrobial activities of isothiocyanates against *Campylobacter jejuni* isolates. Front. Cell. Inf. Microbio. 2012, roč. 2, č. 53, s. 13. ISSN: 2235-2988.
- [54] WRIGHT, Janeen. Essential Guide to HORSERADISH. The Herb Society of America. 2010, 44 s.
- [55] VELIOGLU, Y., MAZZA, G., GAO, L. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. J. Agric. Food Chem. 1998, roč. 46, č. 10, s. 4113-4117. ISSN 0021-8561.
- [56] Atlas rostlin: Křen selský [online]. [cit. 2013-3-21]. Dostupný z WWW: <http://ovoce-zelenina.atlasrostlin.cz/kren-selsky>



- [57] LAVERY, CH., MACINNIS, M., MACDONALD, M., WILLIAMS, J., Purification of Peroxidase from Horseradish (*Armoracia rusticana*) Roots. J. Agric. Food Chem. 2010, roč. 58, č. 15, s. 8471-8476. ISSN 1579-4377.
- [58] KOPLÍK, Richard. Základy analýzy potravin: In: Přednáška VŠCHT v Praze [online]. [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/koplikr/%C4%8C%C3%A1stB1.pdf>
- [59] IOFFE, B., V. Refraktometrické metody v chemii. Praha: SNTL, 1983.
- [60] ŠAVEL, J., KOŠIN, P., BROŽ, A. Použití refraktometrie pro sledování průběhu kvašení. Kvasný Průmysl. 2009, roč. 55, č. 4, s. 94-99. ISSN 0023-5830.
- [61] KOVÁČIKOVÁ, E., VOJTAŠŠÁKOVÁ, A., a J., MOSNÁČKOVÁ Vláknina v potravinách. In: Výzkumný ústav potravinářský [online]. Bratislava, [cit. 2013-4-15]. Dostupné z: <http://www.vup.sk/index.php?start&mainID=1&navID=43#Stanovenie>
- [62] McCLEARY, Barry. Dietary fibre analysis. Proceedings of the Nutrition Society. 2003, s. 3-9. ISSN 0029-6651.
- [63] RÉBLOVÁ, Zuzana. Vliv vnějších faktorů na aktivitu antioxidantů. Chem. Listy. 2011, roč. 105, s. 667-673. ISSN 1213-7103.
- [64] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. Chem. Listy. 2004, roč. 98, s. 174-179. ISSN 1213-7103.
- [65] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. Chem. Listy. 2009, roč. 103, s. 232-235. ISSN 1213-7103.
- [66] DVOŘÁKOVÁ, M., DOSTÁLEK, P., HULÍN, P. Analytické stanovení polyfenolů ve sladinách, mladínách a pivech. Kvasný Průmysl. 2006, roč. 52, č. 4, s. 111-114. ISSN 0023-5830.
- [67] Fluka analytical: Folin-Ciocalteu's phenol reagent. [online]. [cit. 2012-04-12]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Datasheet/6/47641dat.Par.0001.File.tmp/47641dat.pdf>
- [68] WROLSTAD, R., E., T., ACREE a E., A., DECKER. Handbook of Food Analytical Chemistry. Ney Jersey: Wiley, 2005. ISBN 0-471-66378-6.
- [69] HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. a kol. Analytická chemie. Praha: SNTL, 1987. ISBN 04-612-87.
- [70] Karlova Univerzita: Vysokoučinná kapalinová chromatografie HPLC. [online]. [cit. 2012-04-15] Dostupný z: <http://web.natur.cuni.cz/~tesarove/hplc.pdf>

- [71] Karlova Univerzita: High Performance Liquid Chromatography HPLC. [online]. [cit. 2012-04-12] Dostupný z <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>
- [72] TOMÁŠ, R. *Inosin, deoxyinosin, adenosin, deoxyadenosin jako metabolické markery. Jejich stanovení pomocí metody HPLC a HPLC s kapilární monolitickou kolonou*. Brno, 2005. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.
- [73] Základy HPLC: teorie HPLC [online]. [cit. 2012-03-13] Dostupný z: <http://www.hplc.cz/Teorie/>
- [74] TSAO, R., DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromatogr. B.* 2004, roč. 812, č. 1, s. 85-99. ISSN 1570-0232.
- [75] DALLUGE, J., NELSON, B., THOMAS, J. Selection of Column and Gradient Elution System for the Separation of Catechins in Green Tea Using High-performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1998, roč. 793, č. 2, s. 265-274. ISSN 0021-9673.
- [76] ROBARDS, K., ANTOLOVICH, M. Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids A Review. *Analyst.* 1997, roč. 122, č. 2, s. 11-34. ISSN 0003-2654.
- [77] LAVINIA, B., MANEA, I., BRATU, M. Evaluation of the cabbage and cucumber juices as substrate for *Lactobacillus acidophilus* LA-5. *Romanian Biotechnological Letters.* 2012, roč. 17, č. 4, s. 7418-7429. ISSN 1224-5984.
- [78] CHAN, E., LIM, Y., at al. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry.* 2008, roč. 109, s. 477-483. ISSN 0308-8146.
- [79] LING, LJ., MOHAMED, M., RAHMAT, A. Phytochemicals, antioxidant properties and anticancer investigations of the different parts of several gingers species (*Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pulchella* var *attenuata* and *Boesenbergia armeniaca*). *Journal of Medicine Plant Research.* 2010, roč. 4, č. 1, s. 27-32. ISSN 1996-0875.
- [80] KOPEC, K., *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Praha, ÚZPI, 1998, 72 s.
- [81] Křen, chren. In: Online potravinová databáze [online]. Bratislava: Výzkumný ústav potravinářský [cit. 2012-03-04]. Dostupné z: <http://www.pbd-online.sk/#>
- [82] LEPORE, Don. *Ultimate Healing System: The Illustrated Guide to Muscle Testing and Nutrition*. Salt Lake City: Woodland Publishing, 1997. ISBN 1-885670-08-7.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AITK Allylisothiokyanát.

CP Celkové polyfenoly.

FC Folin-Ciocalteuovo činidlo.

HPLC Vysokoučinná kapalinová chromatografie.

HV Hrubá vláknina.

ITK Isothiokyanát.

KA Kyselina askorbová.

KG Kyselina gallová.

TK Titrační kyselost.

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Rostlina a oddenek zázvoru .....	13
Obr. 2. Obecný vzorec gingerolů .....	17
Obr. 3. Chemická struktura diaryheptanoidů .....	17
Obr. 4. Zázvorový sirup .....	22
Obr. 5. Kandovaný zázvor .....	23
Obr. 6. Křen selský ( <i>Armoracia rusticana</i> ) a kořen křenu .....	24
Obr. 7. Hlavní zástupci glukosinolátů obsažených v kořenu křenu .....	27
Obr. 8. Schéma degradace glukosinolátů za účasti enzymu myrozinázy .....	28
Obr. 9. Chemická struktura radikálu DPPH .....	35
Obr. 10. Vzorec kyseliny gallové .....	36
Obr. 11. Schéma přístroje HPLC .....	37
Obr. 12. Proces separace vzorku na koloně .....	38
Obr. 13. Kalibrační křivka závislosti inaktivace na koncentraci .....	59
Obr. 14. Kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové .....	62
Obr. 15. Kalibrační křivka rutinu při vlnové délce 205 nm .....	65
Obr. 16. Kalibrační křivka kyseliny gallové při vlnové délce 210 nm .....	66
Obr. 17. Kalibrační křivka kyseliny sinapové při vlnové délce 205 nm .....	67
Obr. 18. Kalibrační křivka kyseliny ferulové při vlnové délce 210 nm .....	68
Obr. 19. Srovnání obsahu HV v nativních vzorcích křenu a zázvoru .....	79
Obr. 20. Srovnání AA nativních vzorků křenu a zázvoru .....	80
Obr. 21. Srovnání CP v nativních vzorcích křenu a zázvoru .....	80

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Průměrné chemické složení sušeného zázvoru .....	15
Tab. 2. Obsah 6-gingerolu v různých odrůdách zázvoru [g/100 g sušiny] .....	16
Tab. 3. Antioxidační aktivita vybraných druhů zeleniny a aromatických bylin.....	20
Tab. 4. Průměrné chemické složení čerstvého a konzervovaného kořenu křenu .....	26
Tab. 5. Obsah celkových polyfenolů v některých druzích rostlin .....	30
Tab. 6. Specifikace vzorků zázvoru .....	42
Tab. 7. Specifikace vzorků křenu .....	43
Tab. 8. Složení mobilních fází v průběhu gradientové eluce .....	53
Tab. 9. Výsledky stanovení sušiny u nativních vzorků zázvoru.....	55
Tab. 10. Výsledky stanovení refraktometrické sušiny vzorků zázvoru .....	56
Tab. 11. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny (HV) ve vzorcích zázvoru .....	56
Tab. 12. Spotřeba OR NaOH v okolí bodu ekvivalence při stanovení TK vzorků zázvoru .....	57
Tab. 13. Titrační kyselost vzorků zázvoru .....	58
Tab. 14. Hodnoty pro kalibrační křivku KA .....	59
Tab. 15. Hodnoty obsahu mg ekvivalentu kyseliny askorbové ve 100 g vzorku zázvoru .....	61
Tab. 16. Hodnoty pro sestavení kalibrační křivky KG.....	62
Tab. 17. Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové ve 100 g vzorku zázvoru.....	63
Tab. 18. Data pro sestavení kalibrační křivky rutinu při vlnové délce 205 nm.....	64
Tab. 19. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny gallové při vlnové délce 210 nm .....	65
Tab. 20. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny sinapové při vlnové délce 205 nm .....	67
Tab. 21. Data pro sestavení kalibrační křivky kyseliny ferulové při vlnové délce 210 nm .....	68
Tab. 22. Průměrný obsah rutinu ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru .....	69
Tab. 23. Průměrný obsah kyseliny gallové ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru .....	69
Tab. 24. Průměrný obsah kyseliny sinapové ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru .....	70
Tab. 25. Průměrný obsah kyseliny ferulové ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích zázvoru.....	70

---

Tab. 26. Navážky vzorků zázvoru k analýze fenolů pomocí HPLC/UV .....	70
Tab. 27. Výsledky stanovení sušiny (S) u nativních vzorků křenu .....	71
Tab. 28. Výsledky stanovení obsahu hrubé vlákniny (HV) ve vzorcích křenu.....	72
Tab. 29. Spotřeba OR a odpovídající hodnoty pH při stanovení titrační kyselosti křenu.....	73
Tab. 30. Titrační kyselost vzorků křenu .....	74
Tab. 31. Hodnoty obsahu mg ekvivalentu kys. askorbové (ekv. KA) ve 100 g vzorku křenu.....	75
Tab. 32. Obsah mg ekvivalentu kyseliny gallové (ekv. KG) ve 100 g vzorku křenu.....	76
Tab. 33. Průměrný obsah rutinu ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích křenu.....	77
Tab. 34. Navážky vzorků křenu k analýze fenolů pomocí HPLC/UV .....	77
Tab. 35. Průměrný obsah kyseliny gallové ( $c_{fp.}$ ) [mg/100 g] ve vzorcích křenu.....	78

