

Ovocné a zeleninové nápoje a jejich biologicky aktivní látky

Bc. Marcela Paličková

Diplomová práce
2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marcela Paličková**
Osobní číslo: **T12566**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Ovocné a zeleninové nápoje a jejich biologicky aktivní látky**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Rozdělení, charakteristika a chemické složení ovoce a zeleniny.
2. Technologie výroby ovocných a zeleninových nápojů.
3. Biologicky aktivní látky ovocných a zeleninových nápojů.

II. Praktická část:

1. Shromáždění vzorků a příprava extraktů.
2. Stanovení antioxidační aktivity, celkových polyfenolů, flavonoidů a inhibice vybraných volných radikálů.
3. Zpracování výsledků a jejich vyhodnocení.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

[1] ROP, O., VALÁŠEK, P., HOZA, I. Teoretické principy konzervace potravin I. Hlavní konzervářské suroviny. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati 2005. 130 s. ISBN 80-7318-339-0.

[2] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. Chemie potravin I. 3. rozšířené a přepracované vydání. Tábor: OSSIS 2009. 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

[3] JONGEN, W. et al. Fruit and vegetable Processing. 1st Edition. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd. 2002. 395 s. ISBN 0-8493-1541-7.

[4] RODRIGUES, S., FERNANDES FAN, Advances in Fruit Processing Technologies. 1st Edition. Boca Raton, USA: CRC Press. 2012. 472 s. ISBN 978-1-43985-152-4.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jiří Mlček, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2014**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2014**

Ve Zlíně dne 10. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Bc. Marcela Paličková

Obor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové 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 ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou 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 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 práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové 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

.....

¹⁾ 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.

²⁾ 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).

³⁾ 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

Diplomová práce v teoretické části podává přehled o technologicky významných druzích ovoce a zeleniny používaných při přípravě nápojů, analyzuje biologicky aktivní látky v ovoci a zelenině, shrnuje technologické postupy při výrobě nápojů. Důraz je kladen na technologii paskalizace a zdůrazňuje její výhody oproti konvenčním způsobům konzervace nápojů.

V praktické části práce je zkoumán vliv technologie konzervace ovocných a zeleninových šťáv na obsah bioaktivních látek – polyfenolů, flavonoidů, antioxidační aktivity. Je porovnáván jejich obsah v čerstvých vzorcích šťáv, po konzervaci pasterací a po vysokotlakém ošetření – paskalizaci.

Klíčová slova: ovocné šťávy, pasterace, paskalizace, polyfenoly, flavonoidy, antioxidační aktivita

ABSTRACT

The theoretical part of Diploma thesis provides an overview of technologically important kinds of fruit and vegetables used in the preparation of beverages, it analyzes biologically active substances in fruit and vegetables, summarizes technological processes in the production of beverages. It emphasizes the technology of high pressure processing and points out its advantages over conventional methods of preservation of drinks. The practical part of the thesis looks at the impact of preservation of fruit and vegetable juices on the content of bioactive substances – polyphenols, flavonoids, antioxidizing activity. It compares their content in fresh samples of juices after pasteurization and after high pressure treatment - high pressure processing.

Key words: fruit juices, pasteurization, polyphenols, flavonoids, antioxidizing activity

Touto cestou bych ráda poděkovala všem, kteří mi pomáhali s přípravou mé práce a kteří mě jakkoliv podporovali během jejího vytváření. Zejména pak chci poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Jirímu Mlčkovi, Ph.D., za podnětné rady, čas strávený konzultacemi a jeho bezmeznou trpělivost. Dále Mgr. Radce Hanákové za pomoc s překlady zahraniční literatury. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mému manželovi Liborovi za jeho připomínky, náměty, pomoc v technických záležitostech a morální podporu.

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

Ve Zlíně

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 OVOCE.....	13
1.1 ROZDĚLENÍ OVOCE.....	13
1.1.1 Ovoce jádrové (jádroviny)	13
1.1.1.1 Jabloň (rod Malus).....	13
1.1.2 Cizokrajné ovoce	14
1.1.2.1 Citronovník (Citrus limon)	14
1.1.2.2 Pomerančovník pravý (Citrus sinensis)	14
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OVOCE.....	15
1.2.1 Voda.....	15
1.2.2 Sacharidy.....	16
1.2.3 Bezdušikáté látky.....	17
1.2.3.1 Organické kyseliny	17
1.2.3.2 Pektinové látky	17
1.2.3.3 Tuky.....	17
1.2.3.4 Aromatické látky	18
1.2.3.5 Minerální látky (popeloviny)	18
1.2.4 Dusíkaté látky.....	18
1.2.5 Vitaminy	19
1.3 VÝŽIVOVÉ HODNOTY OVOCE POUŽITÉHO V PRAKTICKÉ ČÁSTI	20
2 ZELENINA.....	21
2.1 ROZDĚLENÍ ZELENINY	21
2.1.1 Košťálová zelenina	21
2.1.1.1 Zeli hlávkové (Brassica oleracea var. capitata).....	21
2.1.1.2 Brokolice (Brassica oleracea var. italica)	22
2.1.2 Kořenová zelenina	22
2.1.2.1 Mrkev (Daucus carota)	22
2.1.2.2 Červená řepa.....	22
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ZELENINY	23
2.2.1 Voda.....	23
2.2.2 Sacharidy obsažené v zelenině	23
2.2.3 Minerální látky obsažené v zelenině	23
2.2.4 Dusíkaté látky obsažené v zelenině	24
2.2.5 Enzymy	24
2.2.6 Aromatické látky obsažené v zelenině	24
2.2.7 Vitaminy obsažené v zelenině	24
2.2.8 Chlorofyl obsažený v zelenině	25
2.3 VÝŽIVOVÉ HODNOTY ZELENINY POUŽITÉ V PRAKTICKÉ ČÁSTI	25
3 BIOAKTIVNÍ LÁTKY OVOCE A ZELENINY	26
3.1 SEKUNDÁRNÍ ROSTLINNÉ LÁTKY	26
3.1.1 Rozdělení dle chemické struktury	26
3.1.1.1 Karotenoidy.....	26
3.1.1.2 Fytosteroly	27

3.1.1.3	Saponiny	27
3.1.1.4	Glukosinoláty	27
3.1.1.5	Fytoestrogeny	28
3.1.1.6	Sulfidy	28
3.1.1.7	Polyfenoly	29
3.2	VOLNÉ RADIKÁLY A ANTIOXIDANTY	32
3.2.1	Volné radikály	32
3.2.2	Vznik volných radikálů	32
3.2.3	Antioxidanty	35
3.2.3.1	Antioxidační ochrana	35
3.2.3.2	Antioxidanty nízkomolekulární	36
3.2.3.3	Význam suplementace antioxidantů	38
4	TECHNOLOGIE VÝROBY OVOCNÝCH A ZELENINOVÝCH NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJŮ	40
4.1	LEGISLATIVA	40
4.2	POJMY	40
4.2.1	Ovocné a zeleninové šťávy	41
4.3	TECHNOLOGIE VÝROBY OVOCNÝCH A ZELENINOVÝCH ŠŤÁV	41
4.3.1	Předběžné operace	41
4.3.2	Macerované ovoce a zelenina	41
4.3.3	Výroba šťáv lisovaných - čířených	42
4.3.4	Konzervace vysokým tlakem	42
II	PRAKTICKÁ ČÁST	47
5	CÍL PRÁCE	48
6	MATERIÁL A METODY	49
6.1	POUŽITÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJOVÁ ZAŘÍZENÍ	49
6.1.1	Přístroje a zařízení	49
6.1.2	Použité chemikálie	49
6.1.3	Použité vzorky ovocných a zeleninových šťáv	50
6.2	SLEDOVANÉ PARAMETRY	51
6.3	METODIKA STANOVENÍ	51
6.3.1	Příprava vzorků šťáv	51
6.3.2	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH	52
6.3.3	Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS	52
6.3.4	Analýza celkových polyfenolů	53
6.3.5	Analýza celkových flavonoidů	54
6.3.6	Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH [•] a NO [•]	54
7	VÝSLEDKY	56
7.1	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH	56
7.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS	57
7.3	ANALÝZA CELKOVÝCH POLYFENOLŮ	59
7.4	ANALÝZA CELKOVÝCH FLAVONOIDŮ	60
7.5	STANOVENÍ ÚBYTKOVÉ AKTIVITY RADIKÁLŮ OH [•] A NO [•]	62
8	DISKUSE	65

8.1	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	65
8.2	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	68
8.3	POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ METODOU DPPH A ABTS.....	70
8.4	ANALÝZA CELKOVÝCH POLYFENOLŮ.....	72
8.5	STANOVENÍ CELKOVÝCH FLAVONOIDŮ.....	76
8.6	STANOVENÍ ÚBYTKOVÉ AKTIVITY RADIKÁLŮ OH [•] A NO [•]	79
8.6.1	Stanovení úbytkové aktivity radikálu OH [•]	79
8.6.2	Stanovení úbytkové aktivity radikálu NO [•]	80
	ZÁVĚR.....	85
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	87
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	97
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	98
	SEZNAM TABULEK.....	99
	SEZNAM PŘÍLOH.....	100

ÚVOD

Ovoce a zelenina a z nich vyrobené nápoje obsahují velké množství biologicky aktivních látek, které jsou schopné snižovat riziko např. nádorového bujení nebo tzv. civilizačních chorob. Tyto bioaktivní látky se zapojují do biochemických procesů a jsou účinnými pomocníky imunitního systému.

Ovoce a zelenina jsou proto velmi důležitou součástí lidské výživy. V rámci pitného režimu jsou hojně využívány ovocné šťávy v podobě džusů a nektarů. Klasickým výrobním postupem je jejich příprava z koncentrátů. V souvislosti se současnými trendy používání tzv. přírodních produktů se ve stále větší míře setkáváme s ovocnými a zeleninovými šťávami v podobě 100% šťáv připravovaných technologií lisováním za studena.

Jedním z postulátů, které zastánci těchto přírodních nápojů zastávají, je zachování maximálního množství biologicky aktivních látek v hotovém nápoji. Problémem jsou ztráty těchto látek při použití konvenčních způsobů konzervace, jako je pasterace. Novým trendem je konzervace vysokým tlakem, tzv. paskalizace, která podle literárních údajů umožňuje minimální ztráty vitaminů a minerálních látek.

V diplomové práci bude popsán význam některých druhů ovoce a zeleniny, technologické postupy při přípravě ovocných nápojů, budou rozebrány jednotlivé významné bioaktivní látky v ovoci a zelenině se zaměřením na antioxidanty a blíže budou popsány výhody paskalizace.

Na tento teoretický základ bude navazovat praktická část, ve které bude sledován obsah významných biologicky aktivních látek v ovocných a zeleninových šťávách a bude srovnáván jejich obsah v čerstvé šťávě, ve šťávě ošetřené pasterací a paskalizací.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OVOCE

Jako ovoce jsou označovány četné, téměř bez výjimky v syrovém stavu požitelné plody a semena kulturních a divoce rostoucích rostlin. Význam ovoce spočívá zejména v tom, že je jednou z hlavních součástí výživy člověka. Největší význam má konzumace čerstvého ovoce, ve kterém jsou zachovány všechny cenné látky v neporušeném stavu. Má vliv na funkce nervového systému, tvorbu krve, podporuje trávení a látkovou výměnu v organismu. Kromě vitaminů je ovoce zdrojem antioxidantů, minerálních látek, organických kyselin. Suché plody skořápkovin s vysokým obsahem olejů jsou i významným zdrojem energie [1].

V přehledu bude uveden stručný popis ovocných druhů, které byly použity při přípravě šťáv, jež byly podrobeny laboratornímu zkoumání.

1.1 Rozdělení ovoce

Ovoce lze rozdělit na skupiny podle plodů. Rozeznáváme ovoce jádrové (jablka, hrušky), peckovité (třešně, broskve, višně, meruňky, švestky), bobuloviny (jahody, rybíz, angrešt, hroznové víno), ovoce skořepinové neboli skořápkoviny (ořechy vlašské, lískové, mandle, jedlé kaštiny). Zvláštní skupinu tvoří jižní ovoce - citrusy, citrony, pomeranče, grapefruity, mandarinky a mnohé další [2, 3].

1.1.1 Ovoce jádrové (jádroviny)

Jádrovým ovocem rozumíme plody stromů, které patří botanicky mezi růžovité rostliny (*Rosaceae*). Semena (jádra) jsou v blanitých pouzdrech v dužnatém oplodí, které tvoří nepravý plod neboli malvici. Mezi technologicky nejpoužívanější plodiny zařazujeme jablka a hrušky. K méně známým ovocným druhům patří kdouloň, mišpule, oskeruše a jeřáb [4].

1.1.1.1 Jabloň (*rod Malus*)

Ve světě i u nás se pěstuje několik druhů jabloní a jejich kříženců. Největší význam má jabloň domácí (*Malus domestica*). Její odrůdy rozdělujeme podle doby zrání na letní, podzimní, raně zimní a pozdně zimní. U letních odrůd nastává konzumní zralost za 2 - 8 týdnů, u raně zimních za 8 - 12 týdnů, u pozdně zimních odrůd za 12 - 18 týdnů po sklizni. Přezralá jablka ztrácejí na technologické kvalitě díky moučnatění, ztrátě chuti, někdy i příčně praskají a podléhají skládkovým chorobám [5].

Mezi hospodářsky nejdůležitější odrůdy jablek patří:

- letní odrůdy: Průsvitné letní, Quinte, Vista Bella, Discovery, Mantet, Sumerred.
- podzimní odrůdy: Akane, Doris, James Grieve, Oldenburgovo.
- raně zimní odrůdy: Dukát, Jonathan, Melrose, Ontario, Prima, Šampion, Elstar.
- pozdně zimní odrůdy: Coxova reneta, Florina, Gloster, Golden Delicious, Idared, Rubín, Spartan, Starkrimson, Red Delicious, Jonagold [6, 7].

1.1.2 Cizokrajné ovoce

Jde o nesourodou skupinu, do níž řadíme veškeré ovocné druhy pěstované v subtropickém a tropickém pásmu. Jsou to například plody citrusů (citrony, cedrát, pomeranče, mandarinky, grapefruity, limety, pomelo), banány, ananasy, kiwi, avokádo, rambutan, tomel, mučenky, karambola, anona (čerimoja), granátové jablko, kvajava, liči, papája, fíky, datle [8].

Podrobnější informace se rozsahem vymykají rozsahu této diplomové práce. Vzhledem k použití citronu a pomeranče ve složení ovocné šťávy použité v praktické části budou uvedeny základní informace o těchto druzích ovoce.

1.1.2.1 Citronovník (*Citrus limon*)

Citron je plod citronovníku (*Citrus limon*). Plody citronů jsou vejcovitého tvaru, mají velikost slepičího vejce či menší. Mohou být od tmavě, přes světle zelené až do žluta.

Citrony obsahují velké množství kyseliny citronové (3,5 - 8,0 g/100 g) a přibližně kolem 88 % vody, proto se využívají jako přírodní okyselující prostředek do řady pokrmů, nebo se z nich získává kyselá šťáva. Z obsahu bioaktivních látek mají význam flavonoidy, pektin, vonné silice, provitamin A, vitamín B, sacharidy. Jsou též zdrojem vápníku, draslíku, fosforu, hořčíku, železa, zinku a dalších [8, 9].

1.1.2.2 Pomerančovník pravý (*Citrus sinensis*)

Pomeranč je plod pomerančovníku pravého (*Citrus sinensis*). Pomerančovníky jsou stromy, zřídka i keře. Je rozšířen do všech subtropických oblastí, v tropech se mu pro přílišnou vlhkost nedaří. Jde o nejvíce pěstované citrusové ovoce. Pomerančovníky mají kvalitní plody jen tehdy, projdou-li během vývoje chladným obdobím.

Plody - pomeranče - jsou bobule ve velikostech 5 až 12 cm, kulovité až oválné. Kůra plodu bývá barvy žluté, oranžové nebo šarlatově červené, je poměrně tenká, přiléhající k dužnině, někdy obtížně loupatelná [8].

Plody jsou kvalitním zdrojem vitamínu C a konzumují se začerstva, kompotují se nebo lisují na šťávu. Ze slupek se získává pektin a esenciální oleje, využívané k aromatizování potravin a v kosmetice. Mohou být využity i v lékařství pro výrobu tinktur. Květ se pro jeho vůni a chuť používá jako upravující složka řady čajových směsí [10].

Pomerančovníky se dělí podle vlastnosti plodů do tří základních skupin:

1. Obyčejné – pomeranče s poměrně tenkou slupkou, žlutou až oranžovou dužninou, pěstované převážně ve Španělsku a na Blízkém Východě, pro přímý konzum i pro lisování.
2. Krvavé – mají červené žilky v dužnině a šťávu fialově rudé barvy
3. Pupečné – jsou to pomeranče se základem druhého plodu na bliznové straně plodu, která vypadá jako pupek [8, 10].

1.2 Chemické složení ovoce

Fyziologickou funkci ovoce v lidské výživě určuje jeho chemické složení. Lze konstatovat, že složení ovoce je charakterizováno přítomností všech dosud známých živin v různém množství. Pro konečné ocenění hodnoceného ovoce není ale rozhodující, obsahuje-li některou ze základních živin v menším množství.

Hlavní podíl ovoce tvoří voda (75 až 95 %). Voda umožňuje biochemické reakce v buňce a pletivech. Zbytek po vysušení vody je tzv. sušina, která je tvořena řadou chemických látek [11].

1.2.1 Voda

Obsah vody v dužnatém ovoci v čerstvém stavu činí 70 - 95 %, obvykle 80 – 85 % vody. Ovoce skořápkové v čerstvém stavu obsahuje 20 – 25 % a ve zralém 4 – 8 %. Hlavní složkou sušiny jsou monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy, u skořápkového ovoce je to tuk. Dále ovoce zahrnuje organické kyseliny, dusíkaté látky (aminokyseliny a proteiny), minerální látky, lipidy, fenoly, enzymy a malá množství pigmentů, aromatických látek a vitamínů [5].

Voda v ovoci a zelenině je obsažena jednak jako volná, jednak vázaná na koloidy. Volná voda se nachází ve šťávě buněk a slouží jako rozpouštědlo pro ostatní látky, které šťávy obsahují (sacharidy, kyseliny apod.). Voda vázaná na koloidy tvoří kolem nich vodní obal, který je jejich neoddělitelnou součástí. Vázaná voda se od volné vody liší větší hustotou, nižším specifickým teplem, nezamrzáním při nízkých teplotách, vysušováním se odstraňuje mnohem obtížněji než volná voda a není rozpouštědlem pro látky, které se ve volné vodě snadno rozpouštějí [12].

1.2.2 Sacharidy

Sacharidy tvoří podstatnou složku ovoce. Jejich obsah závisí na druhu ovoce, odrůdě, stupni zralosti, klimatu i vegetačním období. Většina našich druhů jádrového ovoce obsahuje 5 až 15 % sacharidů, peckové ovoce 6 až 25 % sacharidů a v drobném bobulovém ovoci se nachází 3 až 19 % sacharidů [11].

Z monosacharidů bývají nejčastěji zastoupeny hexózy $C_6H_{12}O_6$ – hlavně glukóza, fruktóza, v menší míře manóza, galaktóza a sorbóza. Glukóza, též nazývaná hroznový cukr, je velmi rozšířená v ovoci, zejména peckovém. Je dobře zkvasitelná a je součástí disacharidů a polysacharidů. Fruktóza, zvaná jako ovocný cukr, se podobně jako glukóza vyskytuje v ovoci buď volná, nebo jako složka složených sacharidů. Nachází se hlavně v jádrovém ovoci. Je také velmi dobře zkvasitelná. Vzájemný poměr glukózy a fruktózy v ovoci závisí na druhu, odrůdě, stanovišti, vegetačním stadiu a dalších faktorech [13].

Oligosacharidy jsou složené cukry, jejichž molekula sestává ze dvou a více molekul monosacharidů. Jejich zkvasitelnost závisí na tom, zda použité kvasinky obsahují příslušný specifický enzym, který by oligosacharid štěpil na odpovídající monosacharidy. Hlavními zástupci jsou sacharóza, maltóza a celobióza. Sacharóza, též nazývaná řepný nebo třtinový cukr, je velmi rozšířená v ovoci (až 18 %), v řepě (až 20 %) a v cukrové třtině (až 26 %). Je zkvasitelná až po hydrolýze kyselinami nebo enzymem β -fruktosidázou [11].

Polysacharidy jsou vysokomolekulární sloučeniny složené z velkého počtu jednotlivých molekul monosacharidů. Jedním ze zástupců je celulóza $(C_6H_{10}O_5)_n$, která se nachází ve stěnách rostlinných tkání. Hydrolýzou přechází na tetrasacharidy a postupně na trisacharidy, disacharidy a glukózu. Dalším zástupcem je škrob, jenž je složkou nezralého ovoce a v průběhu zrání se dokonale odbourává [5, 12].

1.2.3 Bezdusíkaté látky

Mezi bezdusíkaté látky v ovoci řadíme organické kyseliny netěkavé i těkavé, pektinové látky, třísloviny, aromatické látky a popeloviny. Z hlediska výroby nápojů z ovoce jsou důležité zejména ty látky, které přecházejí z použité suroviny až do finálního výrobku, nebo se během technologie pozměňují za vzniku chuťových i vonných látek a tím se podílejí na požadovaných fyzikálně-chemických i smyslových znacích finálního výrobku [11].

1.2.3.1 Organické kyseliny

Organické kyseliny povzbuzují chuť, činnost trávicích enzymů a zažívacího traktu. Příznivě ovlivňují hlavně chuť, zejména při harmonickém sladění kyselosti s obsahem sacharidů, tříslovin a aromatických látek. Kromě toho usnadňují zpracování ovoce a zvyšují údržnost výrobku. Z organických kyselin obvykle nacházíme kyselinu jablečnou, citronovou, vinnou, jantarovou, šťavelovou, mléčnou a benzoovou [13].

Obsah organických kyselin je odvislý od druhu ovoce a na stupni jeho zralosti. Vysoký obsah kyselin je v nezralém ovoci a v plodech, jež jsou mikrobiálně poškozeny. V hroznech vinné révy převládá kyselina vinná, v meruňkách a třešních kyselina jablečná a v bobulovém ovoci kyselina citrónová [12].

1.2.3.2 Pektinové látky

Patří mezi velmi rozšířené složky prakticky ve všech druzích ovoce. Mají technologický význam při rosolování produktů vyráběných konzervačními technologiemi. Obsah pektinových látek závisí na druhu ovoce a jeho zralosti. U jablek a hrušek bývá průměrně 1 až 4 %, u peckového ovoce 1 % (u švestek až 4,2 %), u bobulového ovoce 0,6 až 1,8 % [13].

1.2.3.3 Tuky

Obsah tuků v ovoci je u většiny druhů zanedbatelný. Chemicky jde většinou o estery vyšších mastných kyselin a glycerolu. U vosků je glycerolová složka nahrazena vyššími primárními alkoholy. V ovoci jsou tuky obsaženy hlavně v jádrech jako zásobní látky, vosky pak ve slupkách jako ochranná vrstva [11].

1.2.3.4 Aromatické látky

Aromatické látky zahrnují veškeré vonné a chuťové látky působící na čichové nebo chuťové receptory, jedná se tedy o látky vyvolávající současně dojem vůně a chuti. Společně s organickými kyselinami a tříslovinami rozhodují o smyslové přijatelnosti ovoce. Mezi hlavní složky aromatických látek patří estery organických kyselin, aldehydy, ketony, vyšší alkoholy a glykoly (např. acetaldehyd, geraniol, terpineol, linalool, citral apod.). Jejich vůně a chuť je velmi intenzivní, je možné je rozeznat i při ředění 1:1 000 000 [13].

1.2.3.5 Minerální látky (popeloviny)

Minerální látky, jinak též nazývané popeloviny, jsou důležitým činitelem zdravé výživy a bývají z tohoto hlediska označovány jako biogenní minerály. Označení vzniklo z toho důvodu, že při totálním spálení ovocné suroviny zůstávají jednotlivé prvky jako popel.

Lze je klasifikovat podle různých kritérií, např. s ohledem na jejich množství, biologický a nutriční význam, účinky ve stravě a původ.

Podle množství dělíme minerální látky do těchto skupin:

1. Majoritní minerální prvky (makroelementy), které se vyskytují v potravinách ve větším množství, obvykle v setinách až jednotkách hmotnostních procent (tj. ve stovkách až deseti tisících mg/kg) – Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S.
2. Minoritní minerální prvky, které jsou obsaženy v potravinách v menších množstvích představujících několik desítek až stovek mg/kg – tvoří přechod mezi majoritními a stopovými prvky - obvykle se sem řadí Fe a Zn.
3. Stopové prvky (mikroelementy) jsou zastoupeny v ještě nižších koncentracích (desítky mg/kg a méně), k potravinářsky důležitým stopovým prvkům patří Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, F, Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn [11, 12].

1.2.4 Dusíkaté látky

Látky dusíkaté v ovoci jsou zastoupeny hlavně bílkovinami. Jejich obsah v běžných druzích ovoce je z hlediska výživového zanedbatelný. Hlavní stavební jednotkou bílkovin jsou aminokyseliny, přičemž se v ovoci vyskytují téměř všechny známé aminokyseliny. Normálně bývá v ovoci obsaženo 0,056 až 0,35 % celkového dusíku. Podle druhu ovoce

mívá bobulové ovoce 0,1 až 0,35 %, peckové 0,07 až 0,2 % a jádrové ovoce 0,03 až 0,13 % [13].

1.2.5 Vitaminy

Vitaminy definujeme jako biologické katalyzátory, které většinou v minimální koncentraci účelně ovlivňují systém látkové a energetické výměny v našem organismu. Každý z vitaminů má určitou optimální hladinu a organismus ji musí udržovat pravidelným příjmem. Vitaminy jsou tříděny na vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní – skupina vitaminů B a vitamin C) a rozpustné v tucích (lipofilní - vitaminy A, D, E, K) [13].

Do skupiny vitaminů hydrofilních patří skupina vitaminů B a C. Obě tyto skupiny vitaminů se vyznačují poměrně širokým výskytem a zejména vitaminy skupiny B jsou pokládány za nepostradatelnou složku živých tkání. Jejich zastoupení v ovoci je natolik nízké, že zásadně nemohou ovlivnit výživu člověka [11].

Ovoce a zelenina je bohatým zdrojem kyseliny askorbové (zvaná též vitamin C). Její obsah je podmíněn druhem, odrůdou, stanovištěm, hnojením, vegetačním stadiem a dalšími podmínkami. Lidská spotřeba vitaminu C je ve srovnání s jinými vitaminy značně vysoká a pohybuje se mezi 50 až 100 mg denně, u vitaminu B1 a B2 tato činí jen 1 až 2 mg denně [14].

Kyselina askorbová bývá u ovoce často doprovázena provitaminy A, jež se řadí do rozsáhlé skupiny rostlinných pigmentů, zvaných karotenoidy. V současné době je prokázáno kolem 100 různých druhů, z nichž devět je biologicky aktivních. Nejaktivnější je β -karoten, z něhož enzymatickým štěpením v játrech vzniká vitamin A. Jeho průměrná spotřeba činí kolem 5 000 m. j. [13].

Podobně jako vitamin C ovlivňuje vitamin A metabolické pochody v živém organismu, ale odlišným mechanismem. Při jeho trvalém nedostatku a hlavně při úplném vyčerpání nastávají chronické nebo akutní poruchy organismu. Typickými projevy jsou především zpomalení nebo zastavení růstu, snížená tvorba protilátek a pokles odolnosti vůči infekčním chorobám. Ostatní lipofilní vitaminy, jako je skupina vitaminů D, E, a K, se vyskytují jak v rostlinných, tak v živočišných soustavách ve značně omezené míře [11].

1.3 Výživové hodnoty ovoce použitého v praktické části

V tabulkách jsou shrnuty nutriční hodnoty a obsah nejdůležitějších vitaminů a minerálních látek u ovoce použitého ve šťávách, které byly analyzovány v praktické části diplomové práce (jablko, citron, pomeranč).

Tabulky jsou uvedeny v přílohách I – III.

2 ZELENINA

Čerstvou zeleninou rozumíme jedlé části, zejména kořeny, bulvy, listy, nat', květenství, plody jednoletých nebo víceletých rostlin uváděné do oběhu bezprostředně po sklizni nebo po určité době skladování v syrovém stavu.

Význam zeleniny pro lidskou výživu spočívá v jejím obsahu vitaminů a minerálních látek. Obsahují též fytoncidy s antibiotickým charakterem. Předností zeleniny je i bohatý obsah regulačních látek důležitých pro trávení (enzymy, organické kyseliny, vláknina). I proto je z hlediska dietetického považována za hodnotnější než ovoce [1, 4].

V přehledu bude uveden stručný popis zeleninových druhů, které byly použity při přípravě šťáv, jež byly podrobeny laboratornímu zkoumání.

2.1 Rozdělení zeleniny

Zeleninu rozdělujeme do následujících skupin: košťálová, plodová, cibulová, kořenová, listová, lusková. Dále sem lze přiřadit i natě, klasy a výhonky.

2.1.1 Košťálová zelenina

Košťáloviny jsou většinou dvouleté rostliny, jež v prvním roce vytvářejí konzumní části a ve druhém roce vykvétají a přinášejí semena. Pocházejí z původního planého druhu brukve zelné (*Brassica oleracea*). Užitkovou částí jsou nadzemní části zeleniny [15].

2.1.1.1 Zelí hlávkové (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

Je využíváno k přímé spotřebě v čerstvém stavu, nebo konzervované, a to mléčným kvašením nebo sterilací. Důležité je obsahem vitaminů C, B a provitaminu A, z minerálních látek obsahuje zejména síru a draslík.

Podle délky vegetační doby se odrůdy dělí na:

1. rané – vegetační doba 110 – 120 dní
2. polorané – vegetační doba 120 – 140 dní
3. zelí pro uskladnění a krouhání – vegetační doba 170 – 200 dní [16].

2.1.1.2 Brokolice (*Brassica oleracea* var. *italica*)

Brokolice je jedlá rostlina druhu brukev zelná (*Brassica oleracea*), která je druhem kapusty a příbuzná květáku. Jde o jednoletou i dvouletou rostlinu. Pochází z oblasti Středomoří. Rozlišujeme dva druhy brokolice, a to brokolici stonkovou (chřestovou - calabrese) a brokolici květákovou. Rostliny se pěstují pro dužnaté stonky s růžicemi, přičemž se konzumují nerozvinutá květenství, která se upravují podobně jako květák. Jedná se o nenáročnou plodinu, které se dobře daří i ve vlhkých podhorských oblastech [17].

Brokolice je bohatá na vitamin C, beta-karoten (provitamin A), vitamin E, vitamin B1, kyselinu listovou (B9) a vitamin B2, z minerálních látek obsahuje především draslík, vápník, fosfor a síru. Bohatá je samozřejmě i na vlákninu. V poslední době se objevily studie, které potvrzují, že brokolice výrazně ochraňuje lidský organismus proti volným radikálům, toxickým a rakovinotvorným látkám [18].

2.1.2 Kořenová zelenina

Zařazujeme sem většinou dvouleté rostliny z čeledi miříkovitých. Mají široké uplatnění v konzervárenství v nejrůznějších typech výrobků, od salátů až po nápoje [4].

2.1.2.1 Mrkev (*Daucus carota*)

Odrůdy mrkve dělíme na odrůdy rané (karotky), polopozdní a pozdní. Karotky mívají kořeny zpravidla kratší a tupě ukončené. Sklízají se v létě. Jsou kvalitnější vyšším obsahem cukrů a mají jemnější chuť. Polopozdní a pozdní odrůdy mrkve mají dlouhé větvenovité kořeny, poskytují vyšší výnosy a sklizeň probíhá obvykle na podzim [15, 19].

2.1.2.2 Červená řepa

Červená řepa (*Beta vulgaris* var. *vulgaris*) je dvouletá rostlina, zařazená do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Jedná se o kořenovou zeleninu, u níž se obvykle konzumuje její podzemní část [16].

Jedná se o jeden z nejrozšířenějších druhů pěstovaných řep. Její spotřeba je rozšířena převážně ve východní Evropě, kde se používá např. pro přípravu boršče, u nás je hojně používána ve sterilované podobě jako zeleninová příloha. Konzumuje se zejména podzemní kořenová část. Dají se konzumovat i zelené listy [15].

Obsahuje v hojném množství barvivo betanin, který brání rozvoji kornatění tepen a podporuje činnost jater, rozšiřuje věnčité tepny a zpevňuje stěnu vlasečnic. Má také účinky močopudné, povzbuzuje činnost žaludku a tvorbu žluči. Je to zelenina velmi hodnotná – obsahuje sodík, draslík, vápník a hořčík, z mikroprvků rubidium a caesium. Důležitý je obsah rostlinných barviv, antokyanů. Z vitamínů obsahuje vitamín C, vitamíny skupiny B a další [20].

2.2 Chemické složení zeleniny

Zelenina je zdrojem základních živin důležitých pro výživu člověka - sacharidů, bílkovin a tuků, které jsou obsaženy v různých poměrech. Kromě nich je obsažena i řada dalších specifických látek nezbytných pro lidské zdraví. Mezi ně řadíme především vitamíny, minerální látky, hrubá vláknina, silice, fytoncidy a jiné ochranné a léčivé látky [4].

2.2.1 Voda

Voda je základní složkou potravin. U zeleniny je její obsah bohatý a tvoří 90 - 96 %. Obsah vody závisí na mnoha faktorech. Nejdůležitější z nich jsou druh nebo odrůda zeleniny, klima, vegetační podmínky, stáří, stupeň zralosti a podobně [5].

2.2.2 Sacharidy obsažené v zelenině

Sacharidů v zelenině je obsaženo v průměru 7 %, což činí cca 90 % její sušiny. Jsou v ní zastoupeny v podobě sacharidů, škrobu, inulinu, hrubé vlákniny a organických kyselin. Jednoduché cukry - glukóza a fruktóza jsou přítomny téměř ve všech druzích zeleniny. Vedle glukózy a fruktózy jsou v zelenině zastoupeny také sacharóza a různé polysacharidy. Z polysacharidů zahrnuje zelenina škrob, celulosu, hemicelulosu a pektiny jako stavební složku buněčných stěn. Škrob ve stadiu zralosti se hydrolyzuje na glukózu. U černého kořene, artyčoku i čekanky je reverzním sacharidem inulin, poskytující při hydrolyze fruktózu [13, 14].

2.2.3 Minerální látky obsažené v zelenině

Minerální látky jsou nazývány též jako popeloviny. Ve srovnání s ovocem se nacházejí ve větší míře v zelenině a jejich obsah činí 0,6 - 1,8 %. Obsah minerálních látek v zelenině je zapotřebí brát v potaz při jejich další úpravě nebo jiném zpracování. Je to proto, jelikož vlivem použité technologie se až 50 % minerálních látek obsažených v původní surovině vyluhuje ve vodě [12, 21].

2.2.4 Dusíkaté látky obsažené v zelenině

Jsou tvořeny pouze částečně bílkovinami, 20 - 65 % dusíkatých látek připadá na nebílkovinné složky (aminokyseliny, aminy). Zeleniny s intenzivně zelenými listy, např. špenát, se vyznačují vysokým obsahem proteinů a esenciálních aminokyselin. V luskovinách je obsažen vysoký podíl bílkovin, jejichž zastoupení se pohybuje kolem 22 - 24 % [5].

2.2.5 Enzymy

Kromě svých funkcí v metabolismu mají i praktický technologický význam při skladování a zpracování zeleniny. Enzymy u zeleniny totiž způsobují zpravidla zhoršení jakosti, kdy dochází především ke změně barvy, konzistence, rozkladu látek na jiné, zapáchající a někdy i toxické. [13].

Neenzymové hnědnutí má význam zejména při sušení zeleniny, může se však projevit i při výrobě sterilované zeleniny a při zmrazování. Hnědnutí probíhá hlavně za přítomnosti kyslíku a je ovlivněno dobou působení teploty při skladování. Na této reakci se podílí redukující cukry, organické kyseliny, aminokyseliny, aminy a jiné látky [22].

2.2.6 Aromatické látky obsažené v zelenině

Aromatické oleje obsažené v zelenině mají významnou dietetickou hodnotu. Důležité jsou některé aromatické látky přítomné například v česneku, cibuli, pórku, křenu, hořčici, ředkvi a kapustě. Ve všech případech se jedná o komplexní organické látky v molekulách zahrnující síru (S). Při jejich zahřívání uniká vytvořený a páchnoucí sirovodík. Tento odpudivě páchnoucí plyn paradoxně působí povzbudivě na chuť a trávení.

Některé z těchto látek mají baktericidní účinky, působí podobně jako fytoncidy (u česneku a cibule), tedy mají desinfekční vliv v zažívacím traktu [5].

2.2.7 Vitaminy obsažené v zelenině

Vitamin C patří k výživově nejdůležitějším složkám zeleniny. V obsahu kyseliny askorbové dominuje listová zelenina oproti plodové. Obsah vitamínu C kolísá podle druhů a odrůd a také dle stupně zralosti, doby sklizně, délky a podmínek skladování. Vliv má též působení klimatu a průběhu vegetace. Kyselina pantothenová se vyskytuje v nejrůznějších částech rostlin [13].

2.2.8 Chlorofyl obsažený v zelenině

Zelené zbarvení listů a nezralých plodů je způsobeno modrozeleným chlorofylem a žlutozeleným chlorofylem b, které se vyskytují v poměru 3:1. V chloroplastech je chlorofyl vázán na proteiny a lipoproteiny, čímž získává stabilitu vůči světlu a kyslíku [5].

2.3 Výživové hodnoty zeleniny použité v praktické části

V tabulkách jsou shrnuty nutriční hodnoty a obsah nejdůležitějších vitaminů a minerálních látek u zeleniny použité ve šťávách, které byly analyzovány v praktické části diplomové práce (zelí, brokolice, mrkev, červená řepa).

Tabulky jsou uvedeny v přílohách IV - VII.

3 BIOAKTIVNÍ LÁTKY OVOCE A ZELENINY

Bioaktivní (biologicky aktivní) látky jsou látky, které se účastní nejrůznějších biologických procesů a mají protektivní význam při ochraně před zhoubným bujením a degenerativním onemocněním srdce a cév. Řadíme mezi ně sekundární rostlinné látky, vlákninu a látky ve fermentovaných potravinách [23].

3.1 Sekundární rostlinné látky

Primární rostlinné látky jsou sacharidy, lipidy, bílkoviny a vláknina, které se vytvářejí v každé rostlině při primární látkové výměně. Oproti tomu sekundární látky jsou obsaženy v malém množství, pouze v některých rostlinách a i přes svůj velmi malý obsah mají důležité funkce. V lidském organismu se mohou účastnit při ochraně proti nádorům a infekcím, působí protizánětlivě, snižují krevní lipidy, ovlivňují hladinu glukózy v krvi a podporují trávení [24].

3.1.1 Rozdělení dle chemické struktury

Sekundární rostlinné látky lze rozdělit z hlediska jejich chemické struktury do několika skupin.

3.1.1.1 *Karotenoidy*

Karotenoidy jsou žluté a oranžové, výjimečně též žlutozelené a červené, převážně lipofilní pigmenty. Většina karotenoidních látek se řadí mezi tetraterpeny, tedy mezi terpenoidy. Barevnost zajišťuje řetězec konjugovaných dvojných vazeb, který se vyskytuje v několika strukturách a jejich kombinacích. Rozdělujeme je na uhlovodíky – karoteny a na kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenů, které se nazývají xanthofyly, jež jsou hlavními karotenoidy rostlin [23].

Karotenoidy jsou nejrozšířenějšími lipofilními barvivy mnoha druhů ovoce a zeleniny. Jsou mnohdy doprovázeny jinými barvivy, např. anthokyany [24].

Z hlediska technologického zpracování je podstatné, že karotenoidy z mrkve a rajčat jsou stabilní proti vyšším teplotám. Aby byl zaručen dostatečný přísun těchto látek, doporučuje se proto konzumovat střídavě syrovou a tepelně opracovanou zeleninu. Karotenoidy se zařazují mezi antioxidanty a mohou tak snižovat riziko nádorů a kardiovaskulárních onemocnění. Kromě toho zpomalují pravděpodobně růst nádorů a zvyšují obranyschopnost organismu proti infekcím [21].

3.1.1.2 *Fytosteroly*

Fytosteroly (rostlinné steroly) patří mezi lipofilní, přirozeně se vyskytující sloučeniny, zejména v potravinách rostlinného původu. Mezi nejrozšířenější sloučeniny patří β -sitosterol, kampesterol a stigmasterol. V rostlinných buňkách zastávají řadu biologických funkcí, zejména v buněčných membránách. V potravinách se vyskytují buď volné, nebo ve formě konjugátů – zejména jako estery a glykosidy [13].

Fytosteroly jsou přirozenou součástí olejů ze semen celé řady rostlin, doporučovány jsou zejména tzv. panenské. Ovoce a zelenina obsahují malé množství fytosterolů. Z potravin živočišného původu se fytosteroly nacházejí např. v rybách. Jako vhodné zdroje mohou sloužit např. rýžové otruby, kukuřičný (klíčkový) olej, sezamové semeno, ořechy, sója, pohanka, obiloviny nebo mandle. V organismu působí fytosteroly preventivně proti kardiovaskulárním onemocněním, díky inhibici střevní absorpce cholesterolu ovlivňují metabolismus lipidů snížením celkového a LDL – cholesterolu. Je možná i protinádorová aktivita ve střevě [25].

3.1.1.3 *Saponiny*

Saponiny jsou heteroglykosidy, jež se vyskytují převážně v rostlinách. Jejich největší množství bývá obsaženo v kořenech, kůře rychle rostoucích částech rostlin. Vyskytují se zejména v luštěninách [21].

Saponiny vykazují některé společné vlastnosti, jako jsou např. hořká chuť, detergentní účinky, hemolytické účinky, reagují se žlučovými kyselinami, cholesterolem a s jinými steroly. Lze je využívat jako pěnotvorné látky, emulgátory a antioxidanty [24].

Mohou se nepříznivě uplatnit v organoleptických vlastnostech potravin, jelikož působí nežádoucí hořkost a trpkost sojových bobů a luštěnin. Saponiny působí protizánětlivě, fungicidně, snižují krevní cholesterol, zlepšují stravitelnost bílkovin, resorpci minerálů a vitaminů a pravděpodobně snižují riziko rakoviny střeva [23].

3.1.1.4 *Glukosinoláty*

Glukosinoláty se dříve nazývaly thioglukosidy. Tvoří skupinu více než 150 sekundárních metabolitů rostlin, z nichž dominantní postavení má čeleď brukvovitých. Působí např. štiplavou chutí semen řepky, aroma hořčice, křenu, ředkve a jiných druhů zelenin a koření. Dle struktury postranního řetězce se rozdělují na alifatické, sirné, aromatické a indolové [26].

Glukosinoláty se vyskytují zejména v zelí, růžičkové a kadeřavé kapustě, květáku, v kedlubnách, brokolici, ředkvi a dalších brukvovitých rostlinách [24].

Účinky glukosinolátů v organismu jsou způsobeny až produkty jejich degradace. Toxické účinky mají význam zejména v krmivářství. Příznivé účinky spočívají ve snížení rizika chemicky indukované rakoviny, což ukázaly epidemiologické a experimentální studie. Glukosinoláty mají i příznivý vliv při infekcích horních cest dýchacích a močových cest [23].

3.1.1.5 *Fytoestrogeny*

Jako fytoestrogeny definujeme širokou skupinu látek nacházejících se v potravinách rostlinného původu. Vyskytují se buď jako přirozené látky, nebo kontaminanty dostávající se do potravin exogenně (pesticidy, metabolity plísní apod.). Svým účinkem připomínají působení pohlavních hormonů estrogenů. Mezi hlavní fytoestrogeny patří isoflavony, prenylflavonoidy, pterokarpany a lignany [24].

Z hlediska účinků jsou fytoestrogeny daleko méně účinné než základní estrogen estradiol, nicméně při masivní konzumaci jsou příčinou neplodnosti u samců a potratů u samic skotu. U populace s vysokým příjmem isoflavonů ze sóje je pozorována menší incidence nádorů prsu a prostaty [27].

V současnosti je známo více než 300 rostlin, které obsahují fytoestrogeny. Hlavním zdrojem isoflavonů jsou sojové boby, v červeném jeteli nacházíme formononetin a biochanin A. Sojové klíčky a vojtěška obsahují kumestrol, v různých semenech a zrnech jsou zastoupeny lignany, v nejvyšší koncentraci se vyskytují ve lněném semínku. Stilben resveratrol nacházíme hlavně ve slupkách hroznů červené vinné révy [28].

3.1.1.6 *Sulfidy*

V potravinách jsou běžně obsaženy sulfidy, disulfidy, trisulfidy a některé vyšší oligosulfidy. Většinou jde o alifatické sloučeniny, ale existují i cyklické sulfidy [24].

Jsou složkami aromatu čaje, kaka a či kávy, brukvovitých rostlin, cibule, česneku, pórků a chřestu. Podporují zažívání zvýšeným sliněním, sekrecí trávicích šťáv a zvýšenou činností střev [23].

3.1.1.7 Polyfenoly

Polyfenoly jsou skupina chemických sloučenin obsažených v rostlinách. Pod tímto názvem je zahrnut velký počet sloučenin, společné mají to, že na jejich aromatickém jádře je navázána více než jedna hydroxylová skupina [29]. Rostlinné polyfenoly jsou významné přirozené antioxidanty, jsou nejrozšířenějšími sloučeninami s redukčními účinky v naší stravě. Nejběžnějšími strukturními typy rostlinných polyfenolů jsou flavonoidy, fenolové kyseliny, stilbeny a lignany [30].

Vzhledem k jejich širokému rozšíření a vysoké koncentraci v rostlinách jsou důležitou součástí lidské stravy [23].

Fenolové kyseliny

V rostlinných tkáních jsou prokazované dva základní typy fenolových kyselin. Jde o deriváty odvozené od kyseliny benzoové a deriváty kyseliny skořicové. V potravě přijímáme spíše kyseliny hydroxyskořicové. Deriváty kyseliny hydroxybenzoové jsou v potravě člověka zastoupeny spíše jako složky komplexních struktur, jako např. ve formě hydrolyzovatelných taninů (např. gallotanin v čaji) [30].

Lignany

Lignany jsou skupinou fenolových sloučenin řazenou mezi tzv. fenylypropanoidy. Spolu s polymerním ligninem patří mezi nejrozšířenější složky rostlin, přičemž mají funkci v ochraně proti patogenům. Z dalších biologických účinků se může uplatnit jejich působení fytoestrogenní, antioxidační a též antikarcinogenní [24].

Stilbeny

Stilbeny, jinak též nazývané diarylethanoidy, jsou skupinou substituovaných sekundárních metabolitů rostlin se strukturou C₆-C₂-C₆. Volné stilbeny se nacházejí v malém množství v některých druzích rostlin. Základním členem řady běžných stilbenů je *trans*-pinosylvin. *Trans*-resveratrol je jedním ze zástupců stilbenů s antimikrobiálními a antioxidačními účinky. Vyskytuje se v některých luštěninách, vinné révě, koniferách. Resveratrol ve vinných hroznech je přítomen především ve slupce bobulí červených odrůd, odkud pak přechází do vína [30].

Flavonoidy

Flavonoidy jsou velmi rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů, které obsahují v molekule dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Flavonoidy se vyskytují jako volné látky, častěji však jako glykosidy, acylované glykosidy nebo polymery. Svými vlastnostmi se odlišují od jiných fenolových pigmentů, a proto jsou zařazovány jako samostatná skupina rostlinných barviv. Podle stupně oxidace C3 řetězce a jeho substituce rozeznáváme tyto základní struktury flavonoidů: katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly a anthokyanidiny. Dále sem přiřazujeme strukturálně příbuzné sloučeniny - chalkony, dihydrochalkony a aurony [23].

Flavonoidy mají význam jako rostlinná barviva, jiné pro svou trpkou či hořkou chuť nebo pro své biologické účinky [24].

Z flavonoidních barviv jsou nejvýznamnější žlutě zbarvené flavony a flavonoly a hlavně anthokyaniny, jež jsou červené (též žluté či oranžové), fialové a modré pigmenty. Chalkony a dihydrochalkony jsou žlutá, aurony zlatožlutá barviva. Vyskytují se spíše v květech rostlin a jako pigmenty potravin se uplatňují málo. Anthokyaniny (dříve též anthokyaniny) jsou z této skupiny sloučeniny nejrozšířenější. Dávají barvu mnoha druhům ovoce, zelenin či květin [24].

Význam polyfenolů

Zájem o tyto látky v současnosti narůstá, jelikož jejich příjem v potravě je dáván do souvislosti se snížením výskytu rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění [31]. Typickým příkladem je příjem červeného vína, které je zvláště bohaté na polyfenol resveratrol. Bohatý příjem červeného vína u Francouzů je jedním z pravděpodobných vysvětlení tzv. francouzského paradoxu, tedy relativně vysokým obsahem tuků v potravě a nízkou úmrtností na kardiovaskulární onemocnění ve Francii [32].

Epidemiologická data upozorňují na korelaci mezi množstvím flavonoidů v potravě a snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění. Existují také údaje o nižší pravděpodobnosti nádorových onemocnění u osob s konzumací potravin bohatých na polyfenoly. Předpokládá se, že příjem potravin s obsahem určitých polyfenolů může chránit organismus před některými formami rakoviny, především plic, trávicího traktu, prsu a prostaty. Tyto závěry byly ověřeny experimenty na zvířatech a na nádorových buňkách [31].

Mechanismem protektivního účinku je schopnost rostlinných polyfenolů zhaset reaktivní kyslíkové radikály a omezovat jejich tvorbu chelatací iontů přechodných kovů, především kationtů železa, jež generují vysoce reaktivní hydroxylové radikály. Polyfenoly chrání lipoproteiny o nízké hustotě před oxidační modifikací, která se považuje za jeden z klíčových procesů při rozvoji aterosklerózy. Mohou také zabraňovat tvorbě krevních sraženin, což může vést ke snížení rizika infarktu myokardu či mozkové mrtvice. Mezi předpokládané mechanismy ochrany proti kancerogenním procesům patří řada účinků na úrovni přenosu signálů, jež se uplatňují při kontrole buněčného cyklu, apoptózy a angiogeneze [31].

Příjem polyfenolů

Rostlinné polyfenoly patří mezi nejrozšířenější sloučeniny s redukčními účinky v naší stravě. Jejich denní příjem se odhaduje kolem 1 gramu. Mezi hlavními zdroje polyfenolů patří zejména nápoje (víno, káva, čaj, ovocné džusy), čokoláda a ovoce. Vysoký obsah polyfenolů je též v typicky českém nápoji – pivu. [31].

Flavonoidy jsou v potravě nejčastěji zastoupeny oligomerními proanthokyanidiny a flavanoly (katechiny). Oligomerní proanthokyanidiny, ve kterých je spojeno 2 – 11 flavanolových jednotek, mají výrazné adstringentní vlastnosti a vyskytují se zejména v ovoci, čokoládě a červeném víně. Hlavními zdroji katechinů jsou zejména čaj, ovoce a čokoláda. [24].

Anthokyany jsou barevné pigmenty ovoce a červeného vína. Flavonoly se nacházejí v ovoci, zelenině (např. cibule) i v nápojích (čaj), avšak v poměrně malém množství [31].

Rutin je v praxi používán jako tradiční venofarmakum [33]. Isoflavony se řadí do skupiny fytoestrogenů, vyskytují se především v sóji a na celkovém příjmu flavonoidů se podílejí jen malým procentem [34].

Fenolové kyseliny, např. kyselina kávová, ferulová nebo galová, se nejčastěji nacházejí v rostlinách ve formě esterů. Nejběžnější látkou tohoto typu je kyselina chlorogenová (5-kofeylchinová kyselina), která se vyskytuje ve vysokém množství v kávě (50–150 mg v šálku kávy). Kyselina ferulová je nejčastěji součástí vlákniny, kde je esterovou vazbou vázána na hemicelulose. Kyselina gallová se vyskytuje rovněž ve formě esterů, např. v gallotaninech je navázána na glukosu [35].

3.2 Volné radikály a antioxidanty

Problematika volných radikálů a antioxidační ochrany je dnes široce diskutována nejen laickou, ale i odbornou veřejností. Zkoumají se zejména látky přírodní či syntetické, které mohou neutralizovat volné radikály, jež mají negativní vliv v organismu.

3.2.1 Volné radikály

Volný radikál definujeme jako jakoukoliv molekulu s nepárovým elektronem ve valenční sféře, která je schopna samostatné existence alespoň po krátký časový úsek. Vysokým rizikem pro živé organismy je jejich vysoká reaktivita [36].

V organismu se běžně vyskytuje řada reaktivních forem kyslíku (ROS - reactive oxygen species) a reaktivních forem dusíku (RNS - reactive nitrogen species). Problematika patofyziologie účinku a působení volných radikálů je dnes široce zkoumána. Volné radikály a další reaktivní formy vznikají nejen během běžných metabolických procesů v lidském těle, ale i díky působení vnějších zdrojů. Na jedné straně jsou vysoce reaktivní formy kyslíku důležité pro naši antimikrobiální ochranu (usmrcování mikroorganismů během fagocytózy), hrají důležitou roli při některých enzymových reakcích a mohou zastávat místo signálních molekul v buněčné regulaci. Na druhé straně tzv. oxidační stres (nadprodukce reaktivních kyslíkatých látek – volných radikálů) se podílí na poškozování bílkovin, lipidů a nukleových kyselin. [30].

Experimentálně byla prokázána negativní role volných radikálů v procesu poškozování buňky. Volné radikály hrají důležitou roli v procesu jejího stárnutí, při vývoji chronických onemocnění, v patogenezi i akceleraci aterosklerotických změn stěny cévní s následnými projevy ve formě vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Rozhodující úlohu v urychlení procesu aterosklerózy hraje pravděpodobně oxidace lipoproteinů o nízké hustotě (LDL), které pak vykazují vyšší aterogenitu. I nádorová onemocnění lze označit za významné onemocnění „volných radikálů“. Jejich vývoj je multifaktoriálním procesem a oxidační pochody s dosud ne zcela jasným mechanismem se uplatňují během prvních fází karcinogeneze [37].

3.2.2 Vznik volných radikálů

V lidském organismu v průběhu oxidoredukčních biochemických reakcí neustále vzniká značné kvantum volných radikálů kyslíku a dusíku (tabulka 1 a 2). Významným endogenním zdrojem jsou leukocyty, makrofágy, dále reperfuční fáze po ischemii. [37].

Volné radikály vznikají z molekul třemi způsoby:

1. Homolytickým štěpením kovalentní chemické vazby, přičemž každý fragment získá jeden nepárový elektron
2. Přidáním jednoho elektronu k normální molekule (redukce)
3. Ztrátou jednoho elektronu (oxidací)

Aby mohlo dojít k homolytickému štěpení, je nutné dodání většího množství energie - např. působením ultrafialového záření. V biologických systémech volné radikály vznikají spíše odevzdáním nebo přijetím elektronu. Radikály mohou být neutrální, záporně nebo kladně nabitě [38].

Mezi reaktivní formy kyslíku se řadí například superoxid ($O_2^{\bullet-}$) vznikající přijetím jednoho elektronu molekuly kyslíku: $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$. Pokud superoxid přijme další elektron, dojde k redukci na peroxid vodíku: $O_2^{\bullet-} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$. Vzniklý peroxid vodíku se může vlivem dalšího elektronu rozpadnout na vodu a hydroxylový radikál (HO^{\bullet}), který reaguje s jedním elektronem za vzniku hydroxidového anionu (OH^-). Tato čtyřelektronová redukce molekulového kyslíku na dvě molekuly vody je nezbytnou reakcí pro aerobní způsob života a probíhá v dýchacím řetězci mitochondrií v aktivním centru enzymu cytochromoxidázy. Vzniklý hydroxylový radikál není ve vazbě s enzymem škodlivý.

Za jiné situace, v tzv. Fentonově reakci, vzniká z peroxidu vodíku v reakci s dvojmocným železem Fe^{2+} toxický hydroxylový radikál HO^{\bullet} , který v živé hmotě okamžitě reaguje s okolními molekulami, a jako extrémně silné oxidační činidlo vytrhuje elektron z nenasycených mastných kyselin a atakuje báze nukleových kyselin.

Fentonova reakce: $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^{\bullet} + OH^- + Fe^{3+}$ [39].

Reaktivní formy dusíku jsou pro organismus také důležité. Nejvýznamnější a základní sloučeninou v systému reaktivních forem dusíku je oxid dusnatý – NO. Oxid dusnatý je poměrně nestálý plyn s jedním nepárovým elektronem ve své struktuře, takže je v podstatě radikálem. Transportní formou biologicky aktivního NO mohou být nitrosothioly, které vznikají reakcí oxidu dusnatého s -SH skupinami cysteinu, albuminu či glutathionu. V organismu je oxid dusnatý syntetizován katalytickou oxidací jednoho dusíku guanidinového zbytku aminokyseliny L-argininu působením enzymu NO synthasy [30].

Tabulka 1 - Přehled reaktivních forem kyslíku [30]

Volné radikály		Reaktivní sloučeniny	
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Superoxidový anion - radikál	H_2O_2	Peroxid vodíku
HO^2	Hydroperoxyl	HClO	Kyselina chlorná
HO^\bullet	Hydroxylový radikál	O_3	Ozón
ROO^\bullet	Peroxylový radikál	$^1\text{O}_2$	Singletový kyslík
RO^\bullet	Alkoxylový radikál		

V organismu se NO podílí na udržování krevního toku a tlaku. V kardiovaskulárním systému je tvořen zejména v endotelových buňkách, odkud je transportován do buněk hladkých svalů cév a způsobuje jejich relaxaci, což vede k vazodilataci. [38].

Oxid dusnatý je přeměňován na celou řadu vysoce reaktivních metabolitů - např. při rychlé reakci se superoxidem vzniká peroxynitrit - $\text{NO}^\bullet + \text{O}_2^{\bullet-} \rightarrow \text{ONOO}^-$, nebo jeho konjugovaná kyselina peroxodusitá. Obě látky jsou vysoce reaktivní a mohou iniciovat např. lipoperoxidaci, oxidovat thiolové skupiny nízkomolekulárních látek a proteinů, či oxidačně poškozovat DNA [30].

Tabulka 2 - Přehled reaktivních forem dusíku [30].

Volné radikály		Reaktivní sloučeniny	
NO^\bullet	Oxid dusnatý	NO^+	Nitrosyl
NO_2^\bullet	Oxid dusičitý	HNO_2	Kyselina dusitá
		N_2O_3	Oxid dusitý
		N_2O_4	Oxid dusičitý
		NO_2^+	Nitronium
		ONOO^-	Peroxynitrit
		ROONO^-	Alkylperoxynitrit

3.2.3 Antioxidanty

Antioxidanty definujeme jako látky „neutralizující“ volné radikály a jejich působení. Z chemického hlediska se také nazývají pojmem „vychytávače“, častěji je ovšem používáno anglické slovo scavenger. Antioxidační ochrana nemá za cíl absolutní eliminaci reaktivních forem kyslíku, jelikož jejich určité množství se podílí na přirozených ochranných procesech organismu. Je nutné nastolení rovnováhy, aby volné radikály nepoškozovaly zdraví člověka. [36].

3.2.3.1 Antioxidační ochrana

Antioxidační ochrana může zahrnovat následující komponenty a procesy:

1) Anatomické uspořádání regulující hladinu kyslíku ve tkáních

Jednobuněčné organismy se před toxickou koncentrací kyslíku chrání prostřednictvím shlukování. Řada bakterií se před kyslíkem ukrývá do hlenových pouzder. I když jsou tyto mechanismy antioxidační ochrany primitivní, lidské tělo je také využívá. Povrch těla je chráněn vrstvou mrtvých buněk – kůží, epitel dýchacích a trávicích cest je zase pokryt hlenem [38].

2) Antioxidační enzymy

Na prvním místě je třeba jmenovat enzym superoxiddismutázu, katalyzující přeměnu superoxidu na peroxid vodíku. Vzniklý peroxid vodíku je pak odstraňován pomocí dalších enzymových reakcí. Radíme sem katalázu (zastoupená pouze v peroxizomech a v červených krvinkách), glutathionperoxidázu, jež redukuje peroxid vodíku, případně peroxidy lipidů, a zároveň oxiduje glutathion. Ten je pak regenerován glutathionreduktázou využívající NADPH [30, 38].

3) Sekvestrace redoxně aktivních přechodných kovů (Fe a Cu)

Tyto pro život nezbytné kovy díky své schopnosti snadno přijímat, resp. odevzdávat jeden elektron a tím katalyzovat reakce s molekulárním kyslíkem, jsou na druhou stranu nebezpečné, pokud nejsou tyto reakce kontrolovány (Fentonova reakce). Bezpečná vazba těchto kovů na různé specializované proteiny (transferrin, ferritin, ceruloplazmin, haptoglobin, hemopexin a další) představuje jednu z hlavních antioxidačních strategií organismu [30].

4) Antioxidační substráty (nízkomolekulární antioxidanty)

Do této kategorie zařazujeme již zmíněné buněčné thiooly (glutathion, thioredoxin), dále endogenní metabolity s antioxidační funkcí (bilirubin, kyselina močová, kyselina lipoová) a konečně antioxidanty přijímané dietou (vitamin C, E, karotenoidy, flavonoidy a další rostlinné fenoly) [38].

5) Reparace oxidačního poškození DNA

Systémy, které zajišťují reparaci oxidačního poškození DNA, proteinů a lipidů, lze také zařadit do systému antioxidační ochrany buňky a organismu [38].

3.2.3.2 Antioxidanty nízkomolekulární

Mezi antioxidační látky přijímané ze zevního prostředí se řadí v minulé části diskutované tzv. antioxidační substráty – nízkomolekulární antioxidanty. Jejich příjem lze tedy pozitivně i negativně ovlivňovat, zejména příjmem a hlavně kvalitou stravy. Rozhodující roli mají tyto antioxidanty především v extracelulárním prostředí, kde je aktivita antioxidačních enzymů (např. kataláza, glutathionperoxidáza) poměrně nízká. V této skupině lze ještě vyčlenit podskupinu nízkomolekulárních endogenních antioxidantů, vznikajících v organismu [38].

1) Nízkomolekulární endogenní antioxidanty

Glutathion (GSH, thiol) a oxidovaný glutathion (GSSH, disulfid) jsou důležitou součástí antioxidačních mechanismů. Působením glutathionu jsou odstraňovány ROS a udržovány redukované formy například koenzymu A, cysteinu, sulfhydrylové skupiny proteinů a regeneruje tokoferol a askorbát. Glutathion je substrátem pro glutathionperoxidázu [30].

Kyselina lipoová je univerzálním antioxidantem, reaguje s alkylperoxylovými radikály, dále s radikály askorbylovými, tokoferolylovými, hydroxylovými, s NO^{\bullet} , superoxidovými anion-radikály a HClO [39].

Kyselina močová je nejběžnějším extracelulárním antioxidantem. Její antioxidační působení je založeno na vychytávání alkoxylových radikálů a HClO . Stabilizuje též ionty železa a mědi do redoxně stabilnější formy [37].

Bilirubin je degradačním produktem rozkladu hemu. Je schopen ochraňovat například vitamín A před autooxidací a je inhibuje oxidaci kyseliny linolové iniciovanou peroxylovým radikálem [30].

Pod názvem ubiquinon se skrývá celá skupina benzochinonů s různě dlouhými lipofilními izoprenovými řetězci. U savců nejčastěji nacházíme koenzym Q10 s deseti izoprenovými jednotkami. Funguje jako přenašeč elektronů v dýchacím řetězci v mitochondriích, najdeme ho však ve všech membránách [26].

2) Nízkomolekulární antioxidanty získané z potravy

Do této skupiny zařazujeme antioxidanty, jejichž příjem je snad nejvíc diskutovaný. Je totiž nejlépe ovlivnitelný složením potravy, a tak jsou diskuse o jejich významu a vlivu na zdravotní stav na denním pořádku.

Kyselina askorbová (vitamin C)

Ze čtyř možných stereoisomerů kyseliny askorbové vykazuje aktivitu vitaminu C pouze L-askorbová kyselina. Pod názvem vitamin C se označuje nejen kyselina askorbová samotná, ale také celý reverzibilní redoxní systém. Ten sestává z produktu jedoelektronové oxidace L-askorbylradikálu a z produktu dvouelektronové oxidace L-dehydroaskorbové kyseliny [13].

Kyselina askorbová je důležitá např. pro syntézu kolagenu a pro přeměnu dopaminu na noradrenalin, kde funguje jako kofaktor enzymů. Je také důležitým oxidačně-redukčním činidlem. Askorbát redukuje organické i anorganické radikály. Při těchto reakcích ztrácí elektron a přechází na mnohem stabilnější askorbylový radikál. K regeneraci pak dochází působením speciální dehydrogenázy, nebo dochází k dismutaci na askorbát a dehydroaskorbát. Účinkem dehydroaskorbátoreduktázy a GSH je dehydroaskorbát intracelulárně opět regenerován na askorbát. Vzhledem k tomu může docházet ke hromadění askorbylových radikálů extracelulárně a k poškození biomolekul [30].

Denní potřeba vitaminu C je kryta příjmem potravou. Rozhodující roli zde hrají brambory (asi 20 - 30%), zelenina (30 – 40%) a ovoce (30 – 35%). [13]. Doporučený denní příjem činí 80 mg dle Vyhlášky č. 352/2009 Sb. [40].

Tokoferoly (vitamin E)

Tokoferoly neboli vitamin E je skupina osmi izomerů, z nichž α -tokoferol je biologicky neúčinnější. Je lipofilní, a proto se mohl stát antioxidační látkou membrán. Chrání lipidy před peroxidací tím, že je přeměňuje na hydroperoxy, které jsou likvidovány účinkem glutathionperoxidasy. Tokoferol se při této reakci mění na stabilní tokoferylový radikál [13].

Askorbát zčásti redukuje tokoferyl zpět na tokoferol, čímž částečně brání rozšiřování radikálových reakcí v lipidech membrán a lipoproteinů [30].

Zdroji vitamínu E jsou z potravin rostlinného původu zejména klíčky a otruby, a proto je jeho obsah vyšší v celozrnných moukách. Významnými zdroji jsou rostlinné oleje, a to panenské a hlavně oleje z obilných klíčků. Z ovoce a zeleniny má význam vitamín E v mrkvi, jablkách a zelí. V živočišných potravinách je zastoupen zejména v másle a mléku [13]. Doporučený denní příjem činí 12 mg dle Vyhlášky č. 352/2009 Sb. [40].

Karotenoidy

Karotenoidy jsou pigmenty rostlinného původu, řadící se svou strukturou mezi izoprenové sloučeniny. Jedná se o lipofilní látky, proto jsou pro jejich vstřebávání v tenkém střevě nutné žlučové kyseliny a neporušená absorpce lipidů. Nejdůležitějšími karotenoidy jsou β -karoten, α -karoten, lykopen, lutein a zeaxanthin. Nejrozšířenějším z nich je β -karoten, který je největším zdrojem vitamínu A, jenž vzniká jeho štěpením [13].

β -karoten tvoří asi 90% všech karotenoidů lidské plazmy. V antioxidační ochraně se karotenoidy uplatňují při odstraňování radikálů centrovaných na uhlík a alkylperoxylových radikálů v lipidech. β -karoten lze najít především ve žluté, oranžové a zelené listnaté zelenině a ovoci. Do této skupiny se řadí například mrkev, špenát, salát, rajčata, sladké brambory, brokolice, ananasový meloun a pomeranče. Čím je barva ovoce či zeleniny intenzivnější, tím více obsahuje β -karotenu [30].

Polyfenoly

Problematika polyfenolů byla diskutována výše v kapitole 3.1.1.7.

3.2.3.3 Význam suplementace antioxidantů

Zvýšený příjem antioxidantů by měl vést ke zlepšení zdraví jedince či k zabránění nebo oddálení vzniku civilizačních chorob, a to zejména kardiovaskulárních a nádorových. Výsledky studií zkoumajících tuto problematiku však nejsou zcela jednoznačné a není potvrzeno, že by suplementace antioxidanty mohla být všeobecně využita v prevenci kardiovaskulárních onemocnění [37].

Data z observačních epidemiologických studií posuzujících vztah antioxidantů a výskyt srdečních onemocnění udávají prospěšnost preventivní role antioxidantů při vzniku těchto onemocnění. Gey v průřezové studii, která sledovala 12 různých populací v Evropě, ukázal

signifikantně nižší mortalitu z kardiálních příčin v populacích s vysokým příívodem vitamínů C a E ve stravě [37].

Výsledky různých studií sumárně prezentuje Tran ve své přehledové práci. Některé z nich udávají signifikantně nižší riziko úmrtí z kardiovaskulárních příčin při vysokém příívodu vitamínu C, jiné zaznamenaly výrazně pozitivní účinky vitamínů C, E a β -karotenu, ale pouze u mužů. Naproti tomu u žen bylo prokázáno, že užívání dietních doplňků s vitamínem C a β -karotenem nevedlo k žádnému snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění (KVO). Na druhé straně ve studii, které se účastnilo 40 tisíc mužů, bylo zjištěno, že u mužů s nejvyšším příívem vitamínu E se riziko vzniku KVO snížilo o 40 %, doplňky s β -karotenem měly účinek nižší a užívání přípravků s vitamínem C bylo, pokud jde o riziko KVO, neúčinné [41].

Výsledky randomizovaných kontrolovaných studií, které zkoumaly vztah příívodu antioxidantů a rizika KVO, nepřinesly jednoznačné důkazy o jejich pozitivním působení. Souhrnně je možno konstatovat, že nebyl prokázán pozitivní účinek dlouhodobé suplementace vitamínem E a β -karotenem (event. vitamínem A) na snížení rizika KVO. Studie byly prováděny jak specificky u kuřáků - The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group [42], tak i u dalších skupin mužů a žen se zaměřením na nemoci onkologické a kardiovaskulární [43, 44].

V rámci sekundární prevence přinesly klinické studie výsledky příívovější. U pacientů s aterosklerotickým postižením srdečních tepen vysoké dávky vitamínu E snížily riziko infarktu myokardu nebo ostatních kardiovaskulárních přííhod, popř. jejich recidivy, ale neovlivnily celkovou úmrtnost. Další studie prokázala, že vitamín E zpomaluje progresi aterosklerotického plátu u pacientů s aterosklerózou koronárních arterií [41].

Z výsledků studií tedy vyplývá, že pouze přirozený příívem γ -tokoferolu v potravě a nikoliv suplementace α -tokoferolem může mít příívový efekt na riziko KVO a doporučuje se zvyšovat přirozený příívem v potravě bez obohacování. Ani při kombinovaném podávání antioxidantů (vitamíny A, C, E a β -karoten) nebyly výsledky v prevenci kardiálních přííhod a jejich komplikací přesvědčivé [45].

4 TECHNOLOGIE VÝROBY OVOCNÝCH A ZELENINOVÝCH NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJŮ

V současné době je na trhu k dispozici široká nabídka nealkoholických nápojů vyrobených z ovoce a zeleniny. V praxi je však někdy pro běžného spotřebitele obtížné jejich exaktní rozlišení. Klíčovým pro označování nápojů je zejména podíl ovocné složky, ale podstatnými údaji jsou i způsob zpracování či obsah cukru nebo přídatných látek [46].

4.1 Legislativa

Právní podklad pro nomenklaturu a kvalitativní hodnocení nápojů z ovoce a zeleniny poskytuje Vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí [47]. V rámci legislativních úprav, zejména sjednocení s předpisy Evropské unie, byla opakovaně novelizována a poslední platnou úpravou je Vyhláška č. 330/2013 Sb., kterou se mění vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí, ve znění pozdějších předpisů [48].

V Evropské unii řeší problematiku ovocných šťáv Směrnice rady 2001/112/ES ze dne 20. prosince 2001 o ovocných šťávách a některých podobných produktech určených k lidské spotřebě [49], jež byla později novelizována Směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2012/12/EU ze dne 19. dubna 2012, kterou se mění směrnice Rady 2001/112/ES o ovocných šťávách a některých podobných produktech určených k lidské spotřebě [50].

4.2 Pojmy

Nápoje vyrobené z ovoce a zeleniny rozdělujeme do následujících kategorií: ovocné a zeleninové šťávy (které jsou obvykle spojovány s názvem džus), ovocné nektary, ovocné nápoje a limonády. Vzhledem k zaměření práce uvedeme charakteristiku 100% ovocné šťávy.

4.2.1 Ovocné a zeleninové šťávy

Obsah ovocné a zeleninové složky ve šťávách je stanoven výše uvedenou legislativou a musí být 100 %. Šťáva bývá jednosložková – z jednoho druhu ovoce či zeleniny, nebo vícesložková, obsahující kombinaci několika druhů v různém poměru.

Šťávy jsou vyráběny přímým lisováním, ale daleko častěji jsou produkovány ředěním ze zmrazeného koncentrátu. Dle statistik výroba šťáv z koncentrátu (87,6 %) překonává v EU šťávy vyrobené přímo (12,4 %). Největším dodavatelem koncentrátů je Čína. Legislativa však nestanovuje povinnost uvádět zemi původu koncentrátu, tudíž spotřebitel nemá možnost získat informace, odkud pochází ovoce, z něhož je daný nápoj vyroben.

Ovocné a zeleninové šťávy obsahují přirozené složky ovoce - přírodní sacharidy, vitamíny, minerály. Zakázáno je přidávat konzervační látky, sladidla, barviva a či jiná aditiva [46].

4.3 Technologie výroby ovocných a zeleninových šťáv

V rámci technologických postupů výroby ovocných šťáv rozlišujeme dva typy finálního výrobku, které se liší jednotlivými výrobními postupy. Jedná se o výrobu šťáv lisovaných – čířených a produkci šťáv z macerovaného ovoce a zeleniny. Společnými fázemi výroby jsou přípravné postupy před výrobou výsledného produktu.

4.3.1 Předběžné operace

Mezi předběžné (přípravné) operace lze zařadit čištění, třídění, odpeckování, odstopkování a dělení plodů [51].

4.3.2 Macerované ovoce a zelenina

Do této skupiny zařazujeme takové nápoje (event. i jemné protlaky), které obsahují ovocnou a zeleninovou šťávu včetně dispergované části rostlinného pletiva. Patří sem tekuté ovoce, dřeňové šťávy, džusy, ovocné nektary, ovocné krémy, ovocné a zeleninové koktejly či dětská výživa [11].

Rozhodujícím faktorem při výrobě dřeňových, kalných šťáv je maximální rychlost zpracování, kdy by surovina měla být převedena do finální podoby a připravena ke konzervaci v době maximálně 20 minut. Po přípravných fázích je rozhodujícím postupem macerace – zpravidla mechanická, nebo enzymová.

Macerace je obvykle prováděna v kombinaci s dalšími zákroky. Macerace mechanická se provádí v kombinaci s tepelným zákrokem, macerace enzymatická se neprovádí samostatně, ale jako doplněk mechanického rozmělnění. Může následovat deaerace (eliminace kyslíku) či homogenizace. Výsledný produkt je pak podroben zpravidla tepelnému ošetření [52].

4.3.3 Výroba šťáv lisovaných - čířených

V současné době je produkce ovocných šťáv směřována zejména k produkci koncentrátů, v menší míře se provádí výroba šťáv k přímé konzumaci (mošty) [53].

Mezi jednotlivé výrobní operace zařazujeme příjem a uskladnění suroviny, čištění, inspekce, drcení, příp. pektolýza drti, lisování, event. deaerace a odstranění kalů, pasterace, konzervace a uložení [54].

Po základním drcení ovoce nebo zeleniny může následovat pektolýza drti, což je enzymatický proces štěpení buněčných membrán a uvolňování šťávy z ovocné či zeleninové suroviny, čímž se zvyšuje výtěžnost produkce. Po vlastním lisování a případném odstranění kalů se pak provádí konzervace [55].

Nejčastěji se provádí pasterace a aseptické uložení do velkoobjemových vaků. Chemickou konzervaci lze zrealizovat přidáním SO_2 buď v plynném stavu, nebo prostřednictvím siřičitanů či pyrosiřičitanů. Pasteraci lze zkombinovat s přidáním tekutého či tuhého CO_2 . Nejčastějším způsobem zpracování šťáv je její koncentrace na šťavní koncentráty, jež mají široké možnosti využití [52].

Aktuálním trendem je využití konzervace vysokým tlakem při výrobě čerstvých ovocných šťáv k přímé konzumaci [56].

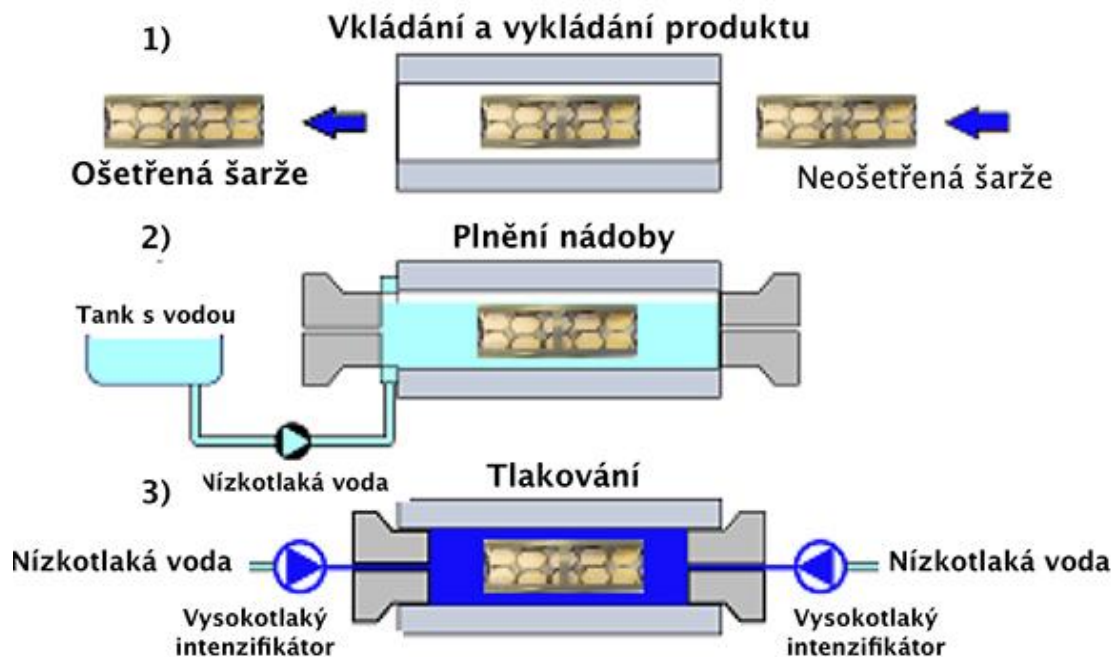
4.3.4 Konzervace vysokým tlakem

Konzervace vysokým tlakem, jinak též zvaná paskalizace či high pressure processing (HPP), je relativně novou konzervační metodou, umožňující zachovat přirozené vlastnosti potravin a obsah výživných či zdravotně prospěšných látek, jako jsou vitaminy, minerály a stopové prvky. Konvenční konzervační přístupy využívají buď prostředků fyzikálních, nebo chemických, čímž ovlivňují sensorické vlastnosti suroviny nebo obsah bioaktivních látek [56].

Ve světě se proces paskalizace používá např. ke zpracování masa, šunky, uzenin, mořských plodů, ovocných a zeleninových šťáv a pyré, dressingů, dipů, vařené rýže, apod. V České republice se konzervace vysokým tlakem prozatím uplatňuje pouze při výrobě ovocných a zeleninových šťáv, a to dvěma výrobci. Beskyd Fryčovice, a.s. vyrábí přírodní zeleninové šťávy značky REFIT a Kofola a.s. produkuje obdobný sortiment zeleninových a ovocných šťáv pod značkou UGO. Průkopníkem paskalizace v ČR je Ing. Milan Houška, CSc. z Výzkumného ústavu potravinářského v Praze (VÚPP). Technologie pochází již z 19. století, kdy bylo objeveno, že vysoký tlak dokáže zničit bakterie, které jsou zodpovědné za kažení pokrmů. Teprve na konci dvacátého století ale byla vyvinuta technologie, která umožnila tento poznatek používat v průmyslové výrobě [57].

Paskalizace pracuje na jednoduchém principu: potravina je zabalena do pružného obalu a umístěna do tlakové komory vysokotlakého lisu. Technologie tedy vyžaduje nádobu, která je přizpůsobena ke zvládnutí vysokého tlaku, tekutinu (obvykle vodu) pro přenos tlaku a čerpadlo, které je schopno vytvořit vysoký tlak. Zabalené potraviny jsou umístěny dovnitř nádoby naplněné vodou. Typická nádoba má kapacitu objemu mezi 35 a 350 litry. Nádoba s potravinou se poté uzavře, na kontrolním panelu se nastaví optimální tlak a čas pro ošetření potraviny a čerpadla jsou vedena k dosažení požadovaného tlaku. Po uzavření se v komoře zvýší tlak na 600 MPa (6000 barů). Tlak může být aplikován kontinuálně nebo přerušovaně v pulzech, podmínky zpracování se liší na základě druhu potraviny. Na rozdíl od tepelného zpracování, kdy teplota není konstantní ve všech částech potraviny, je tlak jednotný v celém výrobku. Této vlastnosti se využívá při zachování tvaru potraviny, protože tlak je aplikován rovnoměrně ze všech stran a nedochází tak k deformacím obalu či samotné potraviny [58].

Výhodou paskalizace je inaktivace živých mikrobů, bakterií, virů a plísní bez nutnosti ohřevu. Nicméně není obvykle účinná při inaktivaci enzymové aktivity bakterií nebo spor některých druhů patogenů. Potravina si zachová přirozený vzhled, barvu, obsah nutričních látek, chuť i vůni. Nejde ovšem o sterilaci, potraviny zůstávají čerstvé a nadále je třeba jejich uchování v chladu. Jejich životnost se však zvýší několikanásobně [57]. Např. deklarovaná trvanlivost takto ošetřené přírodní zeleninové šťávy UGO činí 4 týdny [59]. Nevýhodou je vysoká finanční náročnost vysokotlaké technologie [58].



Obrázek 1: Schéma paskalizace [58].

Principy a výhody vysokotlaké konzervace byly ověřovány řadou výzkumných prací a studií.

Efekt aplikace vysokého tlaku na mikroorganismy popisuje Patterson v přehledovém článku. Efekt poškození mikrobů působí na více úrovních, ale definitivní mechanismus není zcela jasný a je třeba vést další výzkumy. Jako rozhodující místo poškození je považována buněčná membrána, což dokladuje např. zaznamenaný únik ATP či absorbujícího materiálu z buňky vystavené tlaku, nebo naopak průnik fluorescenčních barviv do tlakem poškozené buňky, které zdravou buněčnou membránou za normálních okolností neprocházejí. Elektronovou mikroskopií byl prokázán i efekt vysokého tlaku na buněčnou stěnu. Působení vysokého tlaku na biochemické procesy v buňce vede ke zpomalení reakcí podporující růst objemu a naopak podporují inhibiční reakce. HPP účinkuje zejména na hydrofobní a elektrostatické interakce v molekulách proteinů, zatímco vodíkové vazby stabilizující α -helikální strukturu a β -strukturu skládaného listu bílkovin nejsou významně dotčeny. Schopnost jednotlivých typů enzymů odolávat vysokému tlaku je různá. Významný je malý vliv vysokého tlaku na kovalentní vazby, což vede k zachování mnoha složek odpovědných za sensorické a nutriční kvalitu potravin, jako jsou např. aromatické látky a vitamíny. To je důležitým přínosem pro potravinářský průmysl [60].

Účinnost HPP na jednotlivé mikroorganismy rozebírá Considine a kolektiv. Její účinnost na jednotlivé bakteriální druhy je rozdílná, přičemž rozdíly jsou i u jednotlivých bakteriálních kmenů. Citlivost prokaryotních buněk je obecně nižší než u buněk eukaryotních. HPP působí lépe na gramnegativní bakterie než na grampozitivní, což by mohlo být způsobeno komplexností jejich buněčné membrány. Dále bylo prokázáno, že koky jsou odolnější než tyčky. Buňky ve stacionární fázi růstu jsou obecně proti tlaku více rezistentní než buňky ve fázi exponenciálního růstu. Kvasinky a plísně jsou poměrně dobře citlivé na ošetření vysokým tlakem. Účinnost HPP na virové částice je také různá, HPP u virů působí reverzibilní či ireverzibilní disociaci virových částic, nebo působí mechanismem alterace jejich obalu, což způsobí poškození jejich schopnost vazby na buňky [61].

Efekt paskalizace na buňky je ovlivněn i charakterem substrátu, kdy kupř. sacharidy, proteiny, lipidy a jiné potravinové složky mohou poskytovat ochranný účinek. Mezi zaznamenané protektivní faktory patří např. obsah Ca^+ a jiných kationtů, vysoký obsah sacharózy, v experimentu byl simulován ochranný vliv směsi vápníku, hořčíku, citrátu a fosfátu. Problematické je použití HPP na bakteriální spory a priony. U spor, jež jsou velmi rezistentní, bylo popsáno jejich přežití i u tlaků přes 1000 MPa, které převyšují konvenčně používané hodnoty tlaku u HPP. Nižší hodnoty tlaku mohou indukovat klíčení spor. Jsou zkoumány kombinované postupy s využitím tlaku a tepla. Stejně tak se uvažuje i o kombinovaném použití více tlakových režimů, kdy po použití nižších tlaků vyvolávajících vyklíčení spor pak vysoké tlakové hodnoty likvidují již aktivní bakterie. U prionů, působících neurologická onemocnění, výzkumníci zaznamenali dobrý efekt vysokého tlaku v kombinaci s vyšší teplotou + 60 °C [61].

Studie Bullové a spolupracovníků se zabývala efektem HPP na mikrobiální a senzoričné vlastnosti pomerančových šťáv. Bylo použito tlakové ošetření na úrovni 600 MPa, přičemž takto ošetřené šťávy byly srovnávány s materiálem čerstvým a ošetřeným pasterací. Vzorky byly porovnávány po 4 a 12 týdnech skladování v chladu při + 4 °C. Vzorky ošetřené HPP po 4 týdnech vykazovaly nedetekovatelná množství mikrobů. Po 12 týdnech množství bakterií činilo pod 2×10^2 CFU/ml, což je nesignifikantní množství. Posuzovány byly rovněž i senzoričné charakteristiky šťáv ošetřených paskalizací. Také zde byly výsledky studie příznivé – sledované parametry (stupně Brix, viskozita, obsah titrovatelných kyselin, v alkoholu nerozpustných kyselin, index hnědnutí, obsah kyseliny askorbové a koncentrace β – karotenu) těchto šťáv nebyly významně ovlivněny aplikací

vysokého tlaku při HPP. Práce dokladuje, že příznivý efekt paskalizace na mikrobiologické zatížení šťáv i jejich vlastnosti přetrvává i po skladování [62].

McInerney a kolektiv zkoumal vliv dvou režimů HPP (400 a 600 MPA) na antioxidační aktivitu, celkový obsah karotenoidů a dostupnosti karotenoidů in vitro u několika druhů běžně konzumovaných zeleninových druhů. Antioxidační aktivita i obsah karotenoidů se po paskalizaci nezměnil. Ačkoliv dostupnost karotenoidů u různých druhů zeleniny se částečně odlišovala, tyto rozdíly nebyly významné. Lze tak uzavřít, že sledované parametry se před i po HPP významně nelišily [63].

Srovnávací studii u ovoce ošetřeného tepelně a HPP provedl Patras se spolupracovníky. Autoři sledovali antioxidační aktivitu, hladinu hlavních skupin antioxidantů (polyfenoly, kyselina askorbová a anthokyany) a barvu. Byly testovány bioaktivní látky (cyanidin-3-glykosid, pelargonidin-3-glukosid, kyselina askorbová) a antioxidační účinky u jahodového a ostružinového pyré po HPP ošetření (400, 500, 600 MPa po dobu 15 minut) a tepelném ošetření (70 °C po dobu 2 minut). HPP ošetření nevedlo ke změně v obsahu kyseliny askorbové, po tepelném ošetření byly zaznamenány její ztráty 21 %. Naměřené hodnoty anthokyanů po tepelném ošetření se snížila, zatímco po ošetření tlakem se nezměnila. Antioxidační aktivita vzorků po paskalizaci byla vyšší než u tepelně ošetřeného pyré. Rovněž barevné změny ovocných vzorků byly po HPP minoritní. Autoři uzavírají, že ošetření ovoce vysokým tlakem je vhodným postupem pro zachování jak sensorických vlastností, tak i obsahu antioxidačně působících látek [64].

Tyto závěry se budu snažit ověřit v praktické části mé diplomové práce.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

V praktické části diplomové práce byl posuzován obsah biologicky aktivních látek ve vzorcích 100% ovocných a zeleninových šťáv, buď jednodruhových, nebo směsných. Vzhledem k významu antioxidantů v organismu v metabolických a reparačních procesech bylo měření zaměřeno na stanovení obsahu látek hrajících roli v antioxidačních systémech. Cílem práce bylo ověření hypotézy, že ošetření šťávy vysokým tlakem vede k zachování obsahu antioxidantů v porovnání s konvenčně tepelně ošetřenými vzorky. Hodnocení bylo prováděno s čerstvou šťávou, se šťávou ošetřenou tepelnou cestou pasterací a třetí soubor vzorků podstoupil ošetření vysokým tlakem (HPP).

Sledovány byly následující parametry:

1. Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH
2. Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS
3. Analýza celkových polyfenolů
4. Analýza celkových flavonoidů
5. Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Použitý materiál a přístrojová zařízení

6.1.1 Přístroje a zařízení

Měření bylo prováděno na UV spektrofotometru Libra S6. Standardy a vzorky byly připraveny pomocí mikropipet s nastavitelným objemem 10 – 100 μl , 100 - 1000 μl . Dále byly použity digitální váhy Schoeller AFA-2102C.

6.1.2 Použité chemikálie

Metanol

Redestilovaná voda (upravená na iontoměničích)

ABTS diamonná sůl

$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ - peroxodisíran draselný

DPPH - 2,2-difenyl-1-pikryl-hydrazyl

Standard Trolox

Kyselina askorbová

Folin-Ciocalteuovo činidlo

Na_2CO_3 - uhličitan sodný

Kyselina gallová

Etanol

HCl – 36%

NaNO (c = 0,5 mol/l)

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (c = 0,3 mol/l)

NaOH (c = 1 mol/l)

Standard Rutin Trihydrat ROTICHROM®~CHR

NaH_2PO_4 - dihydrogenfosforečnan draselný

Deoxyribosa

EDTA - kyselina ethylendiamintetraoctová

H₂O₂ - 30% roztok

Kyselina thiobarbiturová

Kyselina trichloroctová

(NH₄).2Fe(SO₄)₂ · 6 H₂O - síran železnato-amonný

Nitroprusid sodný

Griessovo činidlo

6.1.3 Použité vzorky ovocných a zeleninových šťáv

Jako materiál ke stanovení antioxidantů byly použity 100% zeleninové a ovocné šťávy od českého výrobce. Jedná se o 100% šťávy lisované za studena, neředěné, buď vyrobené z jednoho druhu zeleniny, nebo jde o směsi šťáv. Nejsou přidány voda, cukr, aroma či jiná aditiva. Výrobky jsou ošetřené vysokým tlakem – paskalizací.

Vzorky pro hodnocení čerstvé šťávy k laboratornímu zpracování byly získány přímo od výrobce v čerstvém stavu, ještě před balením a HPP ošetřením.

Vzorky pro hodnocení tepelně ošetřené šťávy k laboratornímu zpracování byly získány přímo od výrobce v čerstvém stavu, ještě před balením a HPP ošetřením. V laboratoři pak byly podrobeny pasteraci.

Jako vzorky šťávy ošetřené paskalizací k laboratornímu zpracování sloužily šťávy získané z komerčního balení, a tedy ošetřené HPP postupem při výrobě.

V laboratoři pak byly srovnávány hodnoty jednotlivých veličin ve vzorcích neošetřených, ošetřených tepelně pasterací a vysokým tlakem.

Byly použity vzorky šťáv, které jsou následně baleny pod těmito komerčními názvy:

Červená řepa 100%

Za studena lisovaná dřeňová šťáva z červené řepy. Složení: 100 % šťáva z červené řepy.

Mrkev 100%

Za studena lisovaná dřeňová šťáva z mrkve. Složení: 100 % šťáva z mrkve.

Brokolice s jablkem

Za studena lisovaná dřevná šťáva z jablek a brokolice, s limetkovou šťávou. Složení: jablečná šťáva 50 %, brokolicová šťáva 30 %, pomerančový koncentrát 18 %, limetková šťáva 2 %.

Zelí s jablkem

Za studena lisovaná dřevná šťáva z jablek a bílého zelí, s citrónovou šťávou. Složení: jablečná šťáva 64 %, zelná šťáva 32 %, citronová šťáva 4 %. [65].

6.2 Sledované parametry

Ve vzorcích byly analyzovány tyto parametry:

1. Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH
2. Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS
3. Analýza celkových polyfenolů
4. Analýza celkových flavonoidů
5. Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet

6.3 Metodika stanovení

K analýze byly použity vzorky všech čtyř druhů testovaných šťáv.

Vzorky čerstvé šťávy byly použity bez úprav, pro analýzu vlivu tepelného ošetření byly příslušné vzorky tepelně ošetřeny pasterací. Pro zkoumání vlivu HPP byly použity komerčně balené vzorky šťáv při výrobě ošetřené paskalizací.

6.3.1 Příprava vzorků šťáv

U vzorků čerstvé šťávy nebyly prováděny žádné úpravy.

Tepelné ošetření vzorků bylo provedeno pasterací – vzorky byly zahřáty na teplotu 70 °C a této teplotě byly vystaveny po dobu 10 minut.

Jako vzorky šťáv ošetřených paskalizací bylo využito komerčně balených výrobků od výrobce šťáv.

6.3.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Stanovení antioxidační aktivity ve vzorcích šťáv bylo provedeno metodami DPPH a ABTS.

Metoda DPPH spočívá v reakci volného radikálu DPPH (2,2-difenyl-1-pikryl-hydrazyl) s antioxidanty obsaženými ve vzorku. Během reakce dochází ke změně barvy a úbytku absorbance. Absorbance byla měřena při vlnové délce 515 nm.

Byl připraven zásobní roztok z 0,024 g DPPH a 100 ml metanolu. Z tohoto roztoku byl připraven pracovní roztok, který vznikl smícháním 10 ml zásobního roztoku s 45 ml metanolu. Byla proměřena absorbance. Byla vytvořena reakční směs přidáním 450 μ l vzorku s 8,55 ml pracovního roztoku a tato směs byla ponechána hodinu ve tmě. Poté byla proměřena absorbance jednotlivých vzorků. Byla provedena vždy dvě měření vedle sebe.

Kalibrační řada byla vytvořena ze zásobního roztoku kyseliny askorbové o koncentracích 40, 80, 120, 160, 200 mg/l. Absorbance byla opět proměřena při vlnové délce 515 nm.

Antioxidační aktivita byla vyjádřena z poklesu absorbance v % podle vztahu:

$$A\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100$$

A_0 je naměřená absorbance pracovního roztoku a A získaná absorbance směsi pracovního roztoku se vzorkem. Zjištěná závislost úbytku absorbance A_0 na koncentraci kyseliny askorbové je znázorněna pomocí kalibrační křivky. Výsledky jsou pak vyjádřeny jako ekvivalent odpovídající antioxidační kapacitě, kterou by způsobilo množství kyseliny askorbové [66]

6.3.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Stanovení antioxidační aktivity ve vzorcích šťáv bylo provedeno metodami DPPH a ABTS.

Při prověřování celkové antioxidační aktivity v potravinách metodou ABTS se využívá principu odbarvování roztoku se vzorkem, kde radikálový kation $ABTS^{\bullet+}$ vzniká ve stabilní formě před reakcí s antioxidanty. Iniciátorem, který ABTS přeměňuje na modrozelený kationradikál $ABTS^{\bullet+}$, je $K_2S_2O_8$ (peroxodisíran draselný).

Radikál kationtu ABTS byl připraven reakcí ABTS diamonné soli s peroxodisíranem draselným. Bylo naváženo 0,096 g ABTS a poté rozpuštěno v 50 ml destilované vody na

konečnou koncentraci 3,5 mmol/l. Poté byl přidán roztok $K_2S_2O_8$ připravený smícháním 0,405 g $K_2S_2O_8$ s 25 ml destilované vody na koncentraci 0,06 mol/l v poměru 50:1. Tento vzniklý roztok byl ponechán 12 – 16 hodin reagovat za nepřístupu světla při laboratorní teplotě. Po uplynulé době byl roztok smíchán s čerstvě připraveným octanovým pufrem o pH 4,3 v poměru 39:1 (pufr:ABTS).

S touto reakční směsí byl smícháván vzorek, kdy se ke 2 ml reakční směsi přidalo 25 μ l vzorku. Roztok byl ponechán reagovat po dobu 30 minut a poté byl změřen úbytek absorbance A při vlnové délce $\lambda = 734$ nm. Absorbance reakční směsi pufr:ABTS byla měřena spektrofotometricky proti pufru při stejné vlnové délce jako analyzované vzorky a činila $0,7 \pm 0,01$. Úbytek absorbance byl vyjádřen v % a pomocí regresní rovnice kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství Troloxu.

Postup pro sestavení kalibrační křivky byl stejný jako při smíchávání reakčního roztoku s analyzovaným vzorkem. Ředěním Troloxu s metanolem byly připraveny koncentrace 0,01 – 0,06 μ mol/25 μ l Troloxu, které byly přidávány k reakční směsi místo analyzovaného vzorku a následně byla měřena jejich absorbance.

Antioxidační aktivita byla vyjádřena z poklesu absorbance v % podle vztahu:

$$A\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100$$

A_0 je naměřená absorbance pracovního roztoku a A získaná absorbance směsi pracovního roztoku se vzorkem. Zjištěná závislost úbytku absorbance A_0 na koncentraci Troloxu je znázorněna pomocí kalibrační křivky. Výsledky jsou pak vyjádřeny jako ekvivalent odpovídající antioxidační kapacitě, kterou by způsobilo množství Troloxu [67].

6.3.4 Analýza celkových polyfenolů

Stanovení celkového množství polyfenolů v zeleninových šťávách bylo provedeno spektrometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

Do 10 ml odměrné baňky bylo vždy napipetováno 0,1 ml vzorku, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% Na_2CO_3 a obsah byl doplněn destilovanou vodou. Připravený roztok ve zkumavkách byl řádně promíchán. Zároveň byl také připraven slepý pokus (blanc), který obsahoval pouze destilovanou vodu, Folin-Ciocalteuovo činidlo a 20% Na_2CO_3 . Proti němu byly pak měřeny ostatní vzorky při vlnové délce 765 nm. Měření bylo prováděno dvakrát vedle sebe.

Ze zásobního roztoku kyseliny gallové byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50, 100, 200, 400, 600, 800 mg/l. Dále bylo přidáno 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,5 ml 20% Na_2CO_3 . Absorbance byla opět proměřena při vlnové délce 765 nm. Pomocí sestavené kalibrační křivky kyseliny gallové bylo vypočítáno množství celkových polyfenolů ve vzorku [67].

6.3.5 Analýza celkových flavonoidů

Analýza celkových flavonoidů ve vzorcích byla provedena pomocí spektrofotometrie.

Ke každému stanovení bylo použito 1,7 ml vzorku spolu se 17 ml 20% etanolu a 0,75 ml 0,5 mol/l NaNO_2 . Po 5 minutách bylo přidáno 0,75 ml 0,3 mol/l $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Po dalších pěti minutách bylo přidáno 5 ml 1 mol/l NaOH . Poté byla vzniklá směs kvantitativně převedena do odstředivkových zkumavek a odstředěna při 6000 RPM/min po dobu 10 minut. Vzorek byl před spektrofotometrickým stanovením dávkován do kyvet pomocí stříkačky s použitím PTFE mikrofiltru o velikosti pórů 13 μm . Bylo provedeno měření absorbance na přístroji Libra S6 při vlnové délce 506 nm. Jako slepý vzorek (blanc) byl použit etanol.

Jako standard byl použit rutin. Nejprve bylo naváženo 0,1 g standardu s přesností na 0,1 mg, který byl rozpuštěn v metanolu a následně kvantitativně převeden metanolem do 10 ml odměrné baňky. Tímto způsobem byl získán zásobní standardní roztok o koncentraci 10 mg/ml, jenž následně sloužil pro přípravu roztoků kalibrační řady o koncentracích: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 a 1,4 mg/ml.

Jednotlivé body kalibrační křivky byly podrobeny výše popsanému pracovnímu postupu. U každého bodu kalibrační křivky byla proměřena absorbance 4x [68].

6.3.6 Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet

Stanovení obsahu radikálů bylo hodnoceno prostřednictvím stanovení jejich úbytkové aktivity.

Extrakt jednotlivých šťáv pro měření byl připraven ve formě 25% roztoku (25 ml) ve fosfátovém pufru ($c = 50 \text{ mmol/l}$, pH 7,0 - 75 ml = 0,2918 g monohydrátu + 0,7733 g dihydrátu NaH_2PO_4 do 100 ml vody). Aktivita hydroxylových radikálů byla testována následující metodikou: 1 ml extraktu (tj. 25 ml + 75 ml pufru 50 mmol/l) se smísí s 0,8 ml reakčního pufru (fosfátový pufr, 20 mmol/l o pH 7,4 - tj. 0,0623 g monohydrátu + 0,4149

dihydrátu NaH_2PO_4 do 100 ml vody; deoxyribosa, 1,75 $\mu\text{mol/l}$ - tj. 0,0235 g; síran železnato-amonný, 0,1 $\mu\text{mol/l}$ - tj. 0,0039 g; EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), 0,1 $\mu\text{mol/l}$, tj. 0,0029 g - vše bylo smícháno a doplněno pufrem (20 mmol/l, pH 7,4 na 100 ml) a 0,1 ml H_2O_2 (tj. 0,1 ml 30 % H_2O_2 + 99,9 ml vody (0,01 mol/l), pak bylo přidáno do reakční směsi.

Roztok byl udržován 10 minut při teplotě 37 °C před přidáním 0,5 ml 1 % kyseliny thiobarbiturové, která byla rozpuštěna v teplé vodě, a 1 ml 2,8 % kyseliny trichloroctové. Směs byla povařena po dobu 10 minut a prudce zchlazena. Absorbance směsi pak byla měřena při 532 nm na přístroji LIBRA S6.

Stanovení aktivity radikálu NO^\bullet byla provedena následujícím způsobem. Extrakt šťávy byl připraven postupem popsáním v předchozím odstavci. 1 ml extraktu se smíchá s 1 ml reakčního roztoku, který obsahuje nitroprusid sodný (10 mmol/l) ve fosfátovém pufru (20 mmol/l, pH 7,4, tj. 0,0623 g monohydrátu + 0,4149 dihydrátu NaH_2PO_4 do 100 ml vody) - tj. 0,2979 g nitroprusidu sodného do 100 ml pufru. Následuje inkubace při 37 °C po dobu 1 hodiny a následně 0,5 ml roztoku se smísí s 0,5 ml Griessova činidla (tj. 0,16 g do 4 ml vody). Absorbance byla měřena při 540 nm.

Všechny testy byly provedeny ve třech opakovaných měřeních. Aktivita OH^\bullet , NO^\bullet a superoxidového aniontu byla vypočtena následujícím způsobem:

$$A\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100$$

kde A_0 je absorbance kontroly (bez vzorku) a A_1 je absorbance směsi obsahující vzorek.

7 VÝSLEDKY

7.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Stanovení antioxidační aktivity v zeleninových a ovocných šťávách bylo provedeno metodou DPPH. Vzorky byly proměřeny postupem popsáním v kapitole 6.3.2, každý vzorek byl proměřen třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Výpočet antioxidační aktivity byl proveden s použitím kalibrační křivky standardu kyseliny askorbové.

Rovnice kalibrace: $y = 0,4503x + 5,4779$

Naměřená průměrná absorbance byla dosazena do rovnice a byla vypočtena koncentrace antioxidační aktivity. Hodnoty antioxidační aktivity šťáv jsou shrnuty v tabulce.

Tabulka 3 - Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita (metodou DPPH) - [mg / 100 ml]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	Paskalizace
Brokolice s jablkem	189,12	170,87	217,12
Zelí s jablkem	163,32	159,11	109,54
Červená řepa 100%	168,54	168,01	186,77
Mrkev 100%	37,24	43,14	36,78
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	4,2	5,21	7,26
Zelí s jablkem	2,65	4,23	5,65
Červená řepa 100%	7,84	5,26	9,45
Mrkev 100%	4,23	0,56	5,26

Provedeným měřením bylo zjištěno, že celková antioxidační aktivita mrkvové šťávy je ve srovnání s ostatními nápoji poměrně nízká – a to pouze 37,24 mg/100 ml. U ostatních druhů šťáv antioxidační aktivita převyšovala 160 mg/100 ml – a to u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita poklesla z $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml na $170,87 \pm 5,21$ mg/100 ml. Po ošetření vysokým tlakem - paskalizací došlo ke zvýšení antioxidační aktivity z $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml na $217,12 \pm 7,26$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita poklesla z $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml na $159,11 \pm 4,23$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo poměrně výrazný pokles antioxidační aktivity oproti čerstvé šťávě, a to z $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml na $109,54 \pm 5,65$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna antioxidační aktivita $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita zůstala prakticky identická jako u čerstvé šťávy, a to $168,01 \pm 5,26$ mg/100 ml proti $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml. Po paskalizaci nastalo zvýšení antioxidační aktivity z $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml na $186,77 \pm 9,45$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna antioxidační aktivita $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml, což je poměrně nižší hodnota ve srovnání s ostatními šťávami. Po tepelném ošetření pasterací se hodnota antioxidační aktivity navýšila oproti čerstvé šťávě z $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml na hodnotu $43,14 \pm 0,56$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles antioxidační aktivity z $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml na $36,78 \pm 5,26$ mg/100 ml.

7.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Stanovení antioxidační aktivity v zeleninových a ovocných šťávách bylo provedeno metodou ABTS. Vzorky byly proměřeny postupem popsáním v kapitole 6.3.3, každý vzorek byl proměřen třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Výpočet antioxidační aktivity byl proveden s použitím kalibrační křivky standardu Troloxu. Rovnice kalibrace: $y = 1678,9x - 1,1393$

Pomocí rovnice regrese kalibrační křivky, závislosti úbytku absorbance A na koncentraci Troloxu, byl zjištěn úbytek absorbance vzorku, který byl přepočten na ekvivalentní množství Troloxu. Každý vzorek byl měřen třikrát a z něj byla vypočtena průměrná hodnota, která byla vztažena na 100 ml vzorku.

Hodnoty antioxidační aktivity šťáv jsou shrnuty v tabulce.

Tabulka 4 - Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Antioxidační aktivita (metodou ABTS) - [mg / 100 ml]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	Paskalizace
Brokolice s jablkem	192,41	201,02	184,71
Zelí s jablkem	187,72	145,2	143,26
Červená řepa 100%	163,85	176,33	170,98
Mrkev 100%	53,44	53,62	66,47
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	5,23	8,21	9,27
Zelí s jablkem	6,65	7,84	8,88
Červená řepa 100%	9,36	9,98	4,32
Mrkev 100%	4,54	6,32	3,14

Provedeným měřením bylo zjištěno, ve shodě s měřením metodou DPPH, že celková antioxidační aktivita mrkvové šťávy je ve srovnání s ostatními nápoji poměrně nízká – a to pouze 53,44 mg/100 ml. U ostatních druhů šťáv antioxidační aktivita převyšovala 160 mg/100 ml – a to u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita vzrostla z $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml na $201,02 \pm 8,21$ mg/100 ml. Ošetření paskalizací vedlo k mírnému poklesu antioxidační aktivity z $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml na $184,71 \pm 9,27$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml. Po pasteraci antioxidační aktivita poklesla z $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml na $145,2 \pm 7,84$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem vyvolalo také pokles antioxidační aktivity z $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml na $143,26 \pm 8,88$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna antioxidační aktivita $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se antioxidační aktivita zvýšila z $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml na $176,33 \pm 9,98$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo také zvýšení antioxidační aktivity z $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml na $170,98 \pm 4,32$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna antioxidační aktivita $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml, poměrně nižší oproti ostatním šťávám. Po tepelném ošetření pasterací hodnota antioxidační

aktivity zůstala oproti čerstvé šťávě takřka identická na hodnotě $53,62 \pm 6,32$ mg/100 ml oproti $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml u čerstvé šťávy. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení antioxidační aktivity z $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml na $66,47 \pm 3,14$ mg/100 ml.

7.3 Analýza celkových polyfenolů

Stanovení celkových polyfenolů v zeleninových a ovocných šťávách bylo provedeno spektrofotometricky. Vzorky byly proměřeny postupem popsáním v kapitole 6.3.4, každý vzorek byl proměřen třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Výpočet obsahu polyfenolů byl proveden s použitím kalibrační křivky standardu kyseliny gallové.

Rovnice kalibrace: $y = 0,0011x + 0,0124$

Naměřená průměrná absorbance byla dosazena do rovnice a byla vypočtena koncentrace polyfenolů. Hodnoty polyfenolů ve šťávách jsou shrnuty v tabulce.

Tabulka 5 - Stanovení celkových polyfenolů

Stanovení celkových polyfenolů - [mg / 100 ml]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	paskalizace
Brokolice s jablkem	174,55	142,97	183,74
Zelí s jablkem	105,12	102,32	114,84
Červená řepa 100%	126,41	95,47	154,1
Mrkev 100%	35,2	26,87	33,32
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	7,23	8,14	4,21
Zelí s jablkem	4,21	3,33	6,54
Červená řepa 100%	1,21	2,39	4,02
Mrkev 100%	0,15	0,89	2,04

Provedeným měřením bylo zjištěno, že celkový obsah polyfenolů v mrkvové šťávě je ve srovnání s ostatními nápoji poměrně nízký – a to pouze 35,2 mg/100 ml. U ostatních druhů šťáv je obsah polyfenolů podstatně vyšší – a to u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byl zjištěn obsah polyfenolů $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů poklesl z $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml na $142,97 \pm 8,14$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů z $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml na $183,74 \pm 4,21$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byl zjištěn obsah polyfenolů $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů mírně poklesl z $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml na $102,32 \pm 3,33$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů z $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml na $114,84 \pm 6,54$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byl zjištěn obsah polyfenolů $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů poklesl, a to z $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml na $95,47 \pm 2,39$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo naopak zvýšení obsahu polyfenolů z $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml na $154,1 \pm 4,02$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z mrkve byl zjištěn obsah polyfenolů $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se obsah polyfenolů snížil oproti čerstvé šťávě z $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml na hodnotu $26,87 \pm 0,89$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírné snížení obsahu polyfenolů z $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml na $33,32 \pm 2,04$ mg/100 ml.

7.4 Analýza celkových flavonoidů

Stanovení celkových flavonoidů v zeleninových a ovocných šťávách bylo provedeno spektrofotometricky. Vzorky byly proměřeny postupem popsáním v kapitole 6.3.5, každý vzorek byl proměřen třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka.

Výpočet koncentrace flavonoidů byl proveden s použitím kalibrační křivky standardu rutinu.

Rovnice kalibrace: $y = 0,6173x + 0,043$

Naměřená průměrná absorbance byla dosazena do rovnice a byla vypočtena koncentrace flavonoidů. Hodnoty flavonoidů ve šťávách jsou shrnuty v tabulce.

Tabulka 6 - Stanovení celkových flavonoidů

Stanovení celkových flavonoidů - [mg / 100 ml]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	paskalizace
Brokolice s jablkem	40,71	45,14	30,21
Zelí s jablkem	7,21	5,69	6,53
Červená řepa 100%	45,25	43,98	36,77
Mrkev 100%	9,74	6,65	5,29
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	0,15	0,08	0,54
Zelí s jablkem	0,04	0,56	0,99
Červená řepa 100%	2,14	1,02	0,36
Mrkev 100%	0,14	0,09	0,09

Provedeným měřením bylo zjištěno, že celkový obsah flavonoidů v mrkvové a zelné šťávě je ve srovnání s ostatními dvěma nápoji poměrně nízký – a to pouze 9,74 mg/100 ml u mrkvové, resp. 7,21 mg/100 ml u zelné a jablečkové šťávy. U ostatních druhů šťáv je obsah flavonoidů podstatně vyšší – a to u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byl zjištěn obsah flavonoidů $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací nastalo zvýšení obsahu flavonoidů ze $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml na $45,14 \pm 0,08$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů ze $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml na $30,21 \pm 0,54$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byl zjištěn obsah flavonoidů $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů poklesl ze $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml na $5,69 \pm 0,56$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací – vyvolalo snížení obsahu flavonoidů ze $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml na $6,53 \pm 0,99$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byl zjištěn obsah flavonoidů $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů lehce poklesl, a to ze $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml na $43,98 \pm 1,02$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo výraznější snížení obsahu flavonoidů ze $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml na $36,77 \pm 0,36$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z mrkve byl zjištěn obsah flavonoidů $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se obsah flavonoidů snížil oproti čerstvé šťávě z $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml

na hodnotu $6,65 \pm 0,09$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - tak jako u předchozího měření vyvolalo výraznější snížení obsahu flavonoidů z $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml na $5,29 \pm 0,09$ mg/100 ml.

7.5 Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet

Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet v zeleninových a ovocných šťávách bylo provedeno spektrofotometricky. Vzorky byly proměřeny postupem popsáním v kapitole 6.3.6, každý vzorek byl proměřen třikrát a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách.

Tabulka 7 - Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet

OH^\bullet radikály - [%]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	Paskalizace
Brokolice s jablkem	23,45	21,15	15,01
Zelí s jablkem	26,25	22,45	30,78
Červená řepa 100%	21,52	18,17	19,94
Mrkev 100%	5,05	4,14	5,77
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	2,14	7,1	7,65
Zelí s jablkem	4,44	5,21	1,23
Červená řepa 100%	5,01	1,51	5,09
Mrkev 100%	1,23	0,14	2,74

Provedeným měřením bylo zjištěno, že celková úbytková aktivita radikálů OH^\bullet v mrkvové šťávě je ve srovnání s ostatními nápoji poměrně nízká – a to pouze 5,05 % u mrkvové šťávy. U ostatních druhů šťáv je úbytková aktivita OH^\bullet podstatně vyšší – a to u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $23,45 \pm 2,14$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla z $23,45 \pm 2,14$ % na $21,15 \pm 7,1$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu z $23,45 \pm 2,14$ % až na $15,01 \pm 7,65$ %.

V čerstvé šťávě zeli s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $26,25 \pm 4,44$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu opět poklesla z $26,25 \pm 4,44$ % na $22,45 \pm 5,21$ %. Naopak ošetření vysokým tlakem - paskalizací – vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, a to z $26,25 \pm 4,44$ % na $30,78 \pm 1,23$ %.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $21,52 \pm 5,01$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla, a to z $21,52 \pm 5,01$ % na $18,17 \pm 1,51$ %. Po ošetření vysokým tlakem - paskalizací - měla šťáva nižší úbytkovou aktivitu OH^\bullet radikálu oproti čerstvé surovině, pokles byl z $21,52 \pm 5,01$ % na $19,94 \pm 5,09$ %.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $5,05 \pm 1,23$ %. Po tepelném ošetření pasterací se úbytková aktivita OH^\bullet radikálu snížila oproti čerstvé šťávě z $5,05 \pm 1,23$ % na hodnotu $4,14 \pm 0,14$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, a to z $5,05 \pm 1,23$ % na $5,77 \pm 2,74$ %.

Tabulka 8 - Stanovení úbytkové aktivity radikálů NO^\bullet

NO radikály - [%]			
	Čerstvá šťáva	Pasterace	paskalizace
Brokolice s jablkem	14,14	10,54	10,46
Zelí s jablkem	12,24	8,44	11,46
Červená řepa 100%	29,37	12,3	14,77
Mrkev 100%	4,95	3,33	3,48
Směrodatná odchylka - sx			
Brokolice s jablkem	4,56	2,26	1,54
Zelí s jablkem	0,55	0,89	1,11
Červená řepa 100%	2,44	5,95	4,58
Mrkev 100%	0,98	0,54	2,05

Provedeným měřením bylo zjištěno, že celková úbytková aktivita NO^\bullet v mrkvové šťávě je ve srovnání s ostatními nápoji poměrně nízká - a to pouze 4,95 % u mrkvové šťávy. U šťávy z červené řepy je úbytková aktivita NO^\bullet podstatně vyšší - a to 29,37 %. V obou případech jsou udávané hodnoty u čerstvé šťávy.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $14,14 \pm 4,56$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO[•] radikálu poklesla z $14,14 \pm 4,56$ % na $10,54 \pm 2,26$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - naproti tomu vyvolalo další mírné snížení úbytkové aktivity NO[•] radikálu z $14,14 \pm 4,56$ % na $10,46 \pm 1,54$ % oproti pasterované surovině.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $12,24 \pm 0,55$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO[•] radikálu poklesla z $12,24 \pm 0,55$ % na $8,44 \pm 0,89$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles úbytkové aktivity NO[•] radikálu oproti čerstvé šťávě, a to z $12,24 \pm 0,55$ % na $11,46 \pm 1,11$ %.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $29,37 \pm 2,44$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO[•] radikálu výrazně poklesla, a to z $29,37 \pm 2,44$ % na $12,3 \pm 5,95$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo poněkud mírnější pokles úbytkové aktivity NO[•] radikálu, a to z $29,37 \pm 2,44$ % na $14,77 \pm 4,58$ %.

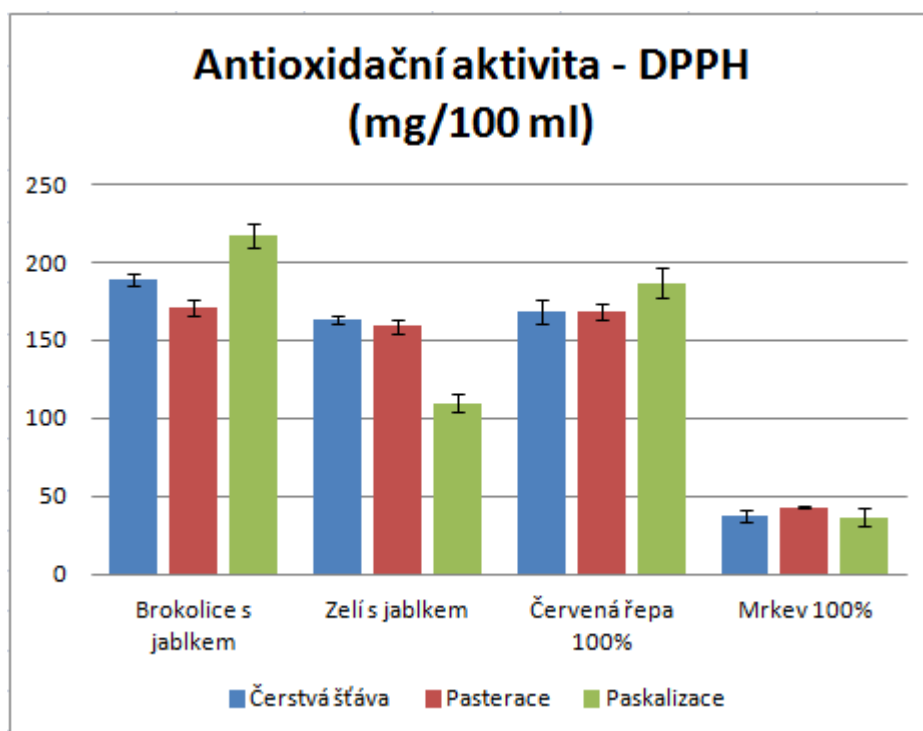
V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $4,95 \pm 0,98$ %. Po tepelném ošetření pasterací se úbytková aktivita NO[•] radikálu snížila oproti čerstvé šťávě ze $4,95 \pm 0,98$ % na hodnoty $3,33 \pm 0,54$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení úbytkové aktivity NO[•] radikálu, a to ze $4,95 \pm 0,98$ % na $3,48 \pm 2,05$ %.

8 DISKUSE

Získané výsledky byly porovnány a graficky znázorněny.

8.1 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Naměřené výsledky byly shrnuty do grafu.



Obrázek 2: Antioxidační aktivita (metoda DPPH)

Pokud hodnotíme celkovou antioxidační aktivitu jednotlivých šťáv, významně nižší hodnoty byly naměřeny u mrkvové šťávy. U ostatních vzorků jsou hodnoty proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy.

Holasová a Fiedlerová se ve své práci zabývaly laboratorním testováním ovocných a zeleninových šťáv prostřednictvím několika analytických metod. Soubor zeleninových a ovocných šťáv ukázal ve shodě s našimi výsledky nejnižší antioxidační aktivitu u mrkvové šťávy pomocí metody DPPH. Také bílé zelí, jablka a červená řepa měly antioxidační aktivitu stanovenou metodou DPPH poměrně nízkou. Exaktní porovnání našich výsledků s touto studií bohužel není možné, jelikož byly v mém laboratorním zkoumání použity smíšené šťávy a nikoliv lisovaná šťáva z jednoho ovoce, kterou používaly autorky [69].

Hlavním cílem naší práce je ale sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na antioxidační aktivitu. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu snížení antioxidační aktivity, než u ošetření vysokou teplotou, což prokázaly zahraniční studie McInerneyho [63] a Patrase [64].

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita poklesla z $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml na $170,87 \pm 5,21$ mg/100 ml. Ošetření pasterací tak vyvolalo očekávaný pokles antioxidační aktivity. Po ošetření vysokým tlakem - paskalizací došlo ke zvýšení antioxidační aktivity z $189,12 \pm 4,2$ mg/100 ml na $217,12 \pm 7,26$ mg/100 ml. Efekt paskalizace na antioxidační aktivitu byl tedy příznivý.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita poklesla z $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml na $159,11 \pm 4,23$ mg/100 ml. Nastal tedy očekávaný pokles antioxidační aktivity po tepelném ošetření. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo překvapivě poměrně výrazný pokles antioxidační aktivity oproti čerstvé šťávě, a to z $163,32 \pm 2,65$ mg/100 ml na $109,54 \pm 5,65$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna antioxidační aktivita $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita zůstala prakticky identická jako u čerstvé šťávy, a to $168,01 \pm 5,26$ mg/100 ml proti $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml. Po paskalizaci nastalo zvýšení antioxidační aktivity z $168,54 \pm 7,84$ mg/100 ml na $186,77 \pm 9,45$ mg/100 ml, což je opět příznivý výsledek našeho experimentu.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna antioxidační aktivita $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml, což je poměrně nižší hodnota ve srovnání s ostatními šťávami. Po tepelném ošetření pasterací se hodnota antioxidační aktivity navýšila oproti čerstvé šťávě z $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml na hodnotu $43,14 \pm 0,56$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles antioxidační aktivity z $37,24 \pm 4,23$ mg/100 ml na $36,78 \pm 5,26$ mg/100 ml.

Ošetření paskalizací by mělo na ošetřeném materiálu vést k zachování antioxidační aktivity, zatímco po pasteraci by mělo dojít k poklesu antioxidační aktivity oproti neošetřenému materiálu.

Dokladují to již dříve citované studie. Patras prokázal u jahodového a ostružinového pyré vyšší antioxidační aktivitu u materiálu ošetřeného HPP, než u tepelně ošetřeného pyré [64]. McInerney sledoval antioxidační aktivitu a další parametry u zeleniny. Bylo prokázáno, že

antioxidační aktivita se po paskalizaci nezměnila [63]. Další studie Patrasy sledovala antioxidační aktivitu u rajčatového a mrkvového pyré. Antioxidační aktivita byla dokonce statisticky významně vyšší u materiálu ošetřeného vysokým tlakem (400 – 600 MPa) než u neošetřeného a tepelně ošetřeného pyré [70].

V naší studii po pasteraci došlo k poklesu antioxidační aktivity u brokolice a jablečné šťávy a u šťávy ze zelí a jablka, u řepné šťávy po pasteraci zůstala antioxidační aktivita nezměněná a u mrkve nastalo zvýšení antioxidační aktivity.

Ošetření paskalizací prokázalo příznivý výsledek, tzn. zvýšení antioxidační aktivity u šťávy z brokolice a jablka a z červené řepy. Mrkvová šťáva po paskalizaci měla antioxidační aktivitu jen mírně sníženou, ale jen mírně ve srovnání s čerstvou šťávou, což lze rovněž považovat za příznivý výsledek. Naproti tomu u zelné šťávy nastal výrazný pokles antioxidační aktivity.

Z grafického znázornění vidíme, že naše naměřené hodnoty zůstávají poněkud rozporuplné.

Je možné, že odlišné údaje oproti literárním údajům mohou být způsobeny typem testovaných šťáv. Nelze vyloučit i vliv použití směsných šťáv v prvních dvou testovaných vzorcích.

Vyšší antioxidační aktivitu po paskalizaci u šťáv brokolice + jablko a z červené řepy bychom mohli vysvětlit atmosférickými vlivy při transportu čerstvé šťávy, zejména možným přístupem vzduchu u neoriginálního obalu, ve kterém byly vzorky transportovány. Tím mohly být ovlivněny oxidativní poměry ve vzorku. U komerčního balení uzavřeného z výroby byly vzorky uzavřeny a chráněny tak možným externím vlivům. I tak je zvýšení antioxidační aktivity dle literatury možné, jak dokladuje studie Patrasy [70]. Ovšem zde byly hodnoty naměřeny u mrkvové a rajčatové šťávy. Tomuto výsledku ale neodpovídá naše měření, kdy u mrkvové šťávy byla po paskalizaci antioxidační aktivita snížena.

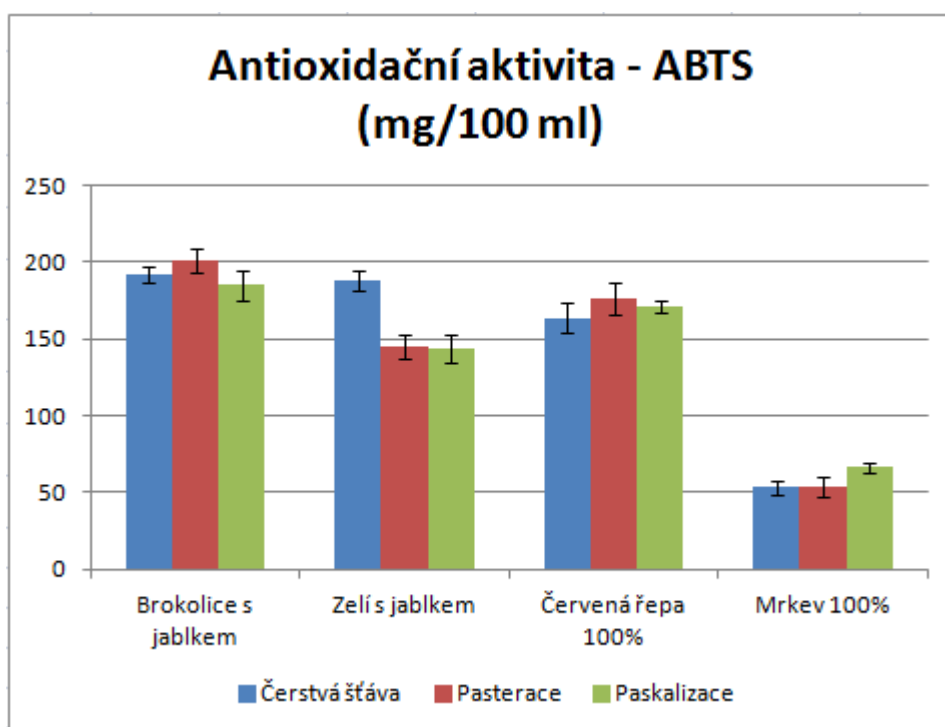
U mrkvové šťávy také došlo po pasteraci k nárůstu antioxidační aktivity, což odporuje obecně platným předpokladům. Testováním vlivu tepla na různé druhy zeleniny se zabývali Chipurura a kolektiv. Byl zjištěn pokles obsahu fenolických sloučenin a antioxidační aktivity po tepelném ošetření. Jedině v případě zeleného chřestu po konvenčním vaření a brokolice po vaření v páře došlo k nárůstu antioxidační aktivity. Mrkev v této práci bohužel nebyla sledována [71].

Příčina výrazného poklesu antioxidační aktivity u vzorků zelné a jablečné šťávy po paskalizaci zůstává nejasná. Možným vysvětlením by mohla být zvýšená citlivost antioxidantů v dané kombinaci ovoce a zeleniny.

8.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Naměřené výsledky byly shrnuty do grafu.

Pokud hodnotíme celkovou antioxidační aktivitu jednotlivých šťáv, podobně jako u metody DPPH, významně nižší hodnoty byly naměřeny u mrkvové šťávy. U ostatních vzorků jsou hodnoty proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy.



Obrázek 3: Antioxidační aktivita (metoda ABTS)

Nízké hodnoty antioxidační aktivity mrkvové šťávy jsou ve shodě s prací Holasové a Fiedlerové [69], jež byla citována v oddílu 8.1.

Hlavním cílem naší práce je sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na antioxidační aktivitu. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu

snížení antioxidační aktivity, než u ošetření vysokou teplotou, což prokázaly zahraniční studie McInerneyho [63] a Patrasy [70].

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací antioxidační aktivita vzrostla z $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml na $201,02 \pm 8,21$ mg/100 ml, její hodnota je tedy překvapivě zvýšená. Ošetření paskalizací vedlo k mírnému poklesu antioxidační aktivity z $192,41 \pm 5,23$ mg/100 ml na $184,71 \pm 9,27$ mg/100 ml, což lze považovat za příznivý nález.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna antioxidační aktivita $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml. Po pasteraci antioxidační aktivita poklesla z $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml na $145,2 \pm 7,84$ mg/100 ml, což odpovídá předpokladům. Ošetření vysokým tlakem vyvolalo ovšem také pokles antioxidační aktivity z $187,72 \pm 6,65$ mg/100 ml na $143,26 \pm 8,88$ mg/100 ml, což nebylo očekáváno.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna antioxidační aktivita $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se antioxidační aktivita zvýšila z $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml na $176,33 \pm 9,98$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo také zvýšení antioxidační aktivity z $163,85 \pm 9,36$ mg/100 ml na $170,98 \pm 4,32$ mg/100 ml, což hodnotíme jako příznivý nález.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna antioxidační aktivita $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml, poměrně nižší oproti ostatním šťávám. Po tepelném ošetření pasterací hodnota antioxidační aktivity zůstala oproti čerstvé šťávě takřka identická na hodnotě $53,62 \pm 6,32$ mg/100 ml oproti $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml u čerstvé šťávy. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení antioxidační aktivity z $53,44 \pm 4,54$ mg/100 ml na $66,47 \pm 3,14$ mg/100 ml.

Diskuse o provedených měřeních pořízených metodou ABTS vychází ze stejných předpokladů jako měření metodou DPPH. Tedy ošetření paskalizací by mělo na ošetřeném materiálu vést k zachování antioxidační aktivity, zatímco po pasteraci by mělo dojít k poklesu antioxidační aktivity oproti neošetřenému materiálu.

Provedené studie k tomuto tématu byly diskutovány v bodu 8.1.5 [63, 64, 70]

V naší práci po pasteraci došlo k poklesu antioxidační aktivity u šťávy ze zelí a jablka. U šťávy z mrkve po pasteraci zůstala antioxidační aktivita nezměněná, u zbylých typů šťáv nastalo zvýšení antioxidační aktivity.

Ošetření paskalizací prokázalo příznivý výsledek, tzn. zvýšení antioxidační aktivity u šťávy z červené řepy a mrkve. Brokolicová šťáva s jablkem po paskalizaci měla antioxidační aktivitu jen mírně sníženou, ale jen mírně ve srovnání s čerstvou šťávou, což lze rovněž považovat za příznivý výsledek. Naproti tomu u zelné šťávy nastal výrazný pokles antioxidační aktivity.

Zjištěné výsledky jsou v zásadě odpovídající provedenému měření metodou DPPH. Proto závěry z diskuse v kapitole 8.2.1 lze aplikovat i na měření metodou ABTS.

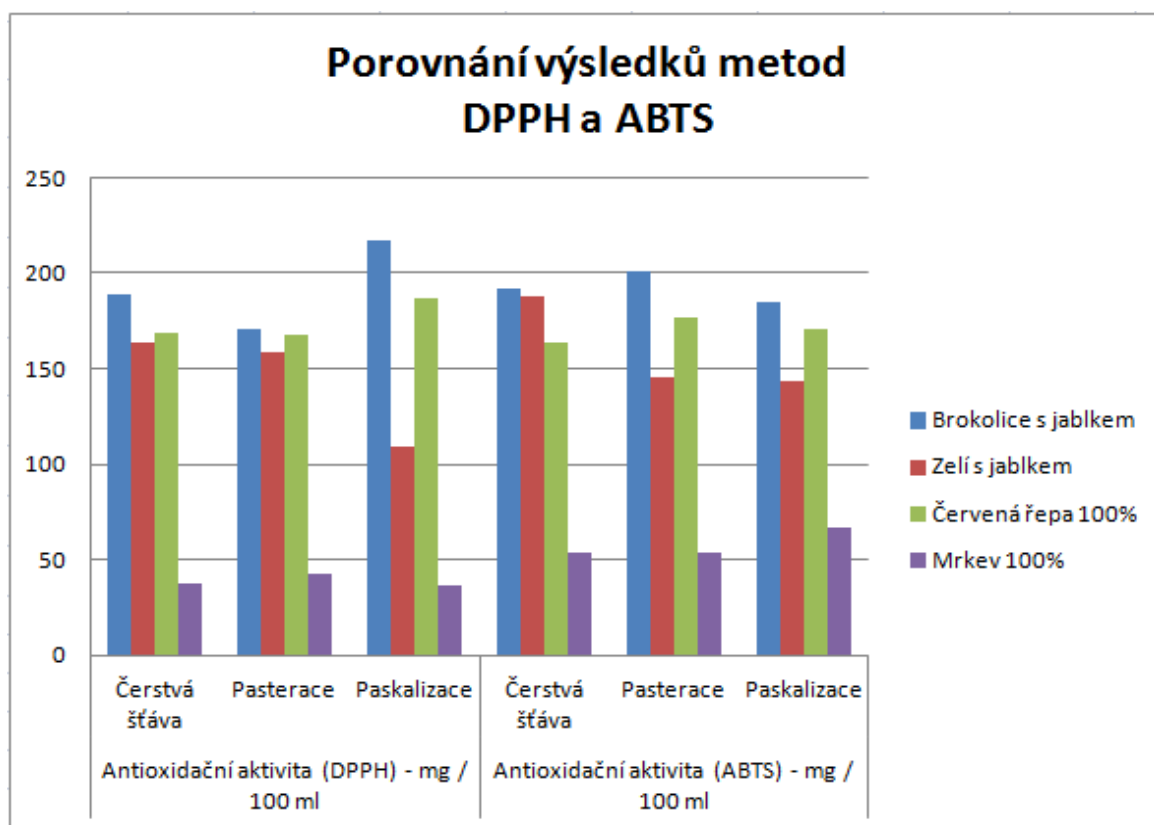
Pro srovnání je připojeno porovnání výsledků provedených oběma metodami měření antioxidační aktivity.

8.3 Porovnání výsledků metodou DPPH a ABTS

V tabulce a grafu uvádíme sumární výsledky pořízené metodami DPPH a ABTS.

Tabulka 9 - Porovnání výsledků metod DPPH a ABTS

Typ šťávy	Antioxidační aktivita (DPPH) - mg / 100 ml			Antioxidační aktivita (ABTS) - mg / 100 ml		
	Čerstvá šťáva	Pasterace	Paskalizace	Čerstvá šťáva	Pasterace	Paskalizace
Brokolice s jablkem	189,12	170,87	217,12	192,41	201,02	184,71
Zelí s jablkem	163,32	159,11	109,54	187,72	145,2	143,26
Červená řepa 100%	168,54	168,01	186,77	163,85	176,33	170,98
Mrkev 100%	37,24	43,14	36,78	53,44	53,62	66,47
Směrodatná odchylka - sx						
Brokolice s jablkem	4,2	5,21	7,26	5,23	8,21	9,27
Zelí s jablkem	2,65	4,23	5,65	6,65	7,84	8,88
Červená řepa 100%	7,84	5,26	9,45	9,36	9,98	4,32
Mrkev 100%	4,23	0,56	5,26	4,54	6,32	3,14



Obrázek 4: Porovnání výsledků metod DPPH a ABTS

Obě metody využívají shodného principu eliminace syntetických radikálů, kdy je sledována změna absorbance vzorku, který se odbarvuje v závislosti na antioxidační aktivitě a je měřena jeho absorbance spektrofotometricky. Obě metody se liší použitými reakčními činidly [72].

Principem DPPH testu je schopnost stabilního volného radikálu 2,2-difenyyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH• vykazuje silnou absorpci v UV-VIS spektru. Při tomto testu se po redukci antioxidantem (AH) nebo radikálem (R•) roztok odbarví dle následující reakce: $\text{DPPH}^{\bullet} + \text{AH} \rightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^{\bullet}$, $\text{DPPH}^{\bullet} + \text{R}^{\bullet} \rightarrow \text{DPPH-R}^{\bullet}$

Princip stanovení ABTS metodou je založen na neutralizaci radikalkationtu vzniklého jedoelektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS• (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál $\text{ABTS}^{\bullet} - e^- \rightarrow \text{ABTS}^{++}$. Tato reakce je monitorována spektrofotometricky [73].

Vzhledem k malému počtu měření nebylo možno provést adekvátní statistické srovnání obou metod, z grafického znázornění ale vidíme, že hodnoty antioxidační aktivity pořízené metodou ABTS se jeví poněkud vyšší než u měření metodou DPPH. Důvod tohoto rozdílu

předpokládáme v možném rozdílném charakteru metod, reaktivitě použitých činidel a samozřejmě také i principem prováděných stanovení.

Jak vyplývá z teoretické části, antioxidanty přijímáme zejména z rostlinných zdrojů. Obsah antioxidačních látek v rostlinách je dán nejen druhem požívané plodiny, ale rozdíly můžeme zaznamenat také u jednotlivých odrůd či poddruhů. Rop a kolektiv sledovali obsah polyfenolů, flavonoidů, antioxidační kapacity a úbytkové aktivity radikálů. Jednak u přírodních jablečných kultivarů z Litenčické pahorkatiny a u komerční odrůdy Idared, jež je nejvíce používanou světovou odrůdou při výrobě džusů. Byl sledován obsah polyfenolů, flavonoidů, antioxidační aktivita a aktivita radikálů OH^\bullet a NO^\bullet v jablečné šťávě. Byly jednak zaznamenány rozdíly v obsahu bioaktivních látek mezi jednotlivými odrůdami. Navíc bylo zjištěno, že obsah testovaných látek i antioxidační aktivita a aktivita radikálů OH a NO je ve všech nativních kultivarech vyšší než u běžně užívané odrůdy Idared [74].

Obsah antioxidantů v rostlině či plodu je odvislý i od externích vlivů. Patří sem například vliv oblasti či regionu, ve které jsou plodiny pěstovány. Roli zde hraje zejména podnebí a počasí (teplota, vlhkost, intenzita slunečního svitu apod.), stejně tak jako způsob pěstování, hnojení, chemické složení půdy apod. Vlivy způsobu pěstování na obsah antioxidantů demonstruje Mitchellová, která podává přehled prací srovnávajících konvenční a organické (BIO) zemědělství. Byl tak zaznamenán vyšší obsah fenolických látek v organicky pěstovaných hruškách a broskvích, vyšší antioxidační aktivita organicky pěstovaného špenátu a čínské zeli, vyšší hladina fenolických látek a kyseliny askorbové v bio jahodách, sladké kukuřici a ostružinách [75].

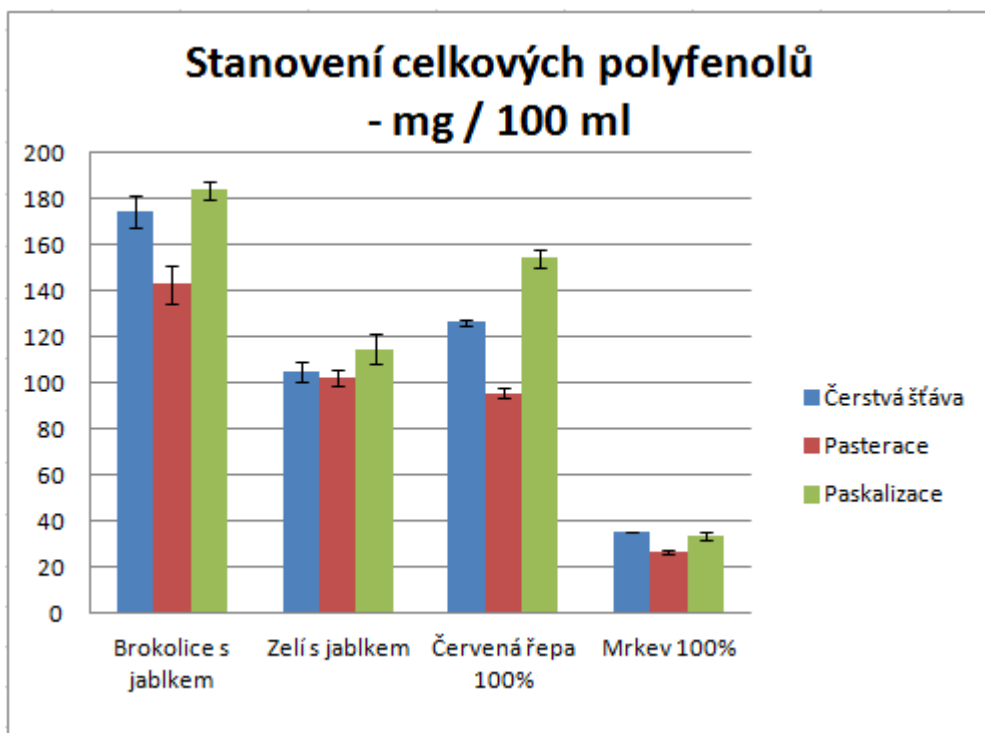
8.4 Analýza celkových polyfenolů

Naměřené hodnoty byly shrnuty do grafu.

Pokud hodnotíme celkový obsah polyfenolů v testovaných čerstvých šťávách, nejvyšší obsah byl obsažen ve šťávě z brokolice a jablka. Následuje šťáva z červené řepy, směs šťáv ze zeli a jablka a nejnižší obsah polyfenolů ze všech vzorků měla mrkvová šťáva. U ostatních vzorků jsou hodnoty proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy.

Holasová a Fiedlerová se ve své práci zabývaly laboratorním testováním ovocných a zeleninových šťáv prostřednictvím několika analytických metod. Autorky hodnotily kromě antioxidační aktivity i obsah polyfenolů. Nejvyšší obsah polyfenolů z ovoce, jež bylo

obsaženo i v našich vzorcích, měly v jejich studii šťávy z brokolice, následovaná šťávou z červené řepy, bílého zelí, jablka a mrkve. Exaktní porovnání mých výsledků s touto studií bohužel není možné, jelikož byly v mém laboratorním zkoumání použity smíšené šťávy, a nikoliv lisovaná šťáva z jednoho ovoce, kterou používaly autorky [69].



Obrázek 5: Celkový obsah polyfenolů

Hlavním cílem naší práce je ale sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na obsah polyfenolů. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu snížení obsahu polyfenolů, než u ošetření vysokou teplotou, což zkoumal např. Patras ve své studii [64].

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byl zjištěn obsah polyfenolů $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů poklesl z $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml na $142,97 \pm 8,14$ mg/100 ml, což odpovídá našim i literárním předpokladům. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů z $174,55 \pm 7,23$ mg/100 ml na $183,74 \pm 4,21$ mg/100 ml, což hodnotíme jako příznivý výsledek měření.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byl zjištěn obsah polyfenolů $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů mírně poklesl z $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml na $102,32 \pm 3,33$ mg/100 ml. Nastal tedy očekávaný pokles obsahu polyfenolů po tepelném

ošetření. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů z $105,12 \pm 4,21$ mg/100 ml na $114,84 \pm 6,54$ mg/100 ml.

V čerstvé šťávě z červené řepy byl zjištěn obsah polyfenolů $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah polyfenolů poklesl, a to z $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml na $95,47 \pm 2,39$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo naopak zvýšení obsahu polyfenolů z $126,41 \pm 1,21$ mg/100 ml na $154,1 \pm 4,02$ mg/100 ml. Nedošlo tedy k poklesu obsahu polyfenolů, naopak k jeho zvýšení, což potvrdilo naši hypotézu.

V čerstvé šťávě z mrkve byl zjištěn obsah polyfenolů $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se obsah polyfenolů snížil oproti čerstvé šťávě z $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml na hodnotu $26,87 \pm 0,89$ mg/100 ml. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírné snížení obsahu polyfenolů z $35,2 \pm 0,15$ mg/100 ml na $33,32 \pm 2,04$ mg/100 ml, což je vyšší hodnota než po tepelném ošetření a také ji lze hodnotit příznivě.

Obsahem polyfenolů v různých druzích ovoce a zeleniny se zabývali polští autoři Ciešlik a kolektiv [76]. Z námi zkoumaných druhů zeleniny byla testována brokolice, mrkev, zelí a jablko. V brokolici byl naměřen obsah polyfenolů 290 mg/100 g, což je vyšší hodnota než v naší testované směsné šťávě s jablečnou složkou. Zelí obsahovalo 108 mg/100 g polyfenolů, což je hodnota srovnatelná s naší naměřenou hodnotou, ale ve směsi s jablkem. V mrkvi autoři naměřili 156 mg/100 g, což je výrazně vyšší hodnota než v našem měření. Jablko odrůdy Gala mělo obsah polyfenolů 132 mg/100 g. Nutno zdůraznit, že autoři hodnotili obsah polyfenolů nikoliv ve šťávě jako v našem testování, ale v čerstvé a sušené zelenině a ovoci. Citovaná množství polyfenolů jsou z čerstvých vzorků.

Podobný výzkum prováděli brazilští autoři Mélo a kolektiv [77]. V mrkvi prokázali obsah polyfenolů jen 12.93 mg/100 g. Zelí mělo obsah polyfenolů 47.34 mg/100 g. Vidíme tedy, že obsah polyfenolů je v různých výzkumech rozdílný.

Ošetření paskalizací by mělo na ošetřeném materiálu vést k zachování obsahu polyfenolů, zatímco po pasteraci by mělo dojít k poklesu obsahu polyfenolů oproti neošetřenému materiálu, což prokazuje Patras [64].

Při našem měření u brokolicové a jablečné šťávy došlo po pasteraci k poklesu obsahu polyfenolů oproti čerstvé šťávě, což odpovídá teoretickým i literárním předpokladům. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů, dokonce větší než u čerstvé šťávy, což je příznivý výsledek našeho měření.

Šťáva ze zelí a jablka byla tepelně ošetřena a obsah polyfenolů mírně poklesl oproti čerstvé šťávě. Naopak ošetření paskalizací vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů nad úroveň čerstvé šťávy. Opět se potvrdily naše teoretické předpoklady.

Po tepelném ošetření šťávy z červené řepy pasterací obsah polyfenolů poklesl oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení obsahu polyfenolů nad úroveň čerstvé šťávy. Ošetření suroviny vysokým tlakem tedy vyvolalo příznivý efekt na obsah polyfenolů.

U mrkvové šťávy po tepelném ošetření pasterací se také obsah polyfenolů snížil proti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles obsahu polyfenolů, ale tato hodnota převýšila obsah polyfenolů v čerstvé šťávě, což dokládá příznivý efekt paskalizace na hodnotu polyfenolů v surovině.

Z grafického znázornění vidíme, že naše naměřené hodnoty polyfenolů jsou oproti testování antioxidační aktivity daleko více konzistentní.

Očekávání, že po tepelném ošetření poklesne obsah polyfenolů, se v našem měření tedy naplnilo a ve všech vzorcích došlo k poklesu obsahu polyfenolů. Ve shodě se studií Chipurura a kolektivu, který potvrdil také pokles obsahu fenolických sloučenin po tepelném ošetření [71].

Po ošetření šťávy paskalizací došlo u mrkve k mírnému snížení obsahu polyfenolů. U ostatních testovaných vzorků došlo k navýšení obsahu polyfenolů. Patras zkoumal ve své studii mrkvové a rajčatové pyré po tepelném ošetření a aplikaci paskalizace. U mrkvového i rajčatového pyré došlo k poklesu polyfenolů po tepelném ošetření. Po ošetření HPP závisela hodnota polyfenolů ve vzorcích na použitém tlaku. U mrkve obsah polyfenolů klesal s rostoucím tlakem, přičemž při 400 a 500 MPa byl jejich obsah vyšší než v čerstvé šťávě a při 600 MPa byl fenolický obsah mírně snížen. U rajčat naopak s rostoucím tlakem obsah fenolických sloučenin narůstal. Při 400 MPa byl obsah polyfenolů nižší a při 500 a 600 MPa se obsah polyfenolů zvýšil oproti čerstvé šťávě [70].

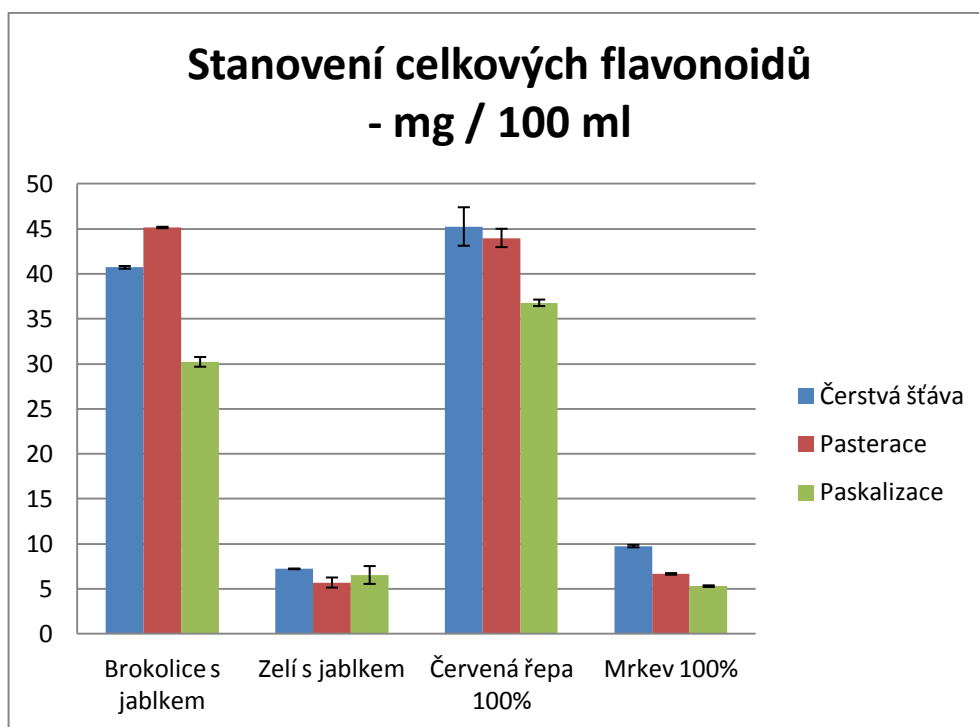
Navýšení obsahu polyfenolů v našich vzorcích tedy odpovídá literárním údajům.

Je možné také spekulovat, že vyšší obsah polyfenolů zjištěný po paskalizaci by mohl být vysvětlen atmosférickými vlivy při transportu čerstvé šťávy, zejména možným přístupem vzduchu u neoriginálního obalu, ve kterém byly vzorky transportovány. Tím mohly být

ovlivněny oxidativní poměry ve vzorku. U komerčního balení uzavřeného z výroby byly vzorky uzavřeny a chráněny tak možným externím vlivům.

8.5 Stanovení celkových flavonoidů

Naměřené hodnoty byly shrnuty do grafu.



Obrázek 6: Celkový obsah flavonoidů

Pokud hodnotíme celkový obsah flavonoidů v testovaných čerstvých šťávách, nejvyšší obsah byl obsažen ve šťávě z červené řepy. Následuje šťáva z brokolice a jablka, mrkve a nejnižší obsah flavonoidů ze všech vzorků měla šťáva ze zelí a jablka. U ostatních vzorků jsou hodnoty proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy. Obsah flavonoidů v našem měření je poměrně vysoký u šťávy z červené řepy a u brokolice s jablkem. Ve srovnání s nimi je obsah flavonoidů u vzorků z mrkve a zelí s jablkem výrazně nižší.

Hlavním cílem mé práce je ale sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na obsah flavonoidů. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu snížení obsahu flavonoidů, než u ošetření vysokou teplotou.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byl zjištěn obsah flavonoidů $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací nastalo zvýšení obsahu flavonoidů ze $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml na $45,14 \pm 0,08$ mg/100 ml, což nebylo očekáváno. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů ze $40,71 \pm 0,15$ mg/100 ml na $30,21 \pm 0,54$ mg/100 ml. Došlo tak k ještě výraznějšímu poklesu obsahu flavonoidů, než bychom po paskalizaci očekávali.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byl zjištěn obsah flavonoidů $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů poklesl ze $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml na $5,69 \pm 0,56$ mg/100 ml. Nastal tedy pokles obsahu flavonoidů po tepelném ošetření, jak bychom po pasteraci očekávali. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů ze $7,21 \pm 0,04$ mg/100 ml na $6,53 \pm 0,99$ mg/100 ml, ale ne na takovou úroveň, jakou vyvolalo tepelné ošetření.

V čerstvé šťávě z červené řepy byl zjištěn obsah flavonoidů $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů lehce poklesl, a to ze $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml na $43,98 \pm 1,02$ mg/100 ml. Nastal tedy očekávaný pokles obsahu flavonoidů po tepelném ošetření. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo výraznější snížení obsahu flavonoidů ze $45,25 \pm 2,14$ mg/100 ml na $36,77 \pm 0,36$ mg/100 ml, přičemž bychom očekávali vzhledem k šetrnějšímu způsobu ošetření paskalizací nižší pokles hladiny flavonoidů.

V čerstvé šťávě z mrkve byl zjištěn obsah flavonoidů $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml. Po tepelném ošetření pasterací se obsah flavonoidů očekávaně snížil oproti čerstvé šťávě z $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml na hodnotu $6,65 \pm 0,09$ mg/100 ml. Nastal tedy pokles obsahu flavonoidů po tepelném ošetření. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - tak jako u předchozího měření vyvolalo výraznější snížení obsahu flavonoidů z $9,74 \pm 0,14$ mg/100 ml na $5,29 \pm 0,09$ mg/100 ml.

Obsah flavonoidů v různých druzích ovoce a zeleniny popisuje americká studie, ve které autoři testují obsah flavonoidů v různých druzích ovoce a zeleniny dostupných ve Spojených státech amerických. Bohužel jsou uváděny hodnoty jednotlivých flavonoidních sloučenin a ne sumární hodnoty, takže výsledky nelze srovnávat s našimi hodnotami [78].

Bulharská práce se zabývala obdobnou problematikou. Nebyly testovány šťávy, ale ovoce či zelenina, výsledky jsou na 100 gramů suroviny. V červeném jablku bylo zjištěno 48,6

mg flavonoidů, v mrkvi 26,7 mg, v zelí (červeném) 23,7 mg, v brokolici 18,8 mg flavonoidů. Červená řepa testována nebyla [79].

V našem měření bylo dosaženo oproti studii poměrně nízkých hodnot flavonoidů u mrkve a zelí s jablkem a vyšších hodnot u zbylých testovaných šťáv, přičemž červená řepa ve studii hodnocena nebyla.

Ošetření paskalizací by mělo na ošetřeném materiálu vést k zachování obsahu flavonoidů, zatímco po pasteraci by mělo dojít k poklesu obsahu flavonoidů oproti neošetřenému materiálu. Dokládá to například práce Chena, jenž se spolupracovníky hodnotil obsah polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity u sojového mléka, kde bylo po paskalizaci dosaženo vyššího obsahu flavonoidů, než u čerstvé a tepelně ošetřené suroviny [80].

V naší práci u brokolicové a jablečné šťávy došlo po pasteraci k paradoxnímu navýšení obsahu flavonoidů oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů i oproti čerstvé šťávě, což odporuje předpokladům i literárním údajům.

U šťávy ze zelí a jablka po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů poklesl oproti čerstvé šťávě, což jsme očekávali. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírné snížení obsahu flavonoidů převyšující jejich obsah po pasterizaci, což hodnotíme jako příznivý výsledek.

Po tepelném ošetření šťávy z červené řepy pasterací obsah flavonoidů mírně poklesl oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů oproti oběma předchozím měřením, což neodpovídá našim předpokladům.

U mrkvové šťávy po tepelném ošetření pasterací obsah flavonoidů poklesl oproti čerstvé šťávě ve shodě s našimi předpoklady. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení obsahu flavonoidů.

Očekávání, že po tepelném ošetření poklesne obsah flavonoidů, se v našem měření v zásadě naplnilo a až na šťávu brokolice s jablkem ve všech dalších vzorcích došlo k poklesu obsahu flavonoidů. Příčina navýšení obsahu flavonoidů po tepelném ošetření u brokolicové šťávy s jablkem zůstává nejasná.

Po ošetření šťávy paskalizací jediným vzorkem, kde se naplnil předpoklad mírnějšího poklesu obsahu flavonoidů oproti tepelnému ošetření, byla šťáva ze zelí a jablka. U

ostatních vzorků došlo k poklesu obsahu flavonoidů nejen proti čerstvé šťávě, ale také proti tepelně ošetřeným vzorkům.

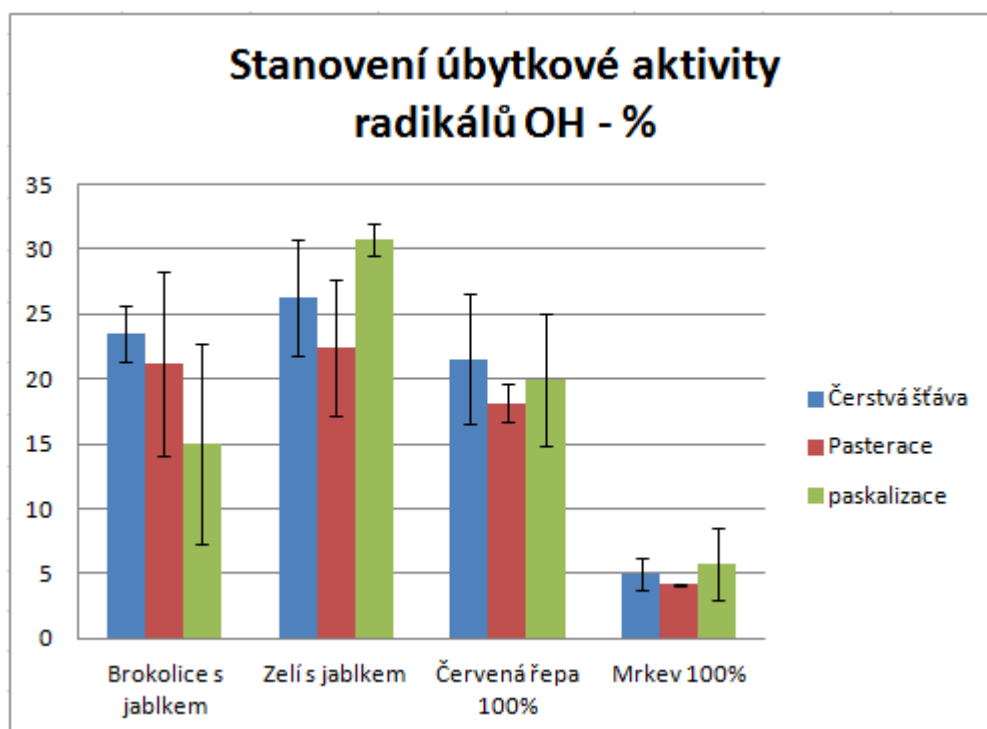
Přitom bychom u flavonoidů, jakožto podskupiny polyfenolických sloučenin, očekávali ve shodě s literárními údaji podobné naměřené výsledky jako u celkových polyfenolů v kapitole 8.4. Je možno uvažovat, že flavonoidní frakce jeví vyšší citlivost vůči ošetření vysokým tlakem než celkové polyfenoly.

8.6 Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet

Naměřené hodnoty byly shrnuty do grafů.

8.6.1 Stanovení úbytkové aktivity radikálu OH^\bullet

Pokud hodnotíme celkovou úbytkovou aktivitu radikálu OH^\bullet v testovaných čerstvých šťávách, nejvyšší úbytková aktivita byla prokázána ve šťávě zelné s jablkem. Následuje šťáva z brokolice a jablka, červené řepy a nejnižší úbytkovou aktivitu ze všech vzorků měla šťáva z mrkve. U ostatních vzorků jsou hodnoty do určité míry proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy. Úbytková aktivita radikálu OH^\bullet byla poměrně malá v mrkvové šťávě.



Obrázek 7: Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet

Hlavním cílem mé práce je ale sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na úbytkovou aktivitu OH^\bullet radikálu. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu poklesu úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, než u ošetření vysokou teplotou.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $23,45 \pm 2,14$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla z $23,45 \pm 2,14$ % na $21,15 \pm 7,1$ %, což je předpokládaný výsledek. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo snížení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu z $23,45 \pm 2,14$ % až na $15,01 \pm 7,65$ %. Došlo tak k výraznějšímu poklesu úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, než bychom po paskalizaci očekávali.

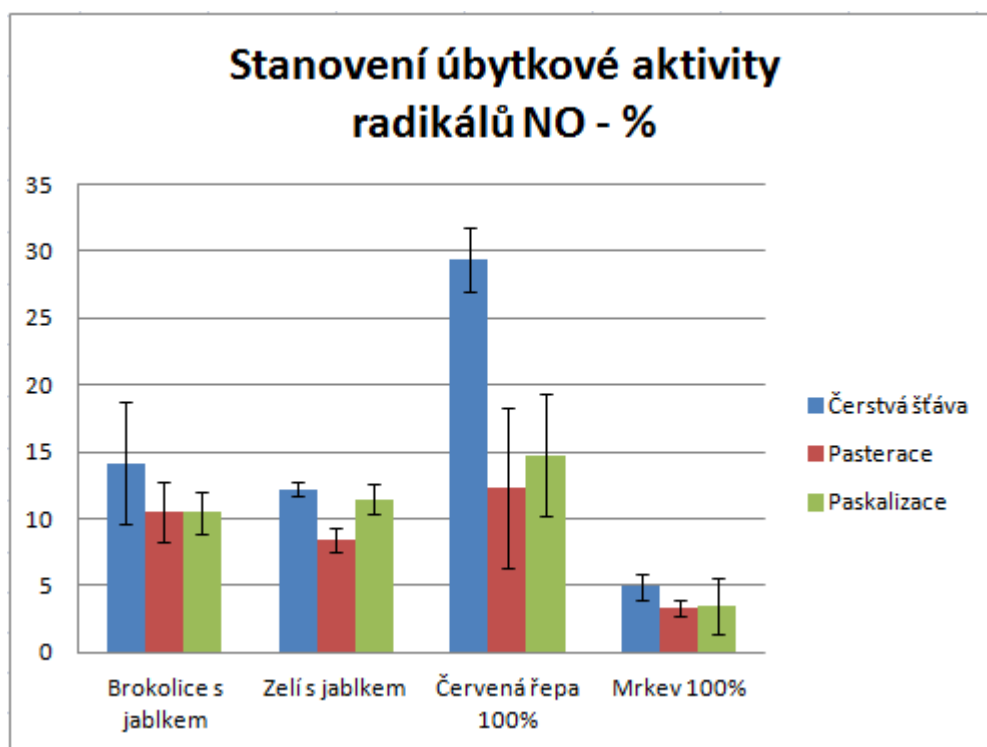
V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $26,25 \pm 4,44$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu opět poklesla z $26,25 \pm 4,44$ % na $22,45 \pm 5,21$ %. Naopak ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, dokonce více než u čerstvé šťávy, a to z $26,25 \pm 4,44$ % na $30,78 \pm 1,23$ %.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $21,52 \pm 5,01$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla, a to z $21,52 \pm 5,01$ % na $18,17 \pm 1,51$ %. Po ošetření vysokým tlakem - paskalizací - měla šťáva vyšší úbytkovou aktivitu OH^\bullet radikálu oproti pasterované surovině, ale ne nad úroveň čerstvé šťávy, a to z $21,52 \pm 5,01$ % na $19,94 \pm 5,09$ %.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna úbytková aktivita OH^\bullet radikálu $5,05 \pm 1,23$ %. Po tepelném ošetření pasterací se úbytková aktivita OH^\bullet radikálu snížila oproti čerstvé šťávě z $5,05 \pm 1,23$ % na hodnotu $4,14 \pm 0,14$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu, dokonce více než u čerstvé šťávy, a to z $5,05 \pm 1,23$ % na $5,77 \pm 2,74$ %.

8.6.2 Stanovení úbytkové aktivity radikálů NO^\bullet

Pokud hodnotíme úbytkovou aktivitu radikálu NO^\bullet v testovaných čerstvých šťávách, nejvyšší úbytková aktivita byla prokázána ve šťávě z červené řepy, a to poměrně vyšší vůči ostatním vzorkům. Následuje šťáva z brokolice a jablka, zelí a jablka a nejnižší úbytkovou aktivitu ze všech vzorků měla šťáva z mrkve. U ostatních vzorků jsou hodnoty do určité míry proměnlivé, v závislosti na způsobu ošetření testované šťávy.



Obrázek 8: Stanovení úbytkové aktivity radikálů NO[•]

Hlavním cílem mé práce je ale sledování vlivu způsobu ošetření šťáv na aktivitu radikálu NO[•]. Předpokladem je, že ošetření materiálu paskalizací povede k zachování nebo mírnějšímu snížení úbytkové aktivity radikálu NO[•], než u ošetření vysokou teplotou.

V čerstvé šťávě brokolice s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $14,14 \pm 4,56$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO[•] radikálu poklesla z $14,14 \pm 4,56$ % na $10,54 \pm 2,26$ %. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - naproti tomu vyvolalo další mírné snížení úbytkové aktivity NO[•] radikálu z $14,14 \pm 4,56$ % na $10,46 \pm 1,54$ %. Došlo k výraznějšímu poklesu úbytkové aktivity NO[•] radikálu, než bychom po paskalizaci očekávali.

V čerstvé šťávě zelí s jablkem byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $12,24 \pm 0,55$ %. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO[•] radikálu poklesla z $12,24 \pm 0,55$ % na $8,44 \pm 0,89$ %. Nastal tedy očekávaný pokles úbytkové aktivity NO[•] radikálu po tepelném ošetření. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles úbytkové aktivity NO[•] radikálu oproti čerstvé šťávě, a to z $12,24 \pm 0,55$ % na $11,46 \pm 1,11$ %.

V čerstvé šťávě z červené řepy byla zjištěna úbytková aktivita NO[•] radikálu $29,37 \pm 2,44$ %. Hodnota je poměrně výrazně vyšší než ostatní naměřené hodnoty. Po tepelném ošetření

pasterací úbytková aktivita NO^\bullet radikálu výrazně poklesla, a to z $29,37 \pm 2,44 \%$ na $12,3 \pm 5,95 \%$. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo poněkud mírnější pokles úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu, a to z $29,37 \pm 2,44 \%$ na $14,77 \pm 4,58 \%$.

V čerstvé šťávě z mrkve byla zjištěna úbytková aktivita NO^\bullet radikálu $4,95 \pm 0,98 \%$. Po tepelném ošetření pasterací se úbytková aktivita NO^\bullet radikálu snížila oproti čerstvé šťávě ze $4,95 \pm 0,98 \%$ na hodnoty $3,33 \pm 0,54 \%$. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu, dokonce více než u čerstvé šťávy, a to ze $4,95 \pm 0,98 \%$ na $3,48 \pm 2,05 \%$.

Efekt paskalizace na obsah karotenoidů a radikálovou aktivitu (bez bližší specifikace jednotlivých radikálů) zkoumali de Ancos a kolektiv na pyré z ovoce kaki. Po vysokotlakém ošetření došlo k navýšení radikálové aktivity [81].

Ošetření paskalizací by tak mělo na ošetřeném materiálu i v našem měření vést k zachování, event. i k navýšení úbytkové aktivity OH^\bullet a NO^\bullet radikálu, jak poukázaly výsledky citované studie.

U brokolicové a jablečné šťávy došlo po pasteraci k poklesu úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo další snížení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu oproti pasterované šťávě. Po tepelném ošetření pasterací došlo k poklesu úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo další mírné snížení úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu oproti pasterované šťávě. Nález po paskalizaci tedy neodpovídá předpokladům.

U šťávy ze zelí a jablka po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu proti čerstvé šťávě. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO^\bullet radikálu poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírný pokles úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu. Zde výsledky po paskalizaci v zásadě odpovídají teoretickému očekávání.

Po tepelném ošetření šťávy z červené řepy pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírnější snížení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu. Naměřená hodnota úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu u čerstvé šťávy z červené řepy je atypicky vyšší oproti dalším hodnotám. Po tepelném ošetření šťávy z červené řepy pasterací úbytková aktivita NO^\bullet radikálu výrazně poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírnější snížení

úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu. Po paskalizaci je tedy úbytková aktivita radikálů nižší než po pasterizaci.

U mrkvové šťávy po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita OH^\bullet radikálu poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo mírné zvýšení úbytkové aktivity OH^\bullet radikálu. Po tepelném ošetření pasterací úbytková aktivita NO^\bullet radikálu poklesla oproti čerstvé šťávě. Ošetření vysokým tlakem - paskalizací - vyvolalo poněkud menší snížení úbytkové aktivity NO^\bullet radikálu. U mrkvové šťávy jsou tedy naše teoretické předpoklady naměřenými hodnotami naplněny.

Lze tedy uzavřít, že teoretický předpoklad poklesu úbytkové aktivity OH^\bullet i NO^\bullet radikálů po tepelném ošetření se v našem měření naplnil a ve všech vzorcích došlo k poklesu úbytkové aktivity obou radikálů.

Po ošetření šťávy paskalizací jediným vzorkem, kde se nenaplnil předpoklad mírnějšího poklesu úbytkové aktivity OH^\bullet i NO^\bullet radikálů oproti tepelnému ošetření, byla šťáva z brokolice a jablka. U ostatních vzorků došlo sice k poklesu úbytkové aktivity obou radikálů oproti čerstvé šťávě, ale tento pokles byl mírnější než u materiálu podrobeného pasterizaci. Aktivita radikálu OH^\bullet byla přítomna dokonce ve zvýšené míře u tlakem ošetřených vzorků šťávy z mrkve a zelí s jablkem. Lze tedy uzavřít, že byl prokázán příznivý vliv paskalizace na zachování úbytkové aktivity OH^\bullet i NO^\bullet radikálu ve vzorcích.

Analýzu hladiny bioaktivních látek v jablečných šťávách přírodních jablečných kultivarů ve srovnání s komerčně používanou odrůdou Idared provedli Rob a kolektiv. Byl testován obsah polyfenolů, flavonoidů, antioxidační aktivita a aktivita radikálů NO^\bullet a OH^\bullet . Autoři zaznamenali vyšší hodnoty u nativních kultivarů ve srovnání s odrůdou Idared, jež je ve světě nejvíce používanou odrůdou při výrobě džusů. Vzhledem k zastoupení jablečné šťávy v našich vzorcích směsné šťávy s brokolicí a zelí se nabízí porovnání úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet a NO^\bullet s dosaženými výsledky ve studii.

V práci se naměřené hodnoty úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet u nativních kultivarů pohybovaly mezi $13,75 \pm 0,16$ až $16,38 \pm 0,25$ %. Odrůda Idared měla úbytkovou aktivitu OH^\bullet $11,89 \pm 0,14$ %. Hodnoty úbytkové aktivity radikálu NO^\bullet u nativních odrůd byly v rozmezí $13,27 \pm 0,14$ až $19,62 \pm 0,20$ %. Úbytková aktivita NO^\bullet radikálu odrůdy Idared činila $12,98 \pm 0,11$ % [74].

Naměřená hodnota úbytkové aktivity radikálu OH^\bullet u čerstvé šťávy brokolice + jablko činila $23,45 \pm 2,14$ % a u čerstvé šťávy zelí + jablko byla $26,25 \pm 4,44$ %. Naměřená

hodnota úbytkové aktivity radikálu NO^\bullet u čerstvé šťávy brokolice + jablko byla $14,14 \pm 4,56 \%$ a u čerstvé šťávy zelí + jablko byla $12,24 \pm 0,55 \%$.

Úbytkové aktivity radikálu OH^\bullet v brokolicové i zelné šťávě s jablkem jsou vyšší než u čistých jablečných šťáv z jablečných kultivarů. Příčinou může být odlišné složení vzorků – podíl zelné i brokolicové šťávy může působit celkově vyšší aktivitu radikálů OH^\bullet ve směsné šťávě.

Hodnoty úbytkové aktivity radikálu NO^\bullet ve směsných šťávách jsou srovnatelné s hodnotami čistých jablečných šťáv. Je tedy pravděpodobné, že aktivita NO^\bullet radikálu u jablečné šťávy je srovnatelná s aktivitou šťávy zelné a brokolicové.

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá problematikou biologicky aktivních látek v ovocných a zeleninových šťávách. V teoretické části bylo pojednáno o ovocných druzích použitých při přípravě hodnocených vzorků šťáv, rozebrány byly jednotlivé bioaktivní látky a jejich význam, se zaměřením na antioxidanty, shrnuty byly technologické postupy používané při výrobě, přičemž byl kladen důraz na paskalizaci.

Klasickým konzervačním postupem při výrobě ovocných nápojů je zahřátí na vysokou teplotu – pasterace. Tato metoda však vede ke ztrátám obsahu bioaktivních látek. Novou metodou je konzervace vysokým tlakem – paskalizace, jež podle literárních údajů vede k zachování nebo nižším ztrátám bioaktivních látek.

Cílem mé práce bylo ověřit, zda konzervace vysokým tlakem - paskalizace - povede ve srovnání s konvenční konzervační metodou - pasterací, k zachování biologicky aktivních látek. K testování byly použity vzorky 100% zeleninových a ovocných šťáv – brokolice s jablkem, zelí s jablkem, červená řepa a mrkev. Byly porovnávány vzorky čerstvé šťávy, šťávy ošetřené pasterací a paskalizací. Byly sledovány hladiny polyfenolů, flavonoidů, antioxidační aktivita a úbytková aktivita NO^\bullet a OH^\bullet radikálů.

Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH prokázalo, že po tepelném ošetření došlo u většiny vzorků k poklesu antioxidační aktivity. Ošetření metodou paskalizace vedlo k nárůstu antioxidační aktivity u šťávy z brokolice a červené řepy, u mrkvové šťávy byla antioxidační aktivita nižší, ale méně než u pasterované šťávy a u šťávy ze zelí a jablka došlo po paskalizaci k poklesu antioxidační aktivity.

Při měření provedeném metodou ABTS došlo po pasteraci k poklesu antioxidační aktivity u zelné a mrkvové šťávy a k nárůstu antioxidační aktivity u šťáv z brokolice a červené řepy. Po paskalizaci nastalo navýšení antioxidační aktivity u řepné a mrkvové šťávy, k jejímu mírnému poklesu u brokolicové šťávy a k výraznějšímu poklesu u zelné šťávy.

Stanovení koncentrací polyfenolů v testovaných vzorcích ukázalo, že po pasteraci došlo u všech vzorků bez výjimky k poklesu obsahu polyfenolů. Po ošetření paskalizací nastal mírný pokles koncentrace polyfenolů u mrkvové šťávy a k navýšení polyfenolů o všech ostatních šťáv.

Obsah flavonoidů v ovocných a zeleninových šťávách byl po ošetření pasterací zvýšen u šťávy brokolicové s jablkem, u ostatních vzorků nastal pokles flavonoidního obsahu. Po

ošetření vysokým tlakem došlo k mírnému poklesu flavonoidů u vzorků zelné šťávy s jablkem. U ostatních vzorků došlo k poklesu flavonoidního obsahu, a to výraznějšího než po ošetření pasterací.

Úbytková aktivita hydroxylového radikálu byla po ošetření pasterací ve všech šťávách snížena. Zvýšení úbytkové aktivity radikálu OH^\bullet nastalo po ošetření paskalizací u zelné a mrkvové šťávy, její mírné snížení u šťávy z červené řepy a úbytková aktivita radikálu OH^\bullet se snížila u brokolicové šťávy.

Úbytková aktivita radikálu NO^\bullet byla po ošetření pasterací ve všech šťávách snížena. Po ošetření paskalizací došlo k mírnému snížení úbytkové aktivity radikálu NO^\bullet u šťáv ze zelí a červené řepy, přičemž hodnoty po paskalizaci byly vyšší než po pasteraci. Výraznější snížení aktivity radikálu NO^\bullet nastalo po paskalizaci u vzorků z brokolice a mrkve, přičemž toto snížení bylo srovnatelné se vzorky podrobené pasteraci.

Celkově můžeme konstatovat, že po ošetření paskalizací byl u flavonoidů zaznamenán nepříznivý výsledek měření, kdy došlo k poklesu obsahu flavonoidů u všech testovaných šťáv. U polyfenolů, antioxidační aktivity i úbytkové aktivity NO^\bullet a OH^\bullet radikálů došlo u většiny vzorků buď k navýšení obsahu aktivních substancí oproti čerstvé šťávě, nebo k jejich mírnějšímu poklesu než u tepelně ošetřených vzorků.

S výjimkou flavonoidů se tedy potvrdila hypotéza, že paskalizace (high pressure processing) je šetrnější konzervační metodou, jež umožňuje zachování většího množství bioaktivních a antioxidačně působících látek, než při tepelném ošetření.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. PEŠEK, M. *Potravinářské zbožíznalství*. 1. vydání. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta 2000. 175 s. ISBN 80-7040-399-3.
2. LANGMEIER, F. *Nauka o zboží*. 2. nezměněné vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati 2002. 146 s. ISBN 80-7318-092-8.
3. DLOUHÁ, J., RICHTER, M., VALÍČEK, P. *Ovoce*. 1. vydání. Praha: Aventinum nakladatelství 1997. 225 s. ISBN 80-7151-768-2.
4. ROP, O., VALÁŠEK, P., HOZA, I. *Teoretické principy konzervace potravin I. Hlavní konzervářské suroviny*. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati 2005. 130 s. ISBN 80-7318-339-0.
5. HRABĚ, J., ROP O., HOZA I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati 2008. 179 s. ISBN 978-80-7318-372-1.
6. KUTINA, J. et al. *Pomologický atlas 2*. 1. vydání. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda 1992. 304 s. ISBN 80-209-0192-2.
7. RICHTER, M. et al. *Velký atlas odrůd ovoce a révy*. 1. vydání. Lanškroun: TG TISK s.r.o. 2002. 158 s. ISBN 80-238-9461-7.
8. VALÍČEK, P. et al. *Užitkové rostliny tropů a subtropů*. 2. upravené a doplněné vydání. Praha: Academia, nakladatelství Akademie věd České republiky 2002. 487 s. ISBN 80-200-09399-6.
9. ANONYM. Citron. *Wikipedie – otevřená encyklopedie* [online]. Feb 10, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Citron>.
10. ANONYM. Pomeranč. *Wikipedie – otevřená encyklopedie* [online]. Feb 20, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Pomeranč>.
11. UHER, J. *Výroba nápojů z ovoce*. 1. vydání. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1975. 336 s. ISBN 04-824-75.
12. CEREVITINOV, FV. *Chemické složení a fyzikální vlastnosti ovoce a zeleniny*. 1. vydání. Praha: Průmyslové vydavatelství 1952. 322 s. Bez ISBN.
13. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I*. 3. rozšířené a přepracované vydání. Tábor: OSSIS 2009. 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

14. DAUTHY, ME. Fruit and Vegetable Processing. *FAO Agricultural Services Bulletin No. 119. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations* [online]. 1995 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.fao.org/docrep/v5030e/v5030e00.HTM>
15. BIGGS, M. *Zelenina. Velká kniha zeleninových druhů*. 1. vydání. Praha: Volvox Globator 1997. 256 s. ISBN 80-7207-053-3.
16. KOLEKTIV. *Zahradnický slovník naučný. V. svazek R - Ž*. 1. vydání. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací 2001. 674 s. ISBN 80-7271-075-3.
17. KOLEKTIV. *Zahradnický slovník naučný. I. svazek A - C*. 1. vydání. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací 1994. 440 s. ISBN 80-85120-51-8.
18. ANONYM. Brokolice. *Wikipedie – otevřená encyklopedie* [online]. Feb 16, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Brokolice>.
19. KOLEKTIV. *Zahradnický slovník naučný. III. svazek CH - M*. 1. vydání. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací 1997. 559 s. ISBN 80-85120-62-3.
20. ANONYM. Řepa červená. *Wikipedie – otevřená encyklopedie* [online]. Nov 06, 2013. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Řepa_červená.
21. KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1. vydání. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury 1988. 512 s. ISBN 04-812-88.
22. KADLEC, P. et al. *Technologie potravin I*. 1. vydání - dotisk. Praha: Vydavatelství VŠCHT 2008. 300 s. ISBN 978-80-7080-509-1.
23. ANONYM. Bioaktivní látky v potravinách - Sekundární rostlinné látky. *Viš, co jíš? Ministerstvo zemědělství České republiky* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.viscojis.cz/onemocneni-vyziva/onemocneni-zajimavosti/83-bioaktivni-latky-v-potravinach>
24. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin II*. 3. rozšířené a přepracované vydání. Tábor: OSSIS 2009. 580 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
25. OSTRÝ, V., RUPRICH, J. Fytosteroly v potravinách nového typu. Informace vědeckého výboru pro potraviny. *Státní zdravotní ústav, Brno*. [online]. Dec 29, 2006. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z:

- http://czvp.szu.cz/vedvybor/dokumenty/informace/Info_2006_8_deklas_fytosteroly.pdf
26. SCHULZOVÁ, V. Glukosinoláty a produkty jejich rozkladu. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Ústav analýzy potravin a výživy* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~schulzov/Nutraceutika%20a%20FP/Glukosinolaty2008.pdf>.
27. OPLETAL, L., ŠIMERDA, B. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. Fytoestrogeny přírodního původu, výskyt v krmivovém (potravním) řetězci, pozitivní a negativní účinky. *Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha. Vědecký výbor výživy zvířat* [online]. Sep, 2010. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Studie%20Opletal%20Fytoestrogeny.pdf>.
28. OBORNÁ, I., FINGEROVÁ, H., BŘEZINOVÁ, J. Fytoestrogeny v gynekologické praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2007, **9** (10): s. 459 – 461. Dostupné také z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2007/10/09.pdf>.
29. ANONYM. Polyfenol. *Wikipedie, otevřená encyklopedie* [online]. May 5, 2013. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Polyfenol>.
30. CHVÁTALOVÁ, K. Studium antiradikálové aktivity fenolových kyselin a jejich vlivu na redoxní stav železa a mědi – disertační práce. *Masarykova univerzita v Brně, lékařská fakulta* [online]. Apr, 2006. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/14202/lf_d/DSP_chvatalova.pdf.
31. SLANINA, J., TÁBORSKÁ, E. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy*. 2004, **98** (5): s. 239 – 245. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_05_02.pdf.
32. STRUNECKÁ, A., PATOČKA, J. *Doba jedová*. 1. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton 2011. 296 s. ISBN 978-80-7387-469-8.
33. KARETOVÁ, D. Farmakologická léčba chronické žilní insuficience. *Česká angiologická společnost ČLS JEP* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.angiology.cz/data/VENOTONIKA%20-guidelines%2008.doc>.
34. ZLOCH, Z. Zdravotní efekt polyfenolů z hlediska jejich příjmu a využitelnosti. *Ústav hygieny LFUK v Plzni. Výukový portál Lékařské fakulty v Plzni* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://mefanet.lfp.cuni.cz/download.php?fid=766>.

35. ANONYM. Polyfenoly. *Fytofarmaka – poradenský server fytofarmak a komplementární medicíny* [online]. Jan, 2009. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.fytofarmaka.eu/cz/polyfenoly/>.
36. GRÝCOVÁ, L. Volné radikály, antioxidanty. *Gate2Biotech – vše o českých biotechnologiích na jednom místě* [online]. Jan 31, 2013. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/volne-radikaly-antioxidanty/>.
37. HLÚBIK, P., STŘÍTECKÁ, H., FAJFROVÁ, J. Antioxidanty v klinické praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2009, **11** (2): s. 79 – 81. Dostupné také z: <http://www.internimedcina.cz/pdfs/int/2006/02/08.pdf>.
38. PLÁTENÍK, J. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi*. 2009, **11** (1): s. 30 – 33. Dostupné také z: <http://www.internimedcina.cz/pdfs/int/2009/01/06.pdf>.
39. ANONYM. Základní reaktivní formy kyslíku a dusíku. *WikiSkripta, projekt sítě lékařských fakult MEFANET* [online]. Feb 20, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Základní_reaktivní_formy_kyslíku_a_dusík_u.
40. Vyhláška ze dne 29. září 2009, kterou se mění vyhláška č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2009, částka 110, s. 4910 - 4911. Dostupný také z: <http://www.mvcr.cz/soubor/sb110-09-pdf.aspx>.
41. TRAN, TL. Antioxidant supplements to prevent heart disease. Real hope or empty hype? *Postgraduate Medicine*, 2001, **109** (1): s. 109 - 114.
42. KOLEKTIV AUTORŮ - THE ALPHA-TOCOPHEROL BETA CAROTENE CANCER PREVENTION STUDY GROUP. The Effect of Vitamin E and Beta Carotene on the Incidence of Lung Cancer and Other Cancers in Male Smokers. *The New England Journal of Medicine*. 1994, **330** (15): s. 1029 – 1035. Dostupné také z: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199404143301501>.
43. HENNEKENS, CH, BURING, JE, MANSON, J., STAMPFER, M. et al. Lack of Effect of Long-Term Supplementation with Beta Carotene on the Incidence of

Malignant Neoplasms and Cardiovascular Disease. *The New England Journal of Medicine*. 1996, **334** (18): s. 1145-1149. Dostupné také z:

<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199605023341801>.

44. OMENN, GS, GOODMAN GE, THORNQUIST, MD, BALMES J. Effects of a Combination of Beta Carotene and Vitamin A on Lung Cancer and Cardiovascular Disease. *The New England Journal of Medicine*. 1996, **334** (18), s. 1150-1155.

Dostupné také z:

<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199605023341802#t=articleTop>.

45. SEDLÁČEK, P., LANGMAJEROVÁ, J., ZLOCH, Z. Aktuální poznatky o významu antioxidantů ve výživě. *Výživa a potraviny*. 2013, **68** (5), s. 130 – 132.
46. ANONYM. Není šťáva jako šťáva. *Stálé zastoupení České republiky při Evropské unii. Ministerstvo zahraničních věcí České republiky*. [online]. Dec 06, 2011 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z:
http://www.mzv.cz/representation_brussels/cz/udalosti_a_media/neni_stava_jako_stava.html.
47. Vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1997, částka 111, s. 6834 - 6854. Dostupný také z: http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=335/1997&typeLaw=zakon&what=Cislo_zakona_smlouvy.
48. Vyhláška č. 330/2013 Sb., kterou se mění vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí, ve znění pozdějších předpisů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2013, částka 128, s. 5928 - 5934. Dostupný také z:

- http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=330/2013&typeLaw=zakon&what=Cislo_zakona_smlouvy.
49. Směrnice rady 2001/112/ES ze dne 20. prosince 2001 o ovocných šťávách a některých podobných produktech určených k lidské spotřebě. *EUR-Lex. Přístup k právu Evropské unie* [online]. Jan 12, 2002 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:03:34:32001L0112:CS:PDF>.
 50. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2012/12/EU ze dne 19. dubna 2012, kterou se mění směrnice Rady 2001/112/ES o ovocných šťávách a některých podobných produktech určených k lidské spotřebě. *EUR-Lex. Přístup k právu Evropské unie* [online]. Jan 12, 2002 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:115:0001:0011:CS:PDF>
 51. DOBIÁŠ, J. Technologie zpracování ovoce a zeleniny I. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Ústav konzervace potravin a technologie masa* [online]. Jan, 2004. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_1.pdf.
 52. KADLEC, P., MELZOCH, K., VOLDŘICH, M. et al. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?* 1. vydání. Ostrava: KEY Publishing 2009. 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
 53. DOBIÁŠ, J. Technologie zpracování ovoce a zeleniny II. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Ústav konzervace potravin a technologie masa* [online]. Jan, 2004. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_2.pdf.
 54. KADLEC, P., MELZOCH, K., VOLDŘICH, M. et al. *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výroby*. 1. vydání. Ostrava: KEY Publishing 2012. ISBN 978-80-7418-086-6.
 55. ANONYM. Co jsou to ovocné koncentráty? *Frukolis a.s.* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.frukolis.cz/ovocne-koncentraty.html>

56. ANONYM. Principy konzervace potravin. Konzervace vysokým tlakem. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. Jan, 2014. [cit. 2014-02-25].
Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/KP/konzervace.swf.
57. HOUŠKA, M. a kol. Paskalizace - nová technologie ošetření čerstvých potravin vysokým tlakem. *Paskalizace.cz* [online]. Jun 2013. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.paskalizace.cz/>.
58. DOHNALOVÁ, L. Paskalizace. *Život s dietou – pomocník ve světě potravinových diet* [online]. Nov 19, 2013. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.zivotsdietou.cz/clanky/paskalizace>.
59. ANONYM. Ugo - 100% šťáva z ovoce a zeleniny. *Ugo.cz* [online]. 2014 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.ugo.cz/>.
60. PATTERSON, MF. Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*. 2005, **98** (6), s. 1400 – 1409. Dostupné také z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2005.02564.x/pdf>.
61. CONSIDINE, KM, KELLY, AL, FITZGERALD, GF, HILL, C., SLEATOR, RD. High-pressure processing – effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiology Letter*. 2008, **281** (1), s. 1 – 9. Dostupné také z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6968.2008.01084.x/full>.
62. BULL, MK, ZERDIN, K., HOWE, E., GOICOECHEA, D., PARAMANANDHAN, P., STOCKMAN, R. et al. The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2004, **5** (1), s. 135 – 149.
63. MCINERNEY, JK, SECCAFIEN, CA, STEWART, CM, BIRD, AR. Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2007, **8** (4), s. 543 – 548.
64. PATRAS, A., BRUNTON NP, DA PIEVE, S., BUTLER, F. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2009, **10** (3): s. 308–313.

65. ANONYM. Výrobky z kategorie zeleninové šťávy REFIT pro gastro. *Beskyd Fryčovice, a.s.* [online]. 2014 [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.beskyd.cz/vyrobky/44-zeleninove-stavy-refit.html>.
66. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, ME., BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 1995, **28** (1), s. 25–30.
67. MRÁZOVÁ, E. *Stanovení fenolických látek a antioxidační aktivity u cereálií*. Zlín, 2011. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati Zlín, fakulta technologická.
68. MAREŠOVÁ, P. *Stanovení flavonoidů v obilovinách spektrofotometricky*. Zlín, 2013. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati Zlín, fakulta technologická.
69. HOLASOVÁ, M., FIEDLEROVÁ, V. Porovnání metod stanovení antioxidační aktivity v ovocných a zeleninových šťávách. *Chemické listy*. 2011, **105** (10), s. 766 - 772. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_10_766-772.pdf.
70. PATRAS, A., BRUNTON, N., DA PIEVE, S., BUTLER, F., DOWNEY, G. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2009, **10** (1), s. 16 – 22.
71. CHIPURURA, B., MUCHUWETI, M., MANDITSERAA, F. Effects of Thermal Treatment on the Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Vegetables. *Asian Journal of Clinical Nutrition*. 2010, **2** (3), s. 93 – 100. Dostupné také z: <http://scialert.net/qredirect.php?doi=ajcn.2010.93.100&linkid=pdf>.
72. PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, **98** (4), s. 174 – 179. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf.
73. SOCHOR, J., ŠOBROVÁ, P., ZÍTKA, O. et al. *Screeningová metodika pro stanovení antioxidační aktivity u meruněk*. 1. vydání. Brno: Mendelova univerzita v Brně 2011. 36 s. ISBN 978-80-7375-575-1. Dostupné také z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/data/pub/Antioxidacni%20aktivita.pdf.
74. ROP, O., POSOLDA, M., MLČEK, J., ŘEZNÍČEK, V., SOCHOR, J., ADAM, V. et al. Qualities of Native Apple Cultivar Juices Characteristic of Central Europe. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2012, **40** (1), s. 222 – 228.

Dostupné také z:

<http://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/7333/6832>

75. MITCHELL, AE, CHASSY, AW. Antioxidants and the Nutritional Quality of Organic Agriculture. *The Mitchell Lab – Phytochemicals & Health – Beyond Antioxidants* [online]. Oct, 18, 2011. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://mitchell.ucdavis.edu/Is%20Organic%20Better.pdf>
76. CIEŚLIK, E., GRĘDA, A., ADAMUS, W. Contents of Polyphenols in Fruit and Vegetables. *Food Chemistry*. 2006, **94** (1), s. 135 – 142.
77. MÉLO EA, DE LIMA VLAG, MACIEL MIS. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2006, **9** (2), s. 89 – 94. Dostupné také z: <http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/html/busca/PDF/v9n2236a.pdf>.
78. HARNLY, JM, DOHERTY, RF, BEECHER GR, HOLDEN, JM et al. Flavonoid Content of U.S. Fruits, Vegetables, and Nuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54** (26), s. 9966 – 9977. Dostupné také z: http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12354500/Articles/JAFC54_9966-9977Flavonoid.pdf.
79. MARINOVA, D., RIBAROVA, F., ATANASSOVA, M. Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 2005, **40** (3), s. 255 – 260. Dostupné také z: <http://www.uctm.edu/journal/j2005-3/Marinova.pdf>.
80. CHEN, F., MA, S., XU, Y., MA, Y. Effects of High Pressure Processing on Total Phenolic, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Soymilk. *Soybean Science*. 2011, **30** (2). Dostupné také z: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTtotal-DDKX201102030.htm.
81. DE ANCOS, B., GONZALEZ, E. CANO, MP. Effect of high-pressure treatment on the carotenoid composition and the radical scavenging activity of persimmon fruit purees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, **48** (8), s. 3542 – 3548.
82. ANONYM. Ovoce a ovocné šťávy - výživové hodnoty. *Celý svět* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.celysvet.cz/recepty-sekce-potraviny-ovoce-a-ovocne-stavy>.

83. ANONYM. Apples, raw, with skin [Includes USDA commodity food A343]. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1809/2>.
84. ANONYM. Lemon juice, raw. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1938/2>.
85. ANONYM. Oranges, raw, all commercial varieties. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1966/2>.
86. ANONYM. Zelenina - výživové hodnoty. *Celý svět* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://www.celysvet.cz/recepty-sekce-potraviny-zelenina>.
87. ANONYM. Cabbage, raw. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2371/2>.
88. ANONYM. Broccoli, raw. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2356/2>.
89. ANONYM. Carrots, raw [Includes USDA commodity food A099]. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2383/2>.
90. ANONYM. Beets, raw. *Nutrition Data – know what you eat* [online]. 2014. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z: <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2348/2>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CFU - Colony-forming Unit

GSH - Glutathion

GSSH - Oxidovaný glutathion

HPP - High Pressure Processing

KVO - Kardiovaskulární onemocnění

LDL - Lipoproteiny o nízké hustotě

NADPH - Nikotinamidadeninukleotidfosfát

RNS - Reactive Nitrogen Species

ROS - Reactive Oxygen Species

VÚPP - Výzkumný ústav potravinářský Praha

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1 - Schéma paskalizace
- Obr. 2 - Antioxidační aktivita (metoda DPPH)
- Obr. 3 - Antioxidační aktivita (metoda ABTS)
- Obr. 4 - Porovnání výsledků metod DPPH a ABTS
- Obr. 5 - Celkový obsah polyfenolů
- Obr. 6 - Celkový obsah flavonoidů
- Obr. 7 - Stanovení úbytkové aktivity radikálů OH^\bullet
- Obr. 8 - Stanovení radikálů NO^\bullet

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 - Přehled reaktivních forem kyslíku

Tab. 2 - Přehled reaktivních forem dusíku

Tab. 3 - Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Tab. 4 - Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Tab. 5 - Stanovení celkových polyfenolů

Tab. 6 - Stanovení celkových flavonoidů

Tab. 7 - Stanovení radikálů OH^\bullet

Tab. 8 - Stanovení radikálů NO^\bullet

Tab. 9 - Porovnání výsledků metod DPPH a ABTS

SEZNAM PŘÍLOH

- I. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – jablka
- II. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – citron
- III. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – pomeranč
- IV. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – zelí
- V. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – brokolice
- VI. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – mrkev
- VII. Kalorické, nutriční hodnoty a živiny potraviny – červená řepa

PŘÍLOHA P I: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – JABLKO [82, 83]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	85.56 g	
Energetická hodnota	52 kcal	2.6 %
Energetická hodnota	218 kJ	0.0 %
Bílkoviny	0.26 g	0.6 %
Tuk	0.17 g	0.2 %
Minerální soli	0.19 g	3.2 %
Sacharidy	13.81 g	6.0 %
Vláknina	2.4 g	10.0 %
Cukr	10.39 g	11.5 %
Vápník	6 mg	0.6 %
Železo	0.12 mg	0.7 %
Hořčík	5 mg	1.3 %
Fosfor	11 mg	1.1 %
Draslík	107 mg	2.3 %
Sodík	1 mg	0.0 %
Zinek	0.04 mg	0.3 %
Měď	0.027 mg	1.4 %
Mangan	0.035 mg	1.8 %
Vitamin C	4.6 mg	7.7 %
Vitamin B1 (tiamin)	0.017 mg	1.1 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0.026 mg	1.5 %
Vitamin B3 (niacin)	0.091 mg	0.5 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0.061 mg	0.6 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0.041 mg	2.1 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	3 µg	0.8 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	3 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	3 µg	
Choline	3.4 mg	
Vitamin A	54 MJ	1.1 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	3 µg	1.2 %
Beta-karoten	27 µg	
Beta-cryptoxanthin	11 µg	
Lutein + zeaxanthin	29 µg	
Vitamin E (alfa-tokoferol)	0.18 mg	1.6 %
Vitamin K (fylochinon)	2.2 µg	2.8 %
Nasyčené mastné kyseliny	0.028 g	0.1 %
Mononenasycené mastné kyseliny	0.007 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0.051 g	
Poměrná hmotnost	125 g šálek (250 ml) čtvrtky	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P II: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – CITRON [82, 84]

Parametr	na 100 g	DDM (100 g)
Voda	88,98 g	
Energetická hodnota	29 kcal	1,5 %
Energetická hodnota	122 kJ	0,0 %
Bílkoviny	1,1 g	2,4 %
Tuk	0,3 g	0,4 %
Minerální soli	0,3 g	5,0 %
Sacharidy	9,32 g	4,1 %
Vláknina	2,8 g	11,7 %
Cukr	2,5 g	2,8 %
Vápník	26 mg	2,6 %
Železo	0,6 mg	3,3 %
Hořčík	8 mg	2,0 %
Fosfor	16 mg	1,6 %
Draslík	138 mg	2,9 %
Sodík	2 mg	0,1 %
Zinek	0,06 mg	0,4 %
Měď	0,037 mg	1,9 %
Mangan	0,03 mg	1,5 %
Selen	0,4 µg	0,6 %
Vitamin C	53 mg	88,3 %
Vitamin B1 (tiamin)	0,04 mg	2,7 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0,02 mg	1,2 %
Vitamin B3 (niacin)	0,1 mg	0,5 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0,19 mg	1,9 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0,08 mg	4,0 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	11 µg	2,8 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	11 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	11 µg	
Choline	5,1 mg	
Vitamin A	22 MJ	0,4 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	1 µg	0,4 %
Alfa-karoten	1 µg	
Beta-karoten	3 µg	
Beta-cryptoxanthin	20 µg	
Lutein + zeaxanthin	11 µg	
Vitamin E (alfa-tokoferol)	0,15 mg	1,3 %
Nasyčené mastné kyseliny	0,039 g	0,2 %
Mononenasycené mastné kyseliny	0,011 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0,089 g	
Poměrná hmotnost	212 g šálek (250ml) plátky	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P III: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – POMERANČ [82, 85]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	86.75 g	
Energetická hodnota	47 kcal	2.4 %
Energetická hodnota	197 kJ	0.0 %
Bílkoviny	0.94 g	2.1 %
Tuk	0.12 g	0.2 %
Minerální soli	0.44 g	7.3 %
Sacharidy	11.75 g	5.1 %
Vláknina	2.4 g	10.0 %
Cukr	9.35 g	10.4 %
Vápník	40 mg	4.0 %
Železo	0.1 mg	0.6 %
Hořčík	10 mg	2.5 %
Fosfor	14 mg	1.4 %
Draslík	181 mg	3.9 %
Zinek	0.07 mg	0.5 %
Měď	0.045 mg	2.3 %
Mangan	0.025 mg	1.3 %
Selen	0.5 µg	0.7 %
Vitamin C	53.2 mg	88.7 %
Vitamin B1 (tiamin)	0.087 mg	5.8 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0.04 mg	2.4 %
Vitamin B3 (niacin)	0.282 mg	1.4 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0.25 mg	2.5 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0.06 mg	3.0 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	30 µg	7.5 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	30 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	30 µg	
Choline	8.4 mg	
Vitamin A	225 MJ	4.5 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	11 µg	4.4 %
Alfa-karoten	11 µg	
Beta-karoten	71 µg	
Beta-cryptoxanthin	116 µg	
Lutein + zeaxanthin	129 µg	
Vitamin E (alfa-tokoferol)	0.18 mg	1.6 %
Nasyčené mastné kyseliny	0.015 g	0.1 %
Mononenasyčené mastné kyseliny	0.023 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0.025 g	
Poměrná hmotnost	180 g šálek (250ml) plátky	

MJ

(IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P IV: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – ZELÍ [86, 87]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	92,52 g	
Energetická hodnota	19 kcal	1,0 %
Energetická hodnota	80 kJ	0,0 %
Bílkoviny	0,91 g	2,0 %
Tuk	0,14 g	0,2 %
Minerální soli	2,15 g	35,8 %
Sacharidy	4,28 g	1,9 %
Vláknina	2,9 g	12,1 %
Cukr	1,78 g	2,0 %
Vápník	30 mg	3,0 %
Železo	1,47 mg	8,2 %
Hořčík	13 mg	3,3 %
Fosfor	20 mg	2,0 %
Draslík	170 mg	3,6 %
Sodík	661 mg	27,5 %
Zinek	0,19 mg	1,3 %
Měď	0,096 mg	4,8 %
Mangan	0,151 mg	7,6 %
Selen	0,6 µg	0,9 %
Vitamin C	14,7 mg	24,5 %
Vitamin B1 (tiamin)	0,021 mg	1,4 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0,022 mg	1,3 %
Vitamin B3 (niacin)	0,143 mg	0,7 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0,093 mg	0,9 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0,13 mg	6,5 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	24 µg	6,0 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	24 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	24 µg	
Choline	10,4 mg	
Vitamin A	18 MJ	0,4 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	1 µg	0,4 %
Alfa-karoten	5 µg	
Beta-karoten	8 µg	
Lutein + zeaxanthin	295 µg	
Vitamin E (alfa-tokoferol)	0,14 mg	1,2 %
Vitamin K (fylochinon)	13 µg	16,3 %
Nasyčené mastné kyseliny	0,034 g	0,2 %
Mononenasyčené mastné kyseliny	0,013 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0,067 g	
Poměrná hmotnost	142 g šálek (250ml)	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P V: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – BROKOLICE [86, 88]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	90.69 g	
Energetická hodnota	28 kcal	1.4 %
Energetická hodnota	118 kJ	0.0 %
Bílkoviny	2.98 g	6.6 %
Tuk	0.35 g	0.5 %
Minerální soli	0.92 g	15.3 %
Sacharidy	5.24 g	2.3 %
Vápník	48 mg	4.8 %
Železo	0.88 mg	4.9 %
Hořčík	25 mg	6.3 %
Fosfor	66 mg	6.6 %
Draslík	325 mg	6.9 %
Sodík	27 mg	1.1 %
Zinek	0.4 mg	2.7 %
Měď	0.045 mg	2.3 %
Mangan	0.229 mg	11.5 %
Selen	3 µg	4.3 %
Vitamin C	93.2 mg	155.3 %
Vitamin B1 (tiamin)	0.065 mg	4.3 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0.119 mg	7.0 %
Vitamin B3 (niacin)	0.638 mg	3.2 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0.535 mg	5.4 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0.159 mg	8.0 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	71 µg	17.8 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	71 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	71 µg	
Vitamin A	3000 MJ	60.0 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	150 µg	60.2 %
Nasyčené mastné kyseliny	0.054 g	0.3 %
Mononenasyčené mastné kyseliny	0.024 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0.167 g	
Poměrná hmotnost	71 g šálek (250ml)	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P VI: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – MRKEV [86, 89]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	88,29 g	
Energetická hodnota	41 kcal	2,1 %
Energetická hodnota	172 kJ	0,0 %
Bílkoviny	0,93 g	2,1 %
Tuk	0,24 g	0,3 %
Minerální soli	0,97 g	16,2 %
Sacharidy	9,58 g	4,2 %
Vláknina	2,8 g	11,7 %
Cukr	4,74 g	5,3 %
Vápník	33 mg	3,3 %
Železo	0,3 mg	1,7 %
Hořčík	12 mg	3,0 %
Fosfor	35 mg	3,5 %
Draslík	320 mg	6,8 %
Sodík	69 mg	2,9 %
Zinek	0,24 mg	1,6 %
Měď	0,045 mg	2,3 %
Mangan	0,143 mg	7,2 %
Selen	0,1 µg	0,1 %
Vitamin C	5,9 mg	9,8 %
Vitamin B1 (tiamin)	0,066 mg	4,4 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0,058 mg	3,4 %
Vitamin B3 (niacin)	0,983 mg	4,9 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0,273 mg	2,7 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0,138 mg	6,9 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	19 µg	4,8 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	19 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	19 µg	
Choline	8,8 mg	
Vitamin A	16706 MJ	334,1 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	835 µg	335,3 %
Alfa- karoten	3477 µg	
Beta- karoten	8285 µg	
Lycopene (červená carotenoid)	1 µg	
Lutein + zeaxanthin	256 µg	
Vitamin E (alfa- tokoferol)	0,66 mg	5,7 %
Vitamin K (fylochinon)	13,2 µg	16,5 %
Nasyčené mastné kyseliny	0,037 g	0,2 %
Mononenasyčené mastné kyseliny	0,014 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0,117 g	
Poměrná hmotnost	128 g šálek (250ml) nasekané	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)

PŘÍLOHA P VII: KALORICKÉ, NUTRIČNÍ HODNOTY A ŽIVINY POTRAVINY – ČERVENÁ ŘEPA [86, 90]

Parametr	na 100g	DDM (100 g)
Voda	81.88 g	
Energetická hodnota	65 kcal	3.3 %
Energetická hodnota	273 kJ	0.0 %
Bílkoviny	0.8 g	1.8 %
Tuk	0.08 g	0.1 %
Minerální soli	0.96 g	16.0 %
Sacharidy	16.28 g	7.1 %
Vláknina	2.6 g	10.8 %
Cukr	13.59 g	15.1 %
Vápník	11 mg	1.1 %
Železo	0.41 mg	2.3 %
Hořčík	15 mg	3.8 %
Fosfor	17 mg	1.7 %
Draslík	148 mg	3.1 %
Sodík	264 mg	11.0 %
Zinek	0.26 mg	1.7 %
Měď	0.116 mg	5.8 %
Mangan	0.22 mg	11.0 %
Selen	1 µg	1.4 %
Vitamin C	2.3 mg	3.8 %
Vitamin B1 (tiamin)	0.01 mg	0.7 %
Vitamin B2 (riboflavin)	0.048 mg	2.8 %
Vitamin B3 (niacin)	0.251 mg	1.3 %
Vitamin B5 (kyselina pantotenová)	0.137 mg	1.4 %
Vitamin B6 (pyridoxal)	0.05 mg	2.5 %
Vitamin B9 (kyselina listová, folát)	27 µg	6.8 %
Vitamin B9 (potravinářský folát)	27 µg	
Vitamin B9 (stravovací ekvivalent folátu)	27 µg	
Choline	15 mg	
Vitamin A	49 MJ	1.0 %
Vitamin A (ekvivalent retinolu)	2 µg	0.8 %
Beta- karoten	29 µg	
Vitamin E (alfa- tokoferol)	0.06 mg	0.5 %
Vitamin K (fylochinon)	0.3 µg	0.4 %
Nasyčené mastné kyseliny	0.013 g	0.1 %
Mononenasycené mastné kyseliny	0.016 g	
Polynenasycené mastné kyseliny	0.029 g	
Poměrná hmotnost	227 g šálek (250ml) nařezané	

MJ (IU) - mezinárodní jednotka; µg (mikrogram); mg (miligram)

DDM (GDA) - doporučené denní množství energie a živin pro průměrného člověka (denní příjem 2000 kcal)