

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOGNOSIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOGNOSIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vplyv pozberovej úpravy na kvalitu drogy *Sambuci fructus*

Vypracovala: Lenka Brňáková

Vedúci diplomovej práce: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

„Prehlasujem, že táto práca je mojím pôvodným, autorským dielom. Všetky literárne zdroje, z ktorých som pri spracovaní čerpala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci sú riadne citované. Práca nebola použitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.“

V Hradci Králové dňa

.....

Lenka Brňáková

PodĎakovanie

Ďakujem Doc. RNDr. Jiřine Spilkovej, CSc. za odborné vedenie počas písania práce, poskytovanie odborných rád, motiváciu a podporu.

ABSTRAKT

Baza čierna je obľúbenou a uznávanou rastlinou vďaka priaznivým účinkom na ľudský organizmus. Hlavnými obsahovými látkami sú flavonoidy a antokyány. Predmetom zberu sú jej kvety a plody, ktoré sú k dispozícii len počas sezóny (ako v prípade väčšiny rastlín), preto je dôležité hľadať alternatívne možnosti. Jednou z nich je konzervácia. V súčasnosti je veľa spôsobov pozberovej úpravy, preto je viac možností nájsť optimálny spôsob pre konkrétnu rastlinu.

Diplomová práca sa zameriava na stanovenie obsahu fenolických látok v plodoch bazy čiernej nazbieraných v rôznych lokalitách Hradca Králové a konzervovaných pri teplote laboratórnej, zvýšenej (40°C, 60°C) a zníženej (-18°C). Ďalej sa práca zaoberá stanovením obsahu antokyánov v plodoch 3 roky konzervovaných v mrazničke pri teplote -18°C. Cieľom praktickej časti práce bolo nájsť najlepší spôsob pozberovej úpravy plodov bazy čiernej.

Medzi jednotlivými miestami zberu sa nevyskytol významný rozdiel v obsahu fenolických látok v plodoch. Teplota v priebehu konzervácie mala vplyv na obsahové látky. So zvyšujúcou sa teplotou bol obsah fenolických látok nižší. Pri uchovávaní plodov v mrazničke vyšiel obsah fenolických látok približne rovnaký ako pri laboratórnej teplote. Na uskladnenie plodov v mrazničke počas 3 rokov nemal čas žiaden vplyv na obsah látok.

Kľúčové slová: Sambucus nigra, plody, antokyány, fenolické látky, pozberová úprava

ABSTRACT

Elderberry is very popular plant, that is due to its beneficial effects to human organism very reputable. The main content substances are flavonoids and anthocyanins. Fruits of this flower are available only seasonally (which is usual for most of flowers), so we have to search for alternative solution of getting them. One of these solutions is conservation. Nowadays there are lots of types of postharvest adjustment, so we have more opportunities to find an optimal concept for every one specific plant.

The diploma thesis is focused on assessment of content of phenolic substances harvested in different parts of Hradec Králové. They were conserved at laboratory temperature, elevated (40°C, 60°C) and reduced (-18°C) temperature. Next part of thesis is focused on assessing of the content of anthocyanins in fruits, that had been conserved for 3 years in refrigerator. The theme was finding the best concept of postharvestal adjustment.

Despite to the individual places of harvest, there were not mentionable differences found out in content of phenolic substances in fruits. Main differences in content of substances were caused by different temperature of conservating area. With the upper temperature the content of phenolic substances was lower. Storage in the fridge for 3 years did not have any influence to content of substances.

Key words: *Sambucus nigra*, fruits, anthocyanins, phenolic substances, postharvest adjustment

OBSAH

1	Úvod	1
2	Cieľ	2
3	Teoretická časť	3
3.1	Baza čierna - Výskyt a popis	3
3.2	Zber a úprava bazy čiernej	4
3.3	Účinnok a použitie plodov	4
3.4	Obsahové látky plodov	5
3.5	Pozberové reakcie v rastlinách	9
3.6	Spôsoby pozberovej úpravy rastlín	15
4	Experimentálna časť	24
4.1	Použitý materiál	24
4.2	Prístroje	24
4.3	Použitá chemikálie	24
4.4	Stanovenie celkového obsahu fenolických látok v plodoch	26
4.5	Stanovenie celkového obsahu antokyánov v plodoch	28
4.6	Výsledky	29
4.7	Diskusia	41
5	Záver	44
6	Prehľad použitej literatúry	45

1 ÚVOD

Záujem o liečivé rastliny ako prírodné liečivá má hlboké korene. Dá sa povedať, že liečivé rastliny sprevádzajú človeka od kolísky až po hrob. V minulosti, keď ešte neboli známe antibiotiká a iné lieky a veda nebola na takej úrovni ako dnes, sa ľudia museli spoľahnúť na dary prírody. V prírode nájdeme liek na väčšinu chorôb, je však potreba vedieť kde hľadať. Len keď sa prejdeme popred dom, môžeme hneď zbadáť niekoľko liečivých rastlín.

Pôvodne sa ako forma fytotherapie používali časti čerstvých rastlín. Neskôr sa začali z rastlín pripravovať šťavy, odvary, extrakty a tinktúry. Dodnes sú však najviac používané liečivé, čajové zmesi. V súčasnosti je čoraz populárnejší trend používať liečivé rastliny vďaka obsahu ich účinných látok, minimálnym nežiadúcim účinkom pri správnom používaní a dobrej ekonomickej dostupnosti.

Plody a kvety bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) sú veľmi obľúbeným predmetom zberu pre vysoký obsah telu prospešných látok. Nevýhodou je, podobne ako pri iných rastlinách, že sú k dispozícii len počas určitej sezóny. Preto je dôležité hľadať rôzne možnosti ich ďalšieho spracovania, aby mohli byť dostupné celoročne. Jednou z nich je pozberová úprava plodov. Existuje viacero spôsobov konzervácie plodov, ktoré sú optimálnym riešením pozberovej úpravy jednotlivých rastlín.

Cieľom diplomovej práce bolo nájsť najlepší spôsob pozberovej úpravy plodov bazy čiernej. Plody boli nazbierané v rôznych mestských častiach a v okolí Hradca Králové a boli uchovávané pri laboratórnej teplote a konzervované pri zvýšenej teplote alebo v mrazničke. Práca bola ďalej zameraná na stanovenie obsahu antokyánov v plodoch konzervovaných v mrazničke 3 roky. Hodnotil sa vplyv času na obsahové látky.

Práca sa zaoberá obsahovými látkami bazy čiernej a opisuje ich účinky na organizmus. Skúma pozberové reakcie prebiehajúce v rastlinách s cieľom poukázať na dôležitosť správneho pozberového ošetrovania rastlín. Prináša tiež aktuálne informácie o možnostiach pozberového ošetrovania rastlín, ktoré zvyšujú ich účinnosť a úspešnosť pri liečbe liečivými rastlinami.

2 CIEĽ

Cieľom diplomovej práce bolo stanoviť obsah fenolických látok v plodoch bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) nazbieraných v rôznych lokalitách Hradca Králové a konzervovaných sušením pri teplote miestnosti, zvýšenej teplote alebo zmrazením.

Ďalšou časťou práce bolo stanovenie obsahu antokyánov v plodoch bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) odrôd Samyl, Weihenstephan, Sambu a Allesö uchovávaných v mrazničke 3 roky pri teplote -18°C . Zisťovalo sa, či v plodoch týchto pestovaných odrôd dôjde pri skladovaní v mrazničke pri -18°C ku zmenám v obsahu antokyánov.

3 TEORETICKÁ ČASŤ

3.1 BAZA ČIERNA - VÝSKYT A POPIS



Obr. 1: *Sambucus nigra* L. – baza čierna (foto autorka)

Baza čierna (*Sambucus nigra* L.) patrí do čeľade Adoxaceae (1). Je to ker, vysoký približne 1,5 - 5 m alebo strom, ktorý môže dorásť až do výšky 10 m. Pre svoju nenáročnosť patrí medzi plevelné dreviny. Šíri sa samovoľne, u nás najčastejšie na opustených miestach a okrajoch lesov, v obciach a na sídliskách popri stenách a plotoch, v záhradách, pozdĺž vedení elektrickej siete, popri potokoch, riekach a v okolí zrúcanísk. Dáva prednosť vlhkej, humóznej, na dusík bohatej pôde (2).

Ker je bohato vetvený s dlhými, vodorovnými oddenkami. Mladé vetvy sú zelené až šedo-zelené s početnými tmavými, podlhovastými lenticelami. Staršie vetvy sú šedohnedé s nepravidelne rozbrázdnenou borkou. Dreň je široká, biela až žlto-biela, drevo tvrdé, sfarbené dožltá. Listy sú protistočné, nepárno perovité a ich veľkosť je približne 12 cm. Majú elipsovité alebo vajcovité tvar, po okraji ostro pílkovité a sú pokryté hviezdovitými chlpkami. Palístky sú malé, čiarkovité. Kvetenstvo tvoria ploché, 3 - 5 ramenné vrcholíky. Kvety sú obojpohlavné, päťpočetné so zrastenými obalmi. Kalich je trubkovitý, päťzubý a koruna je lievikovitá, žlto-biela. Plody sú čierne kôstkovice, ľudovo nazývané bezinky, s tmavou dužinou a s tromi semenami (2, 3).

3.2 ZBER A ÚPRAVA BAZY ČIERNEJ

Predmetom zberu je kvet (*Sambuci nigrae flos*) a plod (*Sambuci nigrae fructus*). Kvety sú liekopisnou drogou (4). Zbierajú sa ručne, celé kvetenstvo tesne pred rozkvetom v máji a júni. Sušia sa v tieni alebo najlepšie v sušiarňi pri teplote 35°C. Stopky sa potom odsraňujú na site pri vystieraní kvetov. Droga by mala byť krémovito-žltá, príjemnej vône a sladkej slizovitej chute (3, 5).

Plody, hoci nie sú liekopisnou drogou, sú taktiež vo veľkej obľube. Zbierajú sa v plnej zrelosti, sušia sa čo najrýchlejšie - najčastejšie v sušiarňach a po vysušení sa tiež oddeľujú od stopiek (3, 5).

3.3 ÚČINOK A POUŽITIE PLODOV

Plody bazy čiernej sa používajú pri liečbe zápchy, zvyšujú diurézu. Vynikajú aj potopudným účinkom, preto je ich užívanie vo veľkej obľube pri infekciách horných ciest dýchacích (6). V ľudovom liečiteľstve sa ich účinky osvedčili hlavne pri migrénach, neuralgiách, pri bolestiach trojklaného nervu, chrčtice a kĺbov, kde pôsobia aj protizápalovo (3, 5).

V liečivých dávkach nemajú plody bazy čiernej žiadne vedľajšie účinky. Podávajú sa vo forme nálevov z 2 - 3g drogy trikrát denne. Ich nadmerné užívanie sa ale môže prejaviť toxickými príznakmi spojenými so zvracaním, ktoré spôsobuje kyanovodík, ktorý sa tvorí po hydrolýze kyanogénneho glykozidu sambunigrínu. Vo vyšších dávkach majú plody laxatívne účinky (7).

Plody bazy čiernej sa používajú aj pri výrobe sladkostí a mliekarenských výrobkov. Uplatnenie našli aj v textilnom priemysle ako prírodné farbivo. Šťava z plodov sa používa k dofarbovaniu vína a niektorých potravinárskych výrobkov (2).

Plody bazy sú mierne jedovaté kvôli obsahu sambunigrínu, preto by sa nemali konzumovať surové. Až po zahriatí sa môžu bez problémov použiť (8). Najpoužívanejšie formy sú sirup, lekvár a želé. Známa je aj bazová polievka z plodov, ktorá je vo veľkej obľube v Nemecku. Uplatnenie našli aj pri pečení. Šťava z kôstkovíc je dosť trpká, preto sa často mieša s inými ovocnými šťavami. Plody sa používajú aj na výrobu liehovín. U nás je veľmi obľúbený bazový sirup (9, 10).



Obr. 2: *Plody bazy čiernej* (foto autorka)

3.4 OBSAHOVÉ LÁTKY PLODOV

3.4.1 Flavonoidy

Flavonoidy patria medzi najviac rozšírenú skupinu rastlinných fenolických látok. Jadrom ich štruktúry je chroman, ktorý môže byť na rôznych miestach arylovaný. Najčastejšie sa vyskutujúcou skupinou sú flavany, ktoré majú naviazaný aryl na uhlíku č. 2. Zvlášť významné sú deriváty flavanu - katechinové triesloviny a deriváty 4-oxoflavanu. Líšia sa len počtom a polohou hydroxylových skupín na oboch aromatických kruhoch a napojením cukrov alebo organických kyselín (11).

Plody obsahujú najčastejšie kvercetinové glykozidy, k najdôležitejším patria rutín, izokvercitrín, hyperozid a astragalín (3, 12).

Flavonoidy sa často nazývajú aj bioflavonoidy vďaka ich pôsobeniu na organizmus. Zúčastňujú sa na oxidačno-redukčných reakciách. Majú priaznivý vplyv na permeabilitu membrány a odstraňujú jej lomivosť. Pôsobia antihemoragicky a antiedematózne. Inhibujú hyaluronidázu a bránia šíreniu mikrobiálnych toxínov tkanivami. Majú tiež diuretický účinok, rozširujú cievy a znižujú krvný tlak. S vápenatými iónmi tvoria komplexné soli, vďaka čomu bránia zrážaniu krvi a zadržujú

vápnik v tele. Potencujú účinok vitamínu C. Ďalej podporujú tvorbu a vylučovanie žlče, majú aj spazmolytický účinok. Účinné sú glykozidy aj aglykony (13).

3.4.2 Antokyány

Patria medzi veľmi rozšírené rastlinné farbivá. Sú to deriváty cyanidínu. Najčastejšími sú cyanidín 3-*O*-(2"-*O*-xylozylglukozid)-5-*O*-glukozid, cyanidín 3-*O*-(2"*O*xylozyl-6"-*O*-*Z*-*p*-kumaroylglukozid)-5-*O*-glukozid a cyanidín 3-*O*-(2"-*O*-xylozyl-6"-*O*-*E*-*p*-kumaroylglukozid)-5-*O*-glukozid alebo deriváty cyanidínu obsahujúce xylózu. Hlavným antokyánom plodov bazy čiernej je cyanidín 3-*O*-(2"-*O*-xylozylglukozid), pričom obsahujú len minimálne množstvo cyanidín 3-*O*-(2"-*O*xylozylglukozid)-5-*O*-glukozidu (14).

Antokyány sú zodpovedné za sfarbenie rastlín a ich produktov, vďaka čomu sú schopné prilákať hmyz a zachovať tak rastlinnú produkciu. Pôsobia ako antioxidanty a disponujú aj antimikrobiálnym účinkom, čo im umožňuje ochrániť rastlinu pred patogénmi (15, 16).

3.4.3 Organické kyseliny

V plode bazy sa v najvyššom množstve vyskytuje kyselina jablčná, ďalej sú zastúpené kyselina šikimová, citrónová a fumarová (12).

Bola dokázaná aj prítomnosť kyseliny chlorogenovej, ktorá má v prírode najväčšie zastúpenie (17).

3.4.4 Cukry

Najväčšie zastúpenie má v plodoch bazy čiernej glukóza a fruktóza, vyskytuje sa aj sacharóza. Koncentrácia cukrov sa v plodoch z pestovaných rastlín líši medzi jednotlivými odrodami (12).

3.4.5 Kyanogénne glykozidy

Sú to glykozidy, ktoré za určitých podmienok hydrolýzy odštiepujú kyanovodík. Vznik týchto sekundárnych metabolitov je závislý nielen na biosyntéze, ale aj na prítomnosti degradačných enzýmov. Rastline slúžia ako súčasť obranného mechanizmu a ich toxicita závisí na množstve vyprodukovaného kyanovodíka rastlinou a citlivosti

organizmu voči nemu. V plode bazy čiernej sa z kyanogénných glykozidov v najväčšom zastúpení vyskytuje sambunigrin, ďalej boli nájdené aj prunazín a zierin (18, 19).

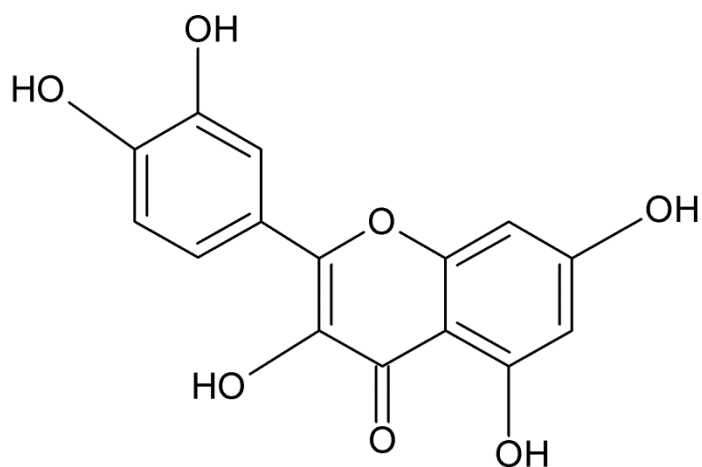
3.4.6 Ďalšie obsahové látky

Plody bazy čiernej obsahujú silicu. Je maslovej konzistencie s vysokým obsahom voľných mastných kyselín, z toho až 66 % v zastúpení kyselinou palmitovou a n-alkánmi s dlhými reťazcami o počte uhlíkov C_{14} až C_{31} (3).

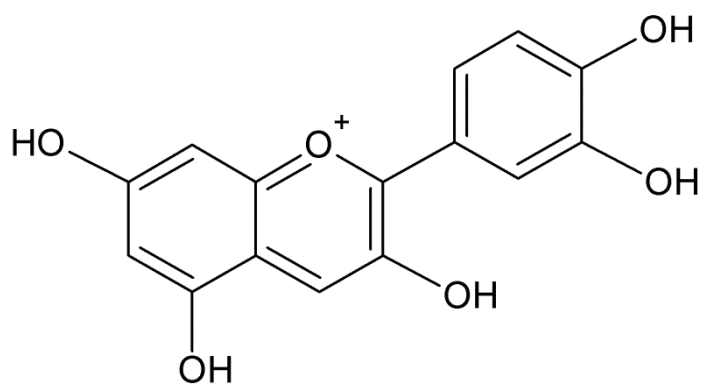
Plody ďalej obsahujú vitamín B_2 , ktorý má v 100 g čerstvých plodov zastúpenie okolo 65 mg, a vitamín C, ktorého zastúpenie je asi 18 mg na 100 g čerstvých plodov. Obsahujú aj kyselinu listovú, ktorej zastúpenie sa pohybuje okolo 17 mg v 100 g čerstvých plodov (20).

Plody obsahujú aj aminokyseliny a minerálne prvky, medzi ktoré patria draslík, vápnik a fosfor (21).

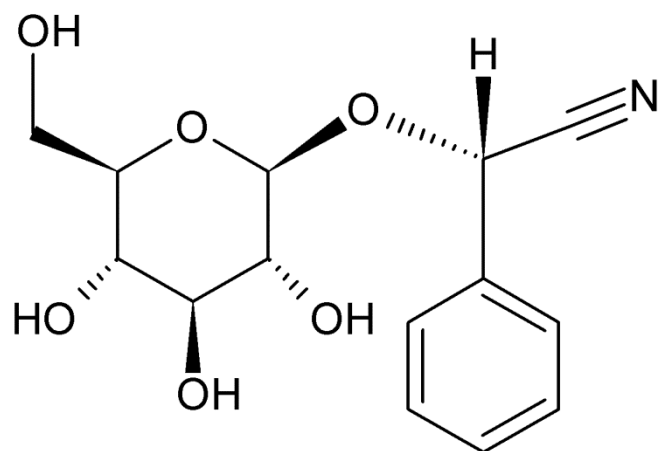
3.4.7 Chemická štruktúra hlavných obsahových látok plodov



Obr. 3: *Kvercetin*



Obr. 4: *Cyanidín*



Obr. 5: *Sambunigrín*

3.5 POZBEROVÉ REAKCIE V RASTLINÁCH

3.5.1 Zmena proteínov

Rastliny majú vyvinutú schopnosť odpovedať na stres. Dysfunkcia proteínov je hlavným rysom stresu, preto cieľom je zachovanie ich funkčnosti a prevencia ich agregácie (22).

Najviac informácií o reakcii rastlín na stres sa dozvieme z prepisu génov. Element teplotného šoku (HSE, heat shock element), vysoko selektívna oblasť DNA, sa naviaže na špecifický transkripčný faktor a aktivuje sa prepis génov kódujúcich bielkoviny teplotného šoku (HSP, heat shock proteins). V pokojovej bunke je transkripčný faktor viazaný na HSP70 (bielkovina teplotného šoku o molekulárnej hmotnosti 70). Pri stresovej reakcii sa zvýši počet poškodených alebo denaturovaných bielkovín, ktoré súťažia o väzbu na HSP70. Transkripčný faktor, ktorý sa nenaviaže, vstúpi do jadra, kde aktivuje prepis génov teplotného šoku. Keď sa podarí vyviazať poškodené proteíny, koncentrácia transkripčného faktora sa spätnou väzbou opäť zníži. Bielkoviny teplotného šoku sú skupina proteínov, ktoré sa delia podľa molekulovej hmotnosti (23).

Nachádzajú sa v cytoplazme, jadre, dokonca aj v iných častiach, ako sú mitochondrie, chloroplasty a aj endoplazmatické retikulum. Ich funkcia v bunke je mnohostranná a počet sa každý mesiac mení. Dohliadajú na správne priestorové usporiadanie proteínov, kde fungujú ako chaperony. Pri zvýšenej vonkajšej záťaži pomáhajú polypeptidom pri prestupe cez membrány a vstupe do bunkových organel, pri ochrane pred poškodením (22).

Pomáhať pri stresovej reakcii však nie je ich jediná funkcia. Zapájajú sa aj do reakcií prebiehajúcich za nestresových podmienok. Majú vplyv na výstavbu a funkciu pletív. Udržujú integritu vnútorného prostredia, bránia narušeniu bunkových funkcií a udržiavajú funkčnosť organizmu. Jednou z ich hlavných funkcií je odstraňovať poškodené alebo nesprávne zložené proteínové molekuly. Ďalšou, nemenej významnou funkciou je spolupráca s antioxidantným systémom rastlín. Pôsobia synergickým účinkom pri ochrane pred oxidačným stresom a zvyčajne aj druhotným stresom indukovaným rôznymi abiotickými aj biotickými primárnymi stresmi. Taktiež špecifické transkripčné faktory pomáhajú pri ochrannej reakcii proti stresu. Sú hlavnými senzormi H_2O_2 v rastlinách, takže nemajú význam len v regulácii expície génov kódujúcich

antioxidačné proteíny, ale sú schopné zvyšovať aj rezistenciu proti oxidačnému stresu (22).

Stresové proteíny boli nájdené aj v niektorých zásobných orgánoch rastlín. V jednoročných vetvičkách javora mliečneho (*Acer platanoides* L.) bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) a liane podražca veľkolistého (*Aristolochia macrophylla* Lamk.) bola zistená prítomnosť HPS len v zimných mesiacoch. V jarných mesiacoch sa tieto proteíny už nevyskytovali. Okrem toho bola akumulácia HPS dokázaná v hľuzách aj v cibuli cesnaku cibuľového (*Allium cepa* L.), šafránu bielokvetého (*Crocus albiflorus* L.), hyacintu východného (*Hyacinthus orientalis* L.), narcisu žltého (*Narcissus pseudonarcissus* L.), tulipánu záhradného (*Tulipa gesneriana* L.), ľuľku zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). Boli zaznamenané aj v semenách tabaku virginského (*Nicotiana tabacum* L.) v priebehu zrenia a klíčenia. V priebehu klíčenia semien HSP zmizli paralelne so zásobnými proteínmi. Okrem toho v embryách transgenných rastlín tabaku, ktoré neobsahujú žiadne proteínové orgány, neboli nájdené žiadne HSP, z čoho môžeme usudzovať, že výskyt HSP v trvalých zásobných orgánoch je spojený s prítomnosťou zásobných proteínov. Rastlinné stresové proteíny boli nájdené aj v jednotlivých vývojových fázach, ako je embryogenéza, mikrosporogenéza a zrenie ovocia (24).

Okrem oxidačného stresu môže tvorbu HSP spôsobiť aj zrenie ovocia alebo nízka teplota, ktorá je nežiaduca pri zrení tropického a subtropického ovocia. Avšak nízka teplota skladovania je v súčasnosti často používaná metóda pre predlžovanie doby uskladnenia a udržanie požadovanej kvality skladovaných plodov ovocia a zeleniny. Pri citlivých rastlinných druhoch treba dávať pozor na hranicu poškodenia mrazom. Výskumné tímy sa v súčasnosti zaoberajú navrhovaním stratégií, ktoré predchádzajú alebo znižujú dopad poranenia citlivých rastlín mrazom (22).

3.5.2 Zmena stavby bunkovej membrány

Medzi dôsledky poškodenia mrazom patrí porušenie integrity bunkovej membrány. Dochádza k zmene konformácie, čo má za následok zmenu polopriepustnosti bunkovej membrány. Nastáva peroxidácia mastných kyselín, degradácia fosfolipidov a galaktopeptidov, dochádza k zvýšeniu pomeru sterolov ku fosfolipidom, čo môže viesť k zníženiu membránovej tekutosti a výkonnosti. Ak je pletivo, orgán alebo celá rastlina vystavená príliš dlho škodlivým teplotám, bunková membrána môže prasknúť,

čo spôsobí únik intracelulárnej vody, iónov a metabolitov. Únik elektrolytu, malonyldialdehydu (MDA, malonyl-dialdehyde), sú dobre známe fyziologické markery straty semipermeability membrány (22).

Tekutosť membrány má schopnosť regulovať integritu membrány, transmembránový transport a semipermeabilitu. Zvýšenie tekutosti membrány znižuje tendenciu fázového prechodu z pružnej, kvapalno-kryštalickej fázy na tuhú, pevnú-gelovitú, čo vedie k zlepšeniu odolnosti proti poškodeniu mrazom (22).

Ochrana proti oxidačným stresom sa uskutočňuje dvomi cestami. Prvou je aktivácia expresie génov kódujúcich proteíny, ktorých úlohou je predchádzať akumulácii reaktívnych foriem kyslíka (ROS, reactive oxygen species). Alternatívna oxidáza je súčasťou elektrónového transportného reťazca v mitochondriách. Mechanizmom účinku je zabrániť nadmernému zníženiu ubichinolu a v dôsledku toho sa vyhnúť akumulácii ROS. Druhou možnosťou je expresia génov ROS lapačov, ako sú antioxidantné enzýmy (22).

3.5.3 Degradácia vybraných obsahových látok

3.5.3.1 Antokyány

Antokyány sú antokyanidíny s glykozidicky naviazaným cukrom, najčastejšie cez hydroxylovú skupinu na treťom uhlíku. Zmeny v chemickej štruktúre sú spôsobené hlavne rozdielmi v počte hydroxylových skupín v molekule, kvôli stupňu metylácie týchto hydroxylových skupín, povahe a množstvu cukrových častí pripojených na fenolické molekuly a do istej miery na počte a povahe alifatických alebo aromatických skupín s ňou súvisiacich. Skupiny cukrov sú najčastejšie pripojené ako 3-monozidy, 3-biozidy, 3-triozidy, 3,5-diglukozidy alebo 3,7-diglukozidy a skladajú sa prevažne z glukózy, galaktózy, rhamnózy a xylózy. Degradácia je primárne spôsobená oxidáciou, štiepením kovalentnej väzby alebo zvýšenou oxidačnou reakciou v dôsledku tepelného spracovania. Tepelná degradácia antokyánov závisí na povahe a miere zahrievania. Obrázok 6 zobrazuje degradáciu antokyánov a tvorbu rôznych medziproduktov. Porozumenie mechanizmu rozkladu je predpokladom pre maximalizáciu nutričnej kvality. Hoci nemáme mnoho poznatkov o degradačných mechanizmoch antokyánov, bolo dokázané, že chemická štruktúra a prítomnosť ďalších organických kyselín majú silný vplyv. Napríklad miera degradácie antokyánov

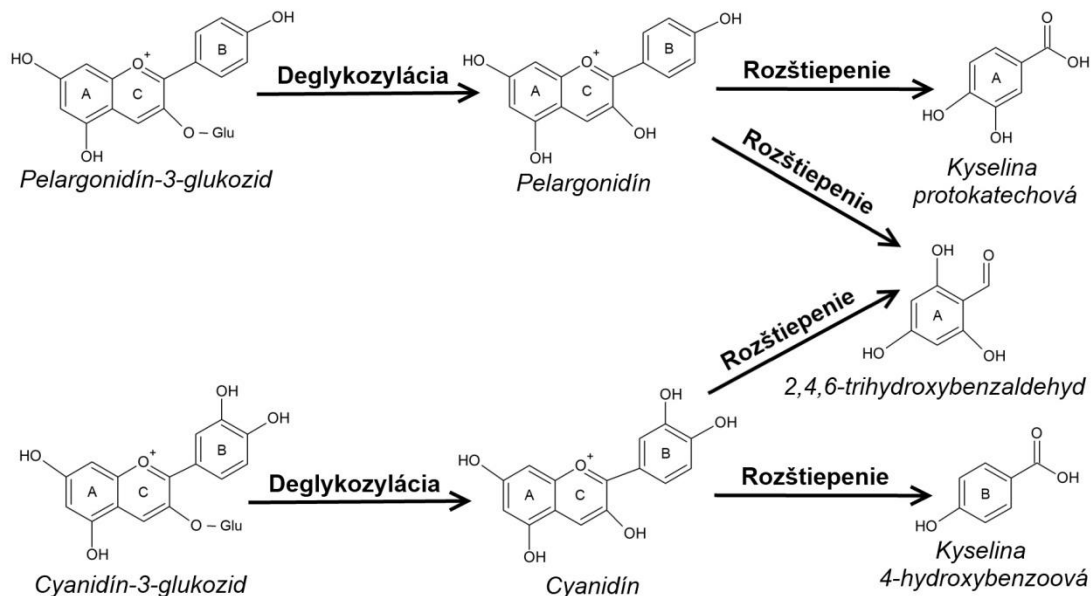
sa zvyšuje počas spracovania a skladovania s rastúcou teplotou. Prvým degradačným krokom je hydrolýza cukrovej zložky a tvorba aglykónu, čo umožňuje vznik cyklických aduktov. Zvýšením teploty sa rozkladá pyryliový kruh a vzniká z neho chalkón, pričom ďalej vznikajú kumarínové glykozidové deriváty so stratou kruhu B. Zistilo sa, že väzba aglykón-cukor je labilnejšia ako ostatné aminoglykozidové väzby pri pH=2-4, avšak pri pH=1 sú všetky glykozidové väzby hydrolýze prístupné. Vysoká teplota v kombinácii s vysokým pH zhoršuje výsledný obsah antokyánov v plodoch (25).

Kyslík je tiež dôležitý v degradačných procesoch antokyánov. Jeho prítomnosť môže urýchliť degradáciu antokyánov buď priamo, prostredníctvom priamych oxidačných mechanizmov, alebo pôsobením oxidačných enzýmov. V prítomnosti kyslíka enzým polyfenoloxidáza katalyzuje oxidáciu kyseliny chlorogenovej na chinón. Chinón reaguje s antokyánmi a tvorí hnedé kondenzačné produkty (25).

Bolo dokázané, že pelargonidín-3-glukozid je degradovaný mechanizmom zahŕňajúcim reakciu medzi chinónom alebo sekundárnymi produktami oxidácie vytvorenými z chinónu a antokyánových pigmentov (25).

Pri degradácii cyanidín-3-glukozidu vzniká kyselina 4-hydroxybenzoová alebo, ako pri pelargonidín-3-glukozide, po hydrolýze dochádza k odštiepeniu kruhu B a následnej degradácii kruhu C za vzniku floroglucinalaldehydu (2,4,6-trihydroxybenzaldehydu). Pri degradácii pelargonidínu vzniká aj protokatechová kyselina. Degradačné produkty sú postupne nahradené bezfarebnými produktami v dôsledku ďalšej oxidačnej degradácie (25).

Súčasnú poznatky dokazujú, že vo všeobecnosti konzervácia za vysokej teploty môže ovplyvniť hladinu antokyánov v plodoch. Dochádza k degradácii antokyánov a k tvorbe polyfenolických rozkladových produktov (25).

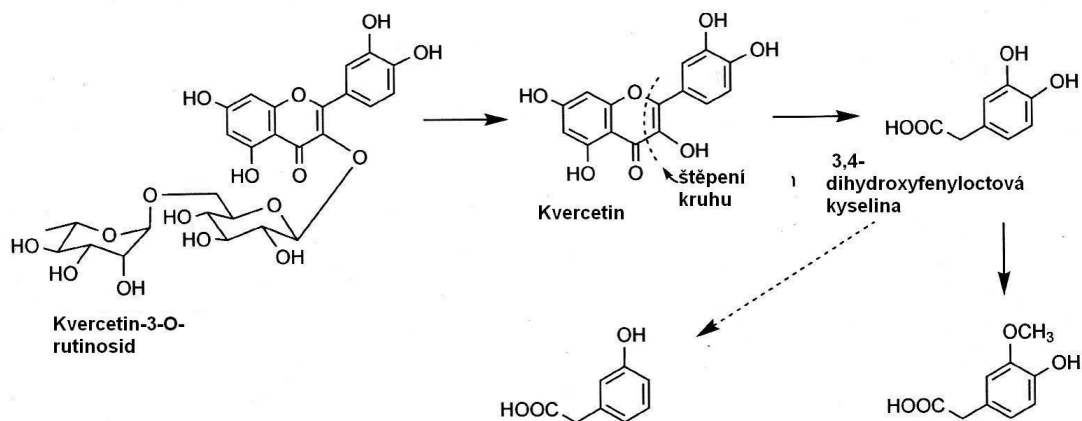


Obr. 6: Reakčná schéma hydrolyzy antokyánov pri vystavení vysokej teplote za vzniku sekundárnych metabolitov

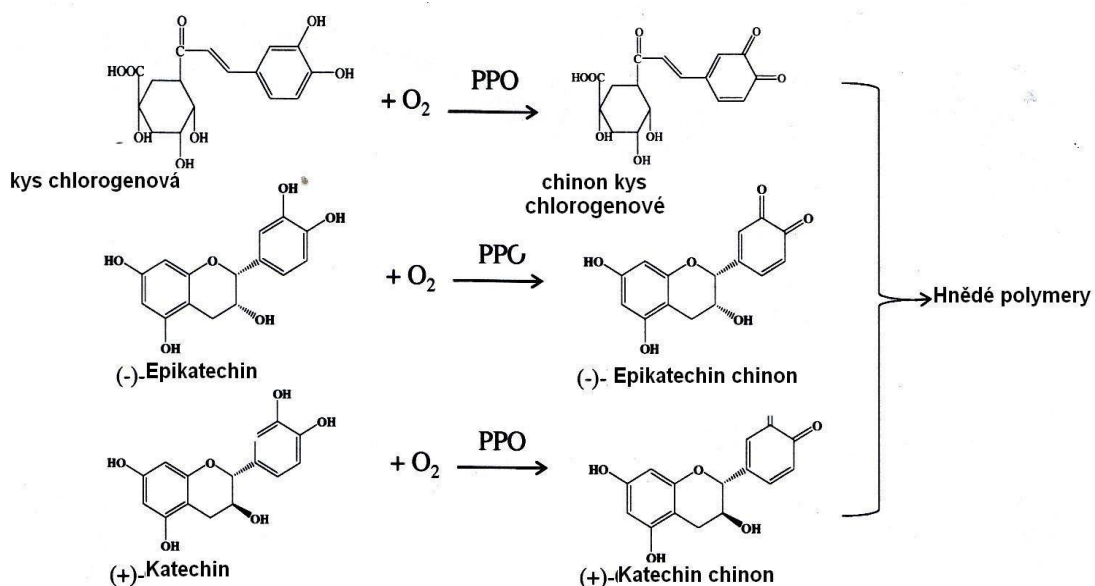
Tieto poznatky potvrdzuje tiež práca Oliveira (26), v ktorej sa autor zaoberá skúmaním obsahu antokyánov a antokyanidínov a zachovaním ich antiradikálovej aktivity u kultivarov *Vaccinium corymbosum* L., cv. Bluecrop, Bluetravel a Ozarkblue pred a po uvarení. Najväčšie zastúpenie mal aglykón malvinidín, potom cyanidín, petunidín a delfinidín. Potvrtilo sa, že so zvyšujúcou sa teplotou sa obsah antokyánov znižoval. Avšak varené plody si zachovali, alebo dokonca mali zvýšenú antiradikálovú aktivitu. Celkové výsledky potvrdzujú, že varené plody môžu slúžiť ako dobrý zdroj bioaktívnych látok (26).

3.5.3.2 Flavonoidy

V prírode sú flavonoidy často viazané na rôzne cukry v procese tvorby flavonoidných glykozidov, najčastejšie ide o glukózu a rhamnózu. Sú sprevádzané zväčša kyselinou hydroxybenzoovou a kyselinou hydroxyškoricovou, ktoré sú v rastlinách vo forme glykozidov. Ďalej sa vyskytuje aj kyselina gallová a kyselina ellagová. Podobne ako antokyány, aj flavonoidy s oxidovanou formou kyseliny chlorogenovej vytvárajú hnedé polyméry. Je to znázornené na obr. 8. Pri zahrievaní dochádza tiež k hydrolyze a štiepeniu molekuly, ako je to znázornené na obr. 7 (11). Vznikajú sekundárne metabolity, z ktorých niektoré disponujú zvýšenou antioxidačnou aktivitou (11).



Obr. 7: Reakčná schéma hydrolýzy flavonoidného glykozidu a rozštiepenia zlučiny pri vystavení vysokej teplote za vzniku sekundárnych metabolitov (11)



Obr. 8: Reakčná schéma polymerácie flavonoidov po vystavení účinkom kyslíka a pôsobeníu enzýmov (11)

3.6 SPÔSOBY POZBEROVEJ ÚPRAVY RASTLÍN

3.6.1 Konzervácia sušením

Rôzne výskumné práce spájajú ochranný účinok vysokej teploty s indukciou produkcie HSP. Podporujú presvedčenie, že tepelné spracovanie niektorých plodín podporuje aktiváciu obranných mechanizmov pri zrení ovocia a posilnenie génovej expzie HSP. Pôsobenie teplým vzduchom viedlo pred pozorovaným zvýšením činnosti antioxidantných enzýmov k indukcii HSP70. Došlo k zvýšeniu membránovej integrity a odolnosti proti poškodeniu mrazom. Spracovanie plodín pri vyššej teplote po určitú dobu vedie k podpore rezistencie na chlad a prostredníctvom stimulácie akumulácie HSP a jeho pretrvávaniu na určitej úrovni aj pri neskoršom skladovaní v chlade. Tento proces sa používa napríklad pri banánoch a grepfruitoch. Na ovocie sa pôsobí vyššou teplotou určitú dobu, počas ktorej sa zvýši HSP gén v plode, ktorý je potom uložený pri nízkej teplote a tento účinok je spojený so zvýšením tolerancie k chladu (22).

3.6.1.1 Účinky krátkeho ohrevu na celkové polyfenoly, antokyány, antioxidantnú aktivitu a lektíny rôznych častí bazy chabzdovej (*Sambucus ebulus* L.)

Plody *S. ebulus* obsahujú polyfenoly a antokyány. Majú významnú antioxidantnú aktivitu. Sú tiež bohaté na lektíny, ktoré spôsobujú toxicitu. Ukázalo sa, že po piatich minútach zahrievania extraktu rôznych častí rastliny sa obsah celkových polyfenolov, antioxidantná aktivita a celkové antokyány, cyanidín-3-glukozid znížili minimálne. Tepelné spracovanie má podobný vplyv na prítomné lektíny ako štiepenie lektínov pepsínom. Z toho vyplýva, že je možné eliminovať potenciálne riziká vyplývajúce z prítomnosti lektínov v staršej šťave bez výrazného zníženia antioxidantných látok (27).

3.6.1.2 Vplyv tepelného spracovania na stabilitu prírodných extraktov používaných ako farbivá do potravín

Pridávanie farbív do potravín je stále jedným z hlavných problémov potravinárskeho priemyslu. Stabilné a kvalitné farby sú vysoko oceňovaným atribútom v konkurenčnom boji potravín a nápojov na trhu. Používanie prírodných farbív v potravinách sa zvyšovalo v posledných rokoch vďaka marketingu výhod používania prírodných zložiek. Súviselo to s možnými nežiaducimi účinkami v dôsledku alergií

a neznášanlivosti na syntetické pigmenty. Zvýšil sa dopyt po prírodných farbivách zo strany maloobchodníkov aj spotrebiteľov. Výskum v potravinárstve je zameraný na hľadanie nových, prírodných, atraktívnych potravinárskych farbív. Hlavné skupiny prírodných potravinových farbív sú karotenoidy, chlorofyly, anthokyány a betakyány. Omedzenie používania niektorých potravinárskych farbív výrazne znížilo patelu dostupnosti farieb. Zákaz sa týkal najviac červených farbív a zvýšili sa preto požiadavky na prírodné zdroje červených pigmentov. Úspešne používané prírodné červené farbivá zahŕňajú betanín, karmín, karotenoidy a najmä antokyány. Avšak použitie niektorých prírodných farbív v potravinárstve vyžaduje detailnú znalosť ich stability a možných degradačných procesov, a tiež pochopenie podmienok degradácie pigmentu, aby mohli byť prijaté opatrenia, ktoré zabezpečujú dostatočnú stabilitu a možnosť optimalizácie priemyselnej výroby a skladovania farebných produktov. Antokyány sú zodpovedné za sfarbenie plodov, napr. bazy čiernej, ibišteku a červenej kapusty. Sú široko používané v príprave nápojov, cukroví, želé a džemov. V súčasnej dobe záujem o antokyánové farbivá zosilnel, pretože sa zistil ich možný prínos pre zdravie ako antioxidantov. V červenej repe a opuncii sú prítomné betakyány, ktoré vykazujú červeno-fialové sfarbenie. Pridávajú sa do zmrzliny, nápojov v prášku, cukroví, polievok a produktov so slaninou. Betakyány sú tiež antiradikálové molekuly. Košenila a karmín sa široko používajú v potravinárskom priemysle (28).

Degradácia farby vo vodných roztokoch šiestich prírodných výtlačkov červeného farbiva - bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.), červenej kapusty (*Brassica oleracea* L.), ibišteku (*Hibiscus sabdariffa* L.), červenej repy (*Beta vulgaris* L.), ovocie opuncia (*Opuntia stricta*) a červenej košenily (*Dactylopius coccus* C.), používaných komerčne ako potravinové farbivá, bola skúmaná pri teplotách medzi 50°C - 90°C. Červená košelina, obsahujúca farbivo karmín, najviac odolávala teplote. Farbivo bolo stále až 6h pri teplote 90°C. Antokyánové extrakty (baza čierna, červená kapusta, ibištek) boli menej stabilné, obsah farbiva mali 63,8 %, 46,1 %, 26,7 % v danom poradí. Betakyánové extrakty (z červenej repy, ovocia opuncia) boli najviac termosenzitívne s obsahom farbiva len 12,5 % a 1,7 % v tomto poradí (28).

3.6.2 Konzervácia mrazom

Nízka teplota skladovania predstavuje hlavnú pozberovú stratégiu predĺženia trvanlivosti ovocia, zeleniny a okrasných plodín. Znižuje dychovú frekvenciu a minimalizuje rast hubovitých ochorení, a tým spomaľuje starnutie a zrenie ovocia. Dochádza k zvýšeniu tvorby HSP a v dôsledku toho k zvýšeniu činnosti antioxidantných systémov.

Problém môže nastať pri tropických plodinách, ktoré sú citlivé na nízke teploty. Alternatívou pre takýto druh plodín je nízkotepelná klimatizácia. Ide o uchovávanie hlavne tropických plodín pri teplotách nižších než 12°C. Patrí medzi alternatívne technológie predlžovania pozberového života rastlín a plodov. Počas uchovávanie plodov pri nízkotepelnej klimatizácii bol výrazne nižší dopad na obsahové látky týchto plodín než pri uchovávaní za nízkej teploty (22).

3.6.2.1 Vplyv zrenia ovocia a skladovania v chlade na zloženie organických kyselín

Vplyv zrenia a starnutia na chemické zloženie dvoch myrtoých odrôd sa sledovalo u dospelých, prezretých a v chlade uložených plodoch s cieľom nájsť najvhodnejšie obdobie zberu a najlepšie skladovacie technológie na priemyselné účely.

Zistilo sa, že skladovanie plodov v chlade pri teplote 10°C počas 15 dní nemá vplyv na kvalitu myrtoých plodov určených na výrobu likéru. Koncentrácia antokyánov je najlepším ukazovateľom času zberu pre priemyselné účely. Koncentrácia antokyánov vzrástla počas zrenia, ale v prezretých bobuliach sa znížila. Hlavné organické kyseliny v plodoch sú kyselina jablčná, glukónová a chinová. Koncentrácia kyseliny glukónovej je najväčšia v dospelých, prezretých, za studena uložených bobuliach. Tento parameter môže byť použitý ako marker nástupu starnutia ovocia (29).

3.6.3 Lyofilizácia

Lyofilizácia, nazývaná aj vákuové vymrazovanie, je metóda sušenia vlhkých materiálov, pri ktorej dochádza k sublimácii zamrznutej vody. Výhodou tejto metódy je, že voda neprechádza z kvapalného do plynného skupenstva, čo je v mnohých prípadoch dôvod poškodenia sušeného materiálu (30).

Materiál je sušený rýchlejšie, spotrebuje menej energie, vďaka čomu sa podstatne zrýchľuje proces, a tým sa znižuje riziko degradácie materiálu (31).

Zariadenie sa skladá z valcovej podtlakovej komory z oceľového plechu a vákuového čerpadla zabezpečujúceho požadovaný tlak v komore. Komora je vybavená zberačom kondenzátu (31).

V štúdiách na čučoriedkach (*Vaccinium myrtillus*) bol hodnotený obsah antokyánov a vitamínu C. Bolo zistené, že pri teplote 60°C a tlaku 100 mbar je najvyšší obsah látok. Obsah vitamínu C môže slúžiť tiež ako ukazovateľ závažnosti procesu sušenia. Bolo dokázané, že so zvyšujúcou sa teplotou sušenia a podtlakom sa jeho obsah zvýšil (31).

3.6.4 γ -žiarenie

Je to technológia, ktorá sa čoraz viac používa na potláčanie rastu mikroorganizmov, a zároveň na oneskoreniu procesu starnutia ovocia. Avšak na relevantné odporúčenie používať túto technológiu existuje stále málo štúdií hodnotiacich účinnosť tohto žiarenia na bioaktívne a nutričné látky. Skúmal sa vplyv gama žiarenia na zachovanie kvality čerstvých malín. Maliny majú krátku životnosť, preto je dôležitá ich správna pozberová úprava.

Dokázalo sa, že gama žiarenie zvyšuje po zbere životnosť malín o 8 dní. V dávke 1 kGy bolo žiarenie najúčinnnejšie na zachovanie hmotnosti a kyseliny askorbovej. Neovplyvnilo pevnosť čerstvých malín. Je to alternatívna technológia umožňujúca vyhnúť sa používaniu fungicídov (32).

3.6.5 Použitie hydrotermodynamickéj technológie

Veľa štúdií sa v súčasnosti zaoberá porovnaním moderných metód konzervácie s konvenčnými technológiami spracovania. Hydrotermodynamická (HTD, hydrothermodynamic) technológia je operácia zahŕňajúca kombináciu fyzikálnych procesov ako kavitácia, mechanické trenie a teplota na vytvorenie ovocnej drene. Zmrazené plody brusnice úzkolistej (*Vaccinium angustifolium* Aiton) boli rozmrazené a pasterizované pri teplote 95°C, čím sa získalo pasterizované pyrė. Pri spracovaní konvenčnou technológiou vzniklo pyrė pri mechanickom spracovaní, kde ďalej nasledovala pasterizácia za rovnakej rýchlosti ohrevu ako za použitia HTD technológie. V pyrė získanom oboma metódami bola porovnaná koncentrácia antokyánov. Použitím

oboch technológií bola výrazne nižšia než v mrazených plodoch. Avšak do 48 hodín po spracovaní uchovávanie antokyánov v pyrė vyrobenom za použitia HTD technológie bolo takmer 2x vyššie než v pyrė vyrobenom pomocou konvenčnej technológie. Tieto výsledky naznačujú, že vyššia koncentácia antokyánov môže byť získaná v dreni získanej pomocou HTD technológie, než bežnými metódami (33).

Väčšina bežne používaných metód konvenčnej technológie používa priame zahrievanie (rôzne typy elektrických ohrievačov), ktoré zahŕňajú viac krokov spracovania, čo privádza ovocie do atmosféry vedúcej k oxidácii na polyfenoly. Ďalšia technika, ktorá môže byť použitá pri pasterizácii ovocia je pasterizácia pri vysokej teplote na krátky čas, ktorá tiež zahŕňa viac krokov spracovania. Ukázalo sa, že HTD technológia je lepšou možnosťou spracovania bazovej šťavy do pasterizovaného pyrė. Znižuje negatívny vplyv kyslíka, svetla a dlhodobej expozície enzýmom na uchovávanie antokyánov (33).

Technológia využíva fyzikálne javy, ako je kavitácia, vnútorné mechanické trenie pre priame vytápanie a súčasne homogenizácia sťahovaním kvapaliny. Základom tejto technológie je presun kvapaliny cez prekážku (cavitator), tým vytváranie lokálnej turbulencie a viacfázovej kavitačnej bubliny (kavitačných jadier) s rušivým vplyvom pre prúdenie kvapaliny. Kavitačné bubliny sú nestabilné a zrúti sa hneď po prechádzaní aktívnou plochou kavitátora. Kolaps kavitačnej bubliny vytvára lokálne šmykové sily, ktoré uvoľňujú energiu, ktorá vedie k drveniu, homogenizácii a zvýšeniu teploty pre fluidné pohybovanie produktu. Drvenie výrobku, homogenizácia a objemové zahrievanie v uzavretom systéme s omedzeným vystavovaním kyslíku prebiehajú súčasne v jednej operačnej jednotke, čo vedie k zníženiu oxidačného vplyvu, ktorý sa vyskytuje pri spracovaní použitím konvenčnej technológie. Medzi hlavné výhody HTD technológie patrí jednotný ohrev výrobku a obmedzenie styku s kyslíkom v priebehu spracovania. HTD technológia poskytuje lepšiu kvalitu spracovania potravín než konvenčné technológie. HTD technológia má veľký potenciál pre udržanie kvality produktov počas skladovania, kde znižuje negatívny vplyv kyslíka a dlhodobého vystavenia enzýmom (33).

3.6.6 Balenie

3.6.6.1 Vplyv obalových materiálov a doby skladovania prchavých zlúčenín

Podľa súčasných poznatkov o procese spracovania čaju z čerstvých kvetov a jeho vplyvu na prchavé látky čaju a jeho chuť, bolo v čaji spracovanom z kvetov bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) zistené, že parametre ako kultivar, balenie, materiály a doba skladovania majú významný vplyv na chuť a kvalitu bazového čaju (34).

Kvety balené v papierových vreciach pri normálnom tlaku a vo vreciach z hliníka a plastu v 99% vákuu boli skladované počas 21 mesiacov a boli u nich skúmané prchavé látky. Bolo identifikovaných 56 prchavých látok, vrátane 10 aldehydov, 7 ketónov, 21 alkoholov, 1 fenol, 3 estery, 4 heterocykly a 8 uhľovodíkových derivátov mastných kyselín, aminokyselín, šikimovej kyseliny (34).

Obal, materiál a doba skladovania mali významný vplyv na obsah prchavých látok a 15 prchavých látok čiastočne alebo úplne zmizlo počas skladovania.

Čaj spracovaný z kvetov kultivarov Sampo a Sambu a balený v plastových a hliníkových sáčkoch mal uspokojivú chuť a obsah prchavých zlúčenín minimálne 3 mesiace po spracovaní. Všetky vzorky spracované z kultivaru Samyl mali nepríjemnú trávnatú vôňu a chuť (34).

Obsah dôležitých prchavých zlúčením s trávnatými tónmi ako hexanal a (Z)-3-hexen-1-ol boli na rovnakej úrovni vo všetkých kultivarochoch. Avšak obsah dôležitých prchavých látok s kvetinovými, ovocnými a sladkými tónmi ako linalol a hotrienol boli v starších kvetoch významne nižšie v odrode Samyl v porovnaní s odrodami Sampo a Sambu, čo v istej miere vysvetľuje rozdiely v chuti medzi týmito vzorkami čaju (34).

Zmeny vyskytujúce sa v priebehu skladovania môžu byť spôsobené enzymaticky katalyzovanou hydrolýzou proteínov a lipidov pochádzajúcich z narušeného rastlinného tkaniva, a tým hromadeniu voľných aminokyselín a mastných kyselín v tkanive. Nahromadené aminokyseliny a enzýmy môžu znovu podstúpiť enzymaticky katalyzované zmeny, ktoré môžu mať za následok vyšší obsah alifatických alkoholov, aldehydov, ketónov a esterov, ktoré sú vo veľkom množstve zastúpené v kvetoch bazy

čiernej. Avšak pôvod prchavých látok v kvetinovom tkanive je stále nejasný. Predpokladá sa, že pochádza z dvoch zdrojov - buď *de novo* biosyntézou alebo biosyntézou z väčších molekúl prekursorov, počas ktorej dochádza k priamemu uvoľneniu, akumulácii v kvetinovom tkanive alebo hromadeniu v kvetinovom tkanive naviazaním ako konjugáty alebo glykozidy. Najmä prchavé terpenoidy a fenoly môžu byť do istej miery spojené ako glykozidy, kde sa prchavá časť uvoľní po pôsobení enzýmov, ako sú glukozidázy. V dôsledku toho zvýšená enzymatická aktivita v priebehu spracovania a skladovania bazového kvetu môže mať za následok zvýšenie produkcie prchavých terpenoidov a fenolických látok z glykozidových prekursorov. Zvýšená enzymatická aktivita môže tiež viesť k biosyntéze prchavých zlúčenín alebo k transformácii prchavých látok už nahromadených v starších kvetoch do iných prchavých látok. V dôsledku toho je možných veľa zmien mnohých prchavých látok v priebehu spracovania a skladovania čajov, kde okrem zvýšenej produkcie prchavých mastných kyselín dochádza k zmenám derivátov podliehajúcich tautomérii zlúčenín, najmä terpénov, čo môže byť očakávané aj v priebehu skladovania bazových čajov a extraktov. V konečnom dôsledku oxidačná degradácia karotenoidov počas sušenia môže viesť k tvorbe dôležitých aromatických zlúčenín, ako sú jonon a damascenon, z ktorých niektoré už boli detekované v suchých kvetoch bazy čiernej alebo v bazových výliskoch (34).

Dokázalo sa, že chuť čaju spracovaného z troch kultivarov je výrazne vyššia u novouloženého uskladneného čaju. Najviac aromatické čaje boli z odrody Sampo, potom Sambu a nakoniec Samyl. Aróma čajov sa znížila počas skladovania 3 - 21 mesiacov o konštantnú úroveň u odrody Sampo, u odrôd Samyl a Sambu výrazne poklesla. Najvyššiu aromatickosť po 6 mesiacoch dosiahla odroda Sambu, najnižšia bola zaznamenaná u odrody Samyl. Chuť charakterizovaná u čajov uchovávaných a balených v plastových a hliníkových vrecúškach bola označená za uspokojujúcu u odrôd Sampo a Sambu, čaj z kvetov odrody Samyl mal nepríjemnú chuť. Všetky vzorky uložené v papierových vreckách mali nevyhovujúcu chuť. Chuť starších kvetov odrôd Sampo a Sambu uložených v hliníkových vreciach boli priateľné po 21 mesiacoch po spracovaní a skladovaní. Sampo čaj bol priateľný pri skladovaní po dobu 21 mesiacov v taškách z plastu, zatiaľ čo Sambu čaj skladovaný v igelitových vreciach bol priateľný iba 3 mesiace. Žiadna z uložených vzoriek odrody Samyl nemala príjemnú chuť. Na základe týchto zistení sa dospelo k záveru, že čaj spracovaný

z kvetov odrody Sampo zabalených v hliníkových a plastových vrecúškach si zachováva svoju chuť až 21 mesiacov počas skladovania pri izbovej teplote 20°C. Rozdiely pozorované medzi bazovými čajmi sú s najväčšou pravdepodobnosťou kvôli ich prchavému profilu (34).

3.6.6.2 Vplyv teploty skladovania a formy spracovania plodov na obsahové látky

Teplota skladovania má tiež veľký vplyv na obsahové látky. Bolo zistené, že degradácia antokyánov v pasterizovaných bazových džemoch je podstatne vyššia pri teplote 25°C než pri 4°C. Pri porovnaní obsahu antokyánov v čerstvom ovocí a v produktoch spracovaných do iných foriem, klesol po 6 mesiacoch skladovania z 80 % na 23 % v nevyčerených džúsoch, z 46 % na 15 % vo vyvyčerenej šťave a z 50 % na 20 % v pyré. Tieto straty súvisia s technológiou spracovania ovocia. Bohužiaľ vystavenie teplotám a kyslíku nie je zatiaľ dobre zdokumentované v literatúre, čo sťažuje vyvodenie záverov o konkrétnych faktoroch, ktoré ovplyvňujú stratu kvality (33).

3.6.6.3 Vplyv balenia do ochrannej atmosféry na udržovanie kvality

Predmetom skúmania boli dva kultivary liča čínskeho (*Litchi chinensis* Sonn. Maurícius a McLean Red), ktoré boli zabalené do aktívnej atmosféry (5% O₂ a 5% CO₂) a pasívnej atmosféry v propylénových košíčkoch. Bola použitá krycia fólia s 10 a 4 otvormi, ktorou sa uzavreli košíčky počas procesu balenia. Balíčky plodov boli skladované pri 2°C a 95% relatívnej vlhkosti počas 21 dní. Pozorovania ukázali, že kultivar McLean Red bol vhodnejší pre obalovú techniku v ochrannej atmosfére než Maurícius.

Krycia fólia so 4 otvormi ukázala 7% obsah O₂ a 9% obsah CO₂. Významne sa znížila aktivita oxidačných enzýmov, v dôsledku čoho bola zachovaná uspokojivá farba oplodia po dlhšiu dobu. Krytie fóliou s 10 otvormi ukázalo 17% obsah O₂ a 5% obsah CO₂, zachovala sa ovocná príchuť liča a aj priateľná farba oplodia. Použitím aktívnej ochrannej atmosféry sa nezmenilo zloženie plynov v rovnováhe, ale znížil sa čas potrebný na dosiahnutie tejto rovnováhy.

Balenie do ochrannej atmosféry bolo považované za prospešné pre udržanie vysokej vlhkosti. Nedošlo k strate vody a hnednutiu oplodia. Ukázalo sa, že to môže byť dobré riešenie pre pestovateľov a vývozcov (35).

3.6.7 Ostatné spôsoby konzervácie

3.6.7.1 Salicyláty a jasmonáty

Kyselina salicylová sa komerčne používa pri ošetrovaní ovocia a zeleniny (paradajka, broskyňa) ako pozberová úprava s cieľom zmierniť dopad chladu. Sú to lacné látky, s ktorými je ľahká manipulácia. Znižujú obsah malondialdehydu, čím sa udržuje pevnosť ovocia, a tiež sa indukuje expresia HSP73 a HSP101 (22).

3.6.7.2 Atmosféra obohatená oxidom uhličitým

Niektoré plodiny, napr. mandarínky, sú veľmi citlivé na anaeróbne podmienky v dôsledku nízkej priepustnosti pre plyny z kôry. Nastáva pre ne stresujúci stav a odpoveďou je génová expresia HSP chrániaca proti zreniu ovocia v dôsledku acidifikácie spôsobenej vysokou úrovňou CO₂. Konečným výsledkom je zníženie ROS, a tým zmiernenie oxidačného stresu spojeného s anaerobiózou (22).

3.6.7.3 UV-svetlo

Ošetrovanie ultrafialovým svetlom pri pozberovej úprave subletálnymi dávkami pri určitých druhoch plodín, ako sú napr. banány, paradajky, broskyne, vedie k zmierneniu poškodenia chladom. Dôjde hlavne k zníženiu oxidačného stresu prostredníctvom zvýšenia antioxidantnej aktivity systému tvorbou HSP70. Bráni oxidácii membránových mastných kyselín inhibíciou sekundárneho oxidačného stresu, vďaka čomu sa zníži stupeň poškodenia DNA (22).

4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1 POUŽITÝ MATERIÁL

Čerstvé plody bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) boli nazbierané v septembri 2014 vo vybraných lokalitách Hradca Králové, medzi ktoré patrila Botanická záhrada Farmaceutickej fakulty, okolie zastávky U Dvora, domova dôchodcov Harmónia a zastávky na Novom Hradci Králové.

Hneď po zbere boli plody konzervované sušením a to pri laboratórnej teplote, pri zvýšenej teplote (40°C alebo 60°C) alebo konzervované v mrazničke pri teplote -18°C.

Ďalšie analyzované plody bazy čiernej boli z pestovaných odrôd *Sambucus nigra*: Alleso, Sambu, Weihenstephan a Samyl z roku zberu 2011 (Výzkumný šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy), ktoré boli odvtedy uchovávané v mrazničke pri teplote -18°C.

Pred analýzou boli plody zbavené stopiek. Sušené plody boli rozomleté v mlynčeku, zmrazené plody boli mechanicky rozdrtené v trenke.

4.2 PRÍSTROJE

Analytické váhy Kern (Nemecko)

Spektrofotometer Shimadzu (Japonsko)

Ultrazvukový kúpeľ Bandolin Sonorex (Nemecko)

Centrifúga CompactStar CS 4 (Belgicko)

4.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

Ethanol 96%, Penta, Chrudim, ČR

Čistená voda

Folin-Ciocalteuovo činidlo, Penta, Chrudim, ČR

Uhličitan sodný kyslý p. a., LACHEMA n. p. Brno, ČR

Methanol p. a., Penta, Chrudim, ČR

Kyselina chlorovodíková p. a., Penta, Chrudim, ČR

4.4 STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU FENOLICKÝCH LÁTOK V PLODOCH

Stanovenie celkového obsahu fenolických látok bolo realizované modifikovanou metódou s Folin-Ciocalteuovým činidlom (36).

Obsah fenolických látok bol vyjadrený v % kyseliny gallovej.

4.4.1 Príprava meraného roztoku

Navážilo sa 0,400 g vzorky do 100,0 ml banky a zmiešalo s 20 ml ethanolu 60% (V/V). Vzorka sa zahrievala 10 minút v ultrazvukovom vodnom kúpeli pri teplote 55°C. Po ochladení nasledovala filtrácia cez chomáček vaty do 50,0 ml odmernej banky. Chomáček vaty sa potom vložil k zvyšku drogy v kádinke, pridalo sa 20 ml ethanolu 60% (V/V) a zahrievalo sa ďalších 10 minút v ultrazvukovom vodnom kúpeli pri teplote 55°C. Po ochladení nasledovala opäť filtrácia spolu s chomáčikom vaty do tej istej odmernej banky. 100 ml banka aj vata sa opláchli trochou ethanolu 60% (V/V), sfiltrovalo sa to do tej istej odmernej banky a doplnilo do 50,0 ml ethanolom 60% (V/V).

Spojené filtráty sa premiešali a 12,0 ml roztoku sa odobralo do skúmaviek a zcentrifugovalo (5000 rpm, 15 min.). Následne sa ihneď odobral 1,0 ml supernatantu, ktorý sa doplnil do 10,0 ml destilovanou vodou a premiešal. K 1,0 ml tohto roztoku sa pridalo 5,0 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 4,0 ml roztoku uhličitanu sodného 7,5% a premiešalo.

4.4.2 Porovnávací roztok

1,0 ml destilovanej vody sa zmiešal s 5,0 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Potom sa pridali 4,0 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a premiešalo sa to.

Absorbancia skúmaného roztoku sa merala v porovnaní so slepou vzorkou po 120 minútach pri vlnovej dĺžke 765 nm.

Stanovenie sa urobilo trikrát.

Celkový obsah fenolických látok (ako ekvivalent kyseliny gallovej) sa vypočítal pomocou kalibračnej krivky (37).

Výsledky boli prepočítané na obsah fenolických látok vo vysušených plodoch a sú uvedené v tabuľkách č.7 – 14 a v grafe č. 2.

4.4.3 Kalibračná krivka

0,1000 g kyseliny gallovej sa navážilo do odmernej banky, rozpustilo v čistenej vode a doplnilo na 100,0 ml. 10,0 ml tohto základného roztoku sa zriedilo na 100,0 ml destilovanou vodou. Zo vzniknutého roztoku sa do 6 skúmaviek odmeralo 0,10 ml, 0,20 ml, 0,30 ml, 0,40 ml, 0,50 ml a 0,60 ml, doplnilo destilovanou vodou na 1,0 ml, pridalo 5,0 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 4,0 ml roztoku uhličitanu sodného 7,5%. Po 1 hodine sa zmerala absorbancia jednotlivých roztokov pri 765 nm.

Kalibračná krivka je v grafe č.1.

4.4.4 Strata sušením

Stanovenie bolo realizované podľa postupu v ČL 2009 (38). Navážka plodov bola sušená v sušiarňi pri teplote 105°C do konštantnej hmotnosti, výsledná hodnota je priemerom 2 stanovení. Výsledky sú v tabuľke č.1 – 5 (38).

4.5 STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU ANTOKYÁNOV V PLODOCH

Stanovenie bolo realizované postupom podľa ČL 2009, článku *Myrtilli fructus recens*. Použili sa zmrazené plody bazy čiernej. Proces stanovenia sme realizovali trikrát (z troch navážok po 0,4 g) (39).

4.5.1 Príprava meraného roztoku

5,000 g zmrazených plodov zbavených stopiek sa rozdrobilo a zmiešalo s 95 ml methanolu. Extrahovalo sa pri teplote miestnosti 30 minút v ultrazvukovom kúpeli. Potom nasledovala filtrácia do 100,0 ml odmernej banky. Filter sa premyl methanolom a výluh sa doplnil methanolom na 100,0 ml. Z tohto výluhu sa odobral 1,0 ml skúmaného roztoku a pripravilo sa päťdesiatnásobné zriedenie v zmesi objemových dielov kyseliny chlorovodíkovej a methanolu (1 + 999).

Absorbancia pripraveného roztoku sa merala pri 528 nm za použitia zmesi objemových dielov kyseliny chlorovodíkovej R a methanolu R (1 + 999) ako kontrolnej tekutiny. Z nameraných hodnôt sa vypočítal obsah antokyánov v percentách.

Vzorec pre výpočet obsahu antokyánov:

$$\% = \frac{A \cdot 5000}{718 \cdot m}$$

718 je špecifická absorbancia cyanidin 3-O-glukosid-chloridu pri 528 nm

A je absorbancia pri 528 nm

m je hmotnosť skúmanej drogy v gramoch

Výsledky stanovení obsahu antokyánov sú uvedené v tabuľkách č.15 – 16 a grafe č.3.

Obsah antokyánov počítaný ako cyanidin 3-O-glukosid-chlorid bol zistený v zmrazených plodoch a bol prepočítaný na vysušené plody.

4.6 VÝSLEDKY

4.6.1 Výpočet obsahu sušiny po stanovení straty sušením

kde

m je hmotost plodov pred sušením

m_{po} je hmotnosť plodov po sušení

OBSAH SUŠINY v %

STRATA SUŠENÍM v %

$$\frac{m_{po}}{m} * 100 = \text{OBSAH SUŠINY} \quad (*)$$

$$100 - \text{OBSAH SUŠINY} = \text{STRATA SUŠENÍM}$$

4.6.1.1 Stanovenie obsahu sušiny plodov

Tabuľka č.1: Strata sušením plodov konzervovaných pri teplote miestnosti

Miesta zberu bazy čiernej	m [g]	Strata sušením [%]	Obsah sušiny [%]
Botanická záhrada	2,0375	10,3	89,7
	2,0333		
U Dvora	2,0218	11,7	88,3
	2,0305		
Harmónia	2,0214	11,4	88,6
	2,0032		
Nový Hradec Králové	2,0152	10,8	89,2
	2,0006		

Tabuľka č.2: Strata sušením plodov konzervovaných sušením pri teplote 40°C

Miesta zberu bazy čiernej	<i>m</i> [g]	Strata sušením [%]	Obsah sušiny [%]
Botanická záhrada	2,0097	10,1	89,9
	2,0263		
U Dvora	2,0136	10,9	89,1
	2,0039		
Harmónia	2,0145	10,6	89,4
	2,0078		

Tabuľka č.3: Strata sušením plodov konzervovaných sušením pri teplote 60°C

Miesta zberu bazy čiernej	<i>m</i> [g]	Strata sušením [%]	Obsah sušiny [%]
Botanická záhrada	2,0084	10,0	90,0
	2,0159		

Tabuľka č.4: Strata sušením plodov konzervovaných v mrazničke pri teplote -18°C

Miesta zberu bazy čiernej	<i>m</i> [g]	Strata sušením [%]	Obsah sušiny [%]
botanická záhrada	5,0363	89,1	10,9
Harmónia	5,0422	89,7	10,3
U dvora	5,0996	89,4	10,6

Tabuľka č.5: Strata sušením plodov skladovaných v mrazničke pri teplote -18°C počas 3 rokov

Odroda bazy čiernej	<i>m</i> [mg]	Strata sušením [%]	Obsah sušiny [%]
Samyl	5,0480	84,3	15,7
Weihenstephan	5,0288	80,9	19,1
Sambu	5,0862	84,6	15,4
Allesö	5,0996	83,3	16,7

4.6.2 Kalibračný graf kyseliny gallovej

Tabuľka č.6: Meranie kalibračnej závislosti

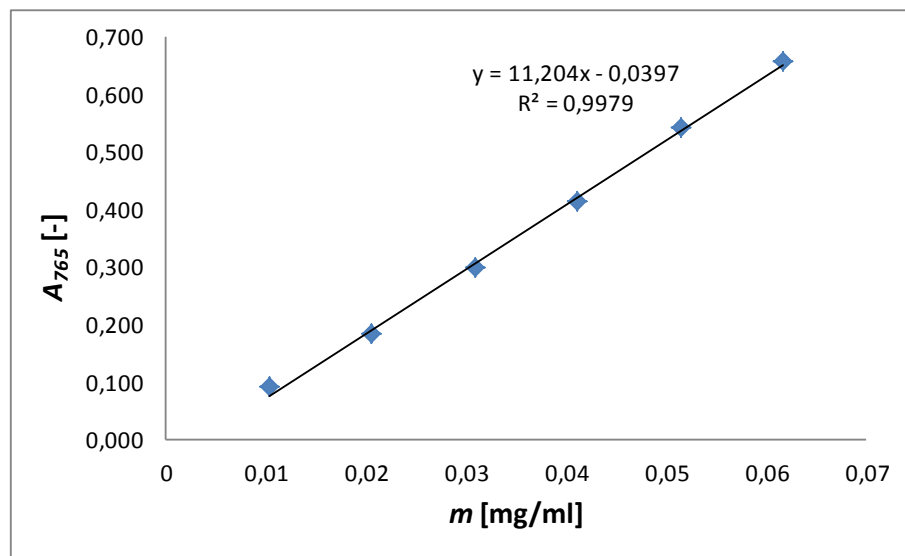
Skúmavka	m [mg/ml]	A_{765} [-]
1	0,01029	0,090
2	0,02058	0,182
3	0,03087	0,298
4	0,04116	0,413
5	0,05145	0,542
6	0,06174	0,658

kde

m je hmotnosť kyseliny gallovej

A_{765} je absorbancia pri 765 nm

Graf č. 1: Kalibračná závislosť kyseliny gallovej



4.6.3 Výpočet obsahu fenolických látok z kalibračnej rovnice

$$y = 11,204x - 0,0397$$

kde

y je absorbancia vzorky

x je hmotnosť fenolických látok vo vzorke

4.6.4 Výpočet odpovedajúceho množstva drogy v meranom roztoku

$$m_{100} = \left(\frac{m_p}{zr} \cdot V\right) \cdot V_2 / zr_2$$

kde

m_p je hmotnosť navážky v mg

zr je zriedenie do 50 ml

V je objem odobraný zo skúmaného roztoku vzorky ku centrifugácii

V_2 je objem skúšanej vzorky obobraný po centrifugácii ku stanoveniu spektrofotometricky

zr_2 je konečné zriedenie vzorky pred spektrofotometrickým stanovením

m_{100} je odpovedajúce množstvo drogy v meranej vzorke

4.6.5 Výpočet celkového obsahu fenolických látok v plodoch v%

$$\frac{m_{100}}{m_p} \cdot 100 = c$$

kde

m_{100} je odpovedajúce množstvo drogy v meranej vzorke

m_p je hmotnosť navážky v mg

c je celkový obsah fenolických látok v plodoch v %

4.6.6 Výpočet priemeru celkového obsahu fenolických látok v plodoch v %

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^n c_i}{n}$$

čo v našom prípade znamená

$$\bar{x} = \frac{c_1 + c_2 + c_3}{3}$$

kde

c_i je obsah fenolických látok

4.6.7 Zoznam pojmov k tabuľkám č.7 - 10

m_p je hmotnosť plodov

m_{100} je odpovedajúce množstvo drogy v meranej vzorke

A_{765} je absorbanca pri 765nm

m_{fl} je hmotnosť fenolických látok

c je obsah fenolických látok

\bar{x} je priemer obsahu fenolických látok

4.6.7.1 Stanovenie obsahu fenolických látok v plodoch konzervovaných sušením.

Tabuľka č.7: Obsah fenolických látok v nazbieraných plodoch konzervovaných pri teplote miestnosti

Miesta zberu bazy čiernej	m_p [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	405,6	0,8112	0,493	0,0475	5,8611	5,5282 ± 0,2418
	405,0	0,8100	0,453	0,0440	5,4291	
	403,5	0,8070	0,439	0,0427	5,2944	
U Dvora	405,6	0,8112	0,493	0,0475	5,8611	5,6153 ± 0,2017
	404,1	0,8082	0,469	0,0454	5,6178	
	402,2	0,8044	0,444	0,0432	5,3670	
Harmónia	402,0	0,8040	0,446	0,0434	5,3919	5,3710 ± 0,0302
	400,1	0,8002	0,438	0,0426	5,3282	
	401,1	0,8022	0,445	0,0433	5,3928	
Nový Hradec Králové	403,2	0,8064	0,574	0,0548	6,7925	6,4683 ± 0,2374
	402,6	0,8052	0,536	0,0514	6,3814	
	402,3	0,8046	0,522	0,0501	6,2309	

Tabuľka č.8: Obsah fenolických látok v plodoch konzervovaných sušením pri teplote 40°C

Miesta zberu bazy čiernej	m_p [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	405,9	0,8118	0,47	0,0457	5,6259	5,2310 ± 0,3176
	404,2	0,8084	0,43	0,0422	5,2190	
	402,9	0,8058	0,4	0,0391	4,8482	
U Dvora	401,9	0,8038	0,41	0,0397	4,9379	4,9921 ± 0,0584
	402,4	0,8048	0,41	0,0400	4,9651	
	403,5	0,8070	0,42	0,0409	5,0732	
Harmónia	401,5	0,8030	0,41	0,0399	4,9651	4,8017 ± 0,1338
	401,0	0,8020	0,38	0,0372	4,6374	
	405,8	0,8116	0,4	0,0390	4,8025	

Tabuľka č.9: Obsah fenolických látok v plodoch konzervovaných sušením pri teplote 60°C

Miesta zberu bazy čiernej	m_p [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	401	0,802	0,31	0,0309	3,8482	4,2988 ± 0,3210
	404	0,808	0,37	0,0369	4,5721	
	404	0,807	0,37	0,0361	4,4760	

4.6.8 Stanovenie obsahu fenolických látok v plodoch konzervovaných zmrazením

Tabuľka č.10: Obsah fenolických látok v nazbieraných plodoch konzervovaných v mrazničke pri teplote -18°C

Miesta zberu bazy čiernej	m_p [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	5148	10,2952	0,47	0,0454	0,4410	0,4378 ± 0,0040
	5067	10,1330	0,45	0,0438	0,4322	
	5097	10,1932	0,46	0,0449	0,4402	
Harmónia	5053	10,1064	0,54	0,0514	0,5084	0,5000 ± 0,0072
	5043	10,0858	0,53	0,0505	0,5006	
	5025	10,0494	0,51	0,0493	0,4909	
U Dvora	5066	10,1312	0,57	0,0548	0,5407	0,5386 ± 0,0088
	5037	10,0738	0,56	0,0531	0,5269	
	5070	10,1396	0,58	0,0556	0,5481	

4.6.8.1 Obsah celkových fenolických látok po prepočte na vysušenú drogu

4.6.8.1.1 Zoznam pojmov k tabuľkám č.11 - 14

m_s je hmotnosť plodov po prepočte na vysušenú drogu

m_p je hmotnosť plodov

m_{100} je odpovedajúce množstvo drogy v meranej vzorke

A_{765} je absorbanca pri 765nm

m_{fl} je hmotnosť fenolických látok

c je obsah fenolických látok

\bar{x} je priemer obsahu fenolických látok

4.6.8.1.2 Stanovenie obsahu fenolických látok v plodoch konzervovaných sušením

prepočítaný na vysušenú drogu

Tabuľka č.11: Obsah fenolických látok konzervovaných sušením pri teplote miestnosti prepočítaný na vysušenú drogu

Miesta zberu bazy čiernej	m_s [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	363,8	0,7276	0,493	0,0475	6,5342	6,1630 ± 0,2695
	363,3	0,7266	0,453	0,0440	6,0525	
	361,9	0,7239	0,439	0,0427	5,9023	
U Dvora	358,1	0,7163	0,493	0,0475	6,6378	6,3594 ± 0,2285
	356,8	0,7136	0,469	0,0454	6,3622	
	355,1	0,7103	0,444	0,0432	6,0781	
Harmónia	356,2	0,7123	0,446	0,0434	6,0856	6,0621 ± 0,0341
	354,5	0,7090	0,438	0,0426	6,0138	
	355,4	0,7107	0,445	0,0433	6,0867	
Nový Hradec Králové	359,7	0,7193	0,574	0,0548	7,6150	7,2515 ± 0,2661
	359,1	0,7182	0,536	0,0514	7,1541	
	358,9	0,7177	0,522	0,0501	6,9853	

Tabuľka č.12: Obsah fenolických látok konzervovaných sušením pri teplote 40°C prepočítaný na vysušenú drogu

Miesta zberu bazy čiernej	m_s [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	364,9	0,7298	0,47	0,0457	6,2580	5,8187 ± 0,3533
	363,4	0,7268	0,43	0,0422	5,8053	
	362,2	0,7244	0,4	0,0391	5,3928	
U Dvora	358,1	0,7162	0,41	0,0397	5,5420	5,6028 ± 0,0656
	358,5	0,7171	0,41	0,0400	5,5725	
	359,5	0,7190	0,42	0,0409	5,6938	
Harmónia	358,9	0,7179	0,41	0,0399	5,5538	5,3710 ± 0,1496
	358,5	0,7170	0,38	0,0372	5,1873	
	362,8	0,7256	0,4	0,0390	5,3719	

Tabuľka č.13: Obsah fenolických látok konzervovaných sušením pri teplote 60°C prepočítaný na vysušenú drogu

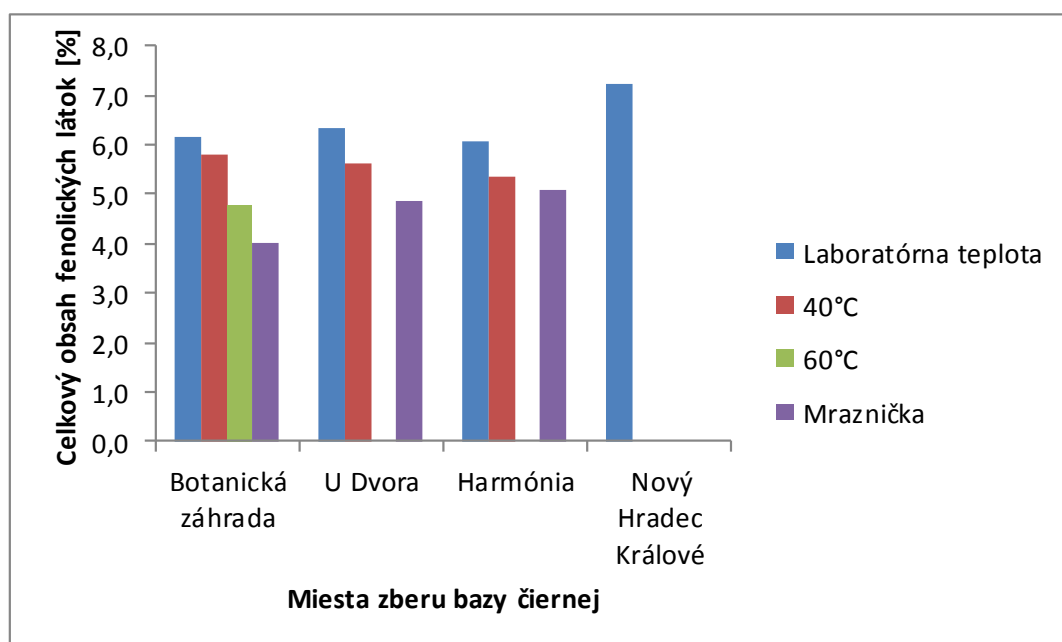
Miesta zberu bazy čiernej	m_s [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	360,8	0,7216	0,31	0,0309	4,2758	4,7764 ± 0,3567
	363,4	0,7268	0,37	0,0369	5,0801	
	363,2	0,7263	0,37	0,0361	4,9733	

4.6.8.2 Stanovenie obsahu fenolických látok v plodoch konzervovaných zmrazením prepočítaný na vysušenú drogu

Tabuľka č.14: Obsah fenolických látok konzervovaných v mrazničke pri -18°C prepočítaný na vysušenú drogu

Miesta zberu bazy čiernej	m_s [mg]	m_{100} [mg]	A_{765} [-]	m_{fl} [mg]	c [%]	\bar{x} [%]
Botanická záhrada	561,1	1,1222	0,47	0,0454	4,0460	4,0165 ± 0,0364
	552,2	1,1045	0,45	0,0438	3,9653	
	555,5	1,1111	0,46	0,0449	4,0383	
Harmónia	520,5	1,0410	0,54	0,0514	4,9362	4,8541 ± 0,0697
	519,4	1,0388	0,53	0,0505	4,8603	
	517,5	1,0351	0,51	0,0493	4,7658	
U Dvora	537,0	1,0739	0,57	0,0548	5,1005	5,0808 ± 0,0829
	533,9	1,0678	0,56	0,0531	4,9708	
	537,4	1,0748	0,58	0,0556	5,1711	

Graf2: Celkový obsah fenolických látok prepočítaný na vysušenú drogu v plodoch bazy čiernej nazbieraných v rôznych častiach Hradca Králové a konzervovaných pri rôznych teplotách.



4.6.9 Stanovenie obsahu antokyánov v plodoch konzervovaných v mrazničke 3 roky

4.6.9.1 Zoznam pojmov k tabuľke č. 15

m_p je hmotnosť plodov

A_{528} je absorbanca pri 528 nm

c je obsah fenolických látok

\bar{x} je priemer obsahu fenolických látok

4.6.9.2 Obsah antokyánov v plodoch skladovaných v mrazničke 3 roky

Tabuľka č.15: Obsah antokyánov v plodoch skladovaných v mrazničke pri teplote -18°C počas 3 rokov

Odroda bazy čiernej	m_p [mg]	A_{528} [-]	c [%]	\bar{x} [%]
Sامل	5,0220	0,602	0,8348	0,8544 ± 0,0196
	5,0513	0,634	0,8740	
Weihenstephan	5,0622	0,500	0,6878	0,6856 ± 0,0022
	5,0542	0,496	0,6834	
Sambu	5,0107	0,290	0,4030	0,4292 ± 0,0262
	5,0458	0,330	0,4554	
Allesö	5,0134	0,256	0,3556	0,3935 ± 0,0379
	5,0374	0,312	0,4313	

4.6.9.3 Výpočet obsahu sušiny po stanovení straty sušením

Stanovenie sa riadilo podľa vzorca (*).

4.6.9.4 Zoznam pojmov k tabuľke č.16

m_s je hmotnosť plodov po prepočte na vysušenú drogu

A_{528} je absorbanca pri 528 nm

c je obsah fenolických látok

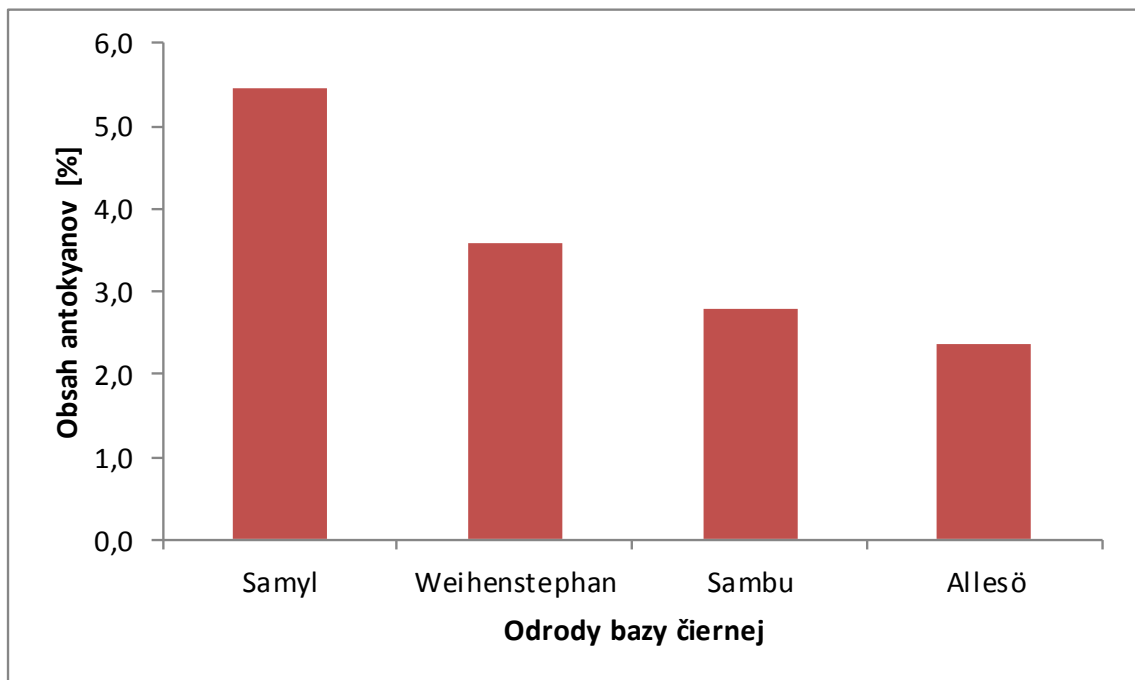
\bar{x} je priemer obsahu fenolických látok

4.6.9.5 Obsah antokyánov po prepočte na vysušené plody

Tabuľka č.16: Obsah antokyánov plodov skladovaných v mrazničke pri teplote -18°C počas 3 rokov po prepočte na vysušenú drogu

Odroda bazy čiernej	m_s [mg]	A_{528} [-]	c [%]	\bar{x} [%]
Samyl	0,7885	0,602	5,3170	5,4421 \pm 0,1251
	0,7931	0,634	5,5671	
Weihenstephan	0,9669	0,500	3,6012	3,5896 \pm 0,0116
	0,9654	0,496	3,5780	
Sambu	0,7716	0,290	2,6171	2,7873 \pm 0,1702
	0,7771	0,330	2,9574	
Allesö	0,8372	0,256	2,1293	2,3560 \pm 0,2267
	0,8412	0,312	2,5827	

Graf 3: Obsah antokyánov obsiahnutý vo vybraných pestovaných odrodách bazy čiernej konzervovaných v chladničke pri teplote -18°C počas 3 rokov prepočítaných na vysušenú drogu

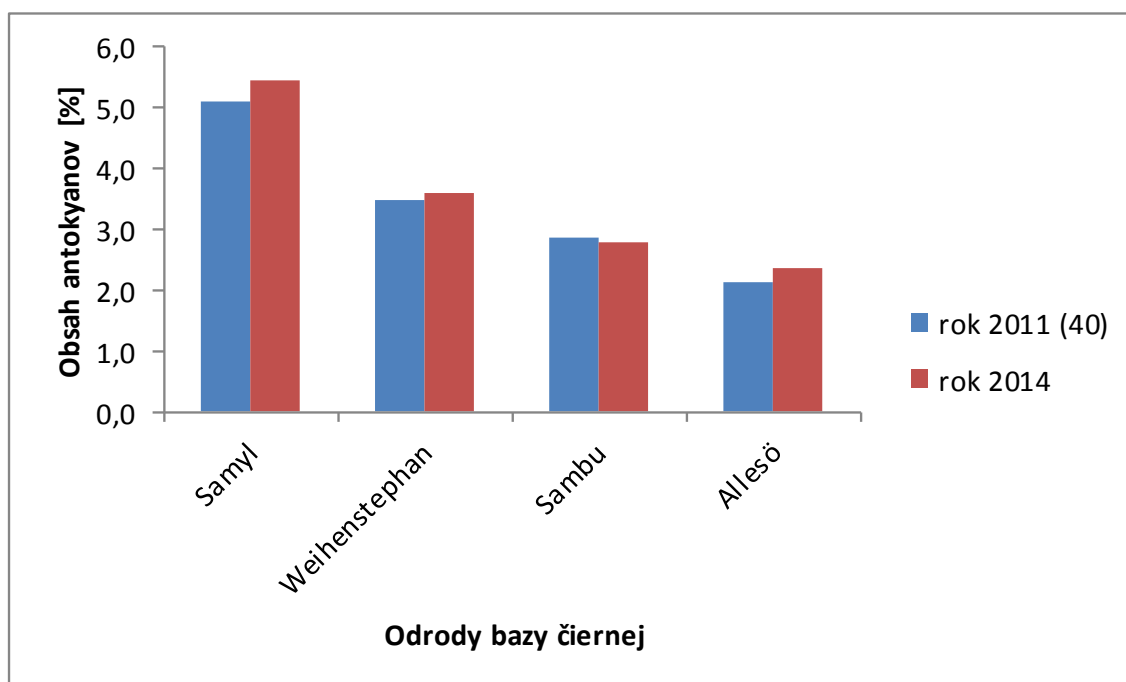


4.6.9.6 Porovnanie vplyvu času na obsah antokyánov plodov konzervovaných v mrazničke pri teplote -18°C počas 3 rokov

Tabuľka č.17: Obsah antokyánov plodov skladovaných v mrazničke pri teplote -18°C a stanovovaných v roku 2011 (40) a následne po ďalších 3 rokoch pri rovnakom spôsobe konzervovania.

Odrody bazy čiernej	c [%]	
	rok 2011 (40)	rok 2014
Samyl	5,0930	5,4421
Weihenstephan	3,4970	3,5896
Sambu	2,8770	2,7873
Allesö	2,1470	2,3560

Graf 4: Obsah antokyánov stanovovaných pred 3 rokmi v pestovaných odrodách bazy čiernej konzervovaných v mrazničke pri teplote -18°C (40) a obsah antokyánov stanovených opäť po uchovávaní ďalšie 3 roky v mrazničke pri teplote -18°C



4.7 DISKUSIA

Liečivé rastliny sa v ľudovom liečiteľstve používali už odpradáva. Vďaka obsahu telu prospešných látok a ich priaznivým účinkom na náš organizmus majú stále nezastupiteľnú úlohu v samoliečení. Použitie týchto rastlín sa však zväčša viaže na skúsenosti a rady našich rodičov a prarodičov bez znalosti mechanizmu ich účinku. Súčasná veda sa zaoberá skúmaním obsahových látok v liečivých rastlinách a snaží sa odhaliť mechanizmus ich účinku na ľudský organizmus.

Medzi významné liečivé rastliny patrí baza čierna (*Sambucus nigra* L.). Aj keď liekopisnou drogou je len kvet, *Sambuci nigrae flos* (3), v oficiálnom aj v ľudovom liečiteľstve sa používajú aj plody. Liečivé účinky plodov majú ich hlavné obsahové látky, medzi ktoré patria antokyány, flavonoidy a organické kyseliny (6). Ich obsah sa čiastočne líši podľa odrody (12). Pozberová úprava, teplota, vlhkosť, pH a svetlo majú zásadný vplyv na obsahové látky v plodoch (25).

Táto práca je zameraná na skúmanie zmien prebiehajúcich v rastlinách po zbere a poukazuje na dôležitosť správneho pozberového ošetrovania rastlín. Práca tiež informuje o možnostiach konzervácie rastlín.

Praktická časť sa zameriava na stanovenie fenolických látok v plodoch bazy čiernej nazbieraných v rôznych lokalitách Hradca Králové a konzervovaných za rôznych teplôt. Cieľom bolo zistiť vplyv teploty na obsahové látky v plodoch.

V plodoch po zbere sušených alebo zmrazených sa stanovoval celkový obsah fenolických látok reakciou s Folin-Ciocalteuovým činidlom (36). Obsah fenolických látok bol vypočítaný v % a bol počítaný ako ekvivalent kyseliny gallovej.

Princípom tejto metódy je reakcia činidla s fenolickými látkami pri tvorbe komplexných zlúčenín, ktoré sú detekované spektrofotometricky. Je to ľahká a pomerne rýchla metóda stanovenia obsahových látok. Nevýhodou je, že metóda nie je dostatočne špecifická a tak nie je možné stanoviť jednotlivé obsahové látky plodov, ako sú napr. antokyány. Avšak antokyány by sa v sušených plodoch kvôli ich metabolizácii nepodarilo stanoviť (36).

Ďalej sa práca zameriava na stanovenie obsahu antokyánov v plodoch konzervovaných v mrazničke počas 3 rokov pri teplote -18°C . V tomto prípade už nebol problém určiť

obsah antokyánov a stanovovanie prebiehalo podľa ČL 2009, článku *Myrtilli fructus recens* (39).

Je známe, že teplota spôsobuje degradačné zmeny obsahových látok. V antokyánoch vznikajú zlúčeniny typu 4-hydroxybenzoová kyselina, protokatechová kyselina a floroglucinaldehyd (25). Neznamená to ale, že tepelné zmeny vždy zhoršujú kvalitu. Naopak, pri niektorých produktoch bola pred a po zahriatí zaznamenaná vyššia antioxidačná aktivita. Pripisuje sa to vzniku látok, ktoré majú tiež antioxidačnú aktivitu (41).

Vyššia teplota pravdepodobne môže mať už negatívne následky. Viac je to známe z iných štúdií, (42,43) ale teplota pri sušení 60°C by mohla potenciálne už mať negatívne účinky.

Ako ukazujú výsledky stanovení obsahu fenolických látok (Tabuľka č.11 – 14, Graf 2), sú medzi plodmi z rôznych lokalít len malé rozdiely. Najvyšší obsah fenolických látok mali plody bazy čiernej nazbierané na Novom Hradci Králové, čo činilo približne 7,25 %. Najnižším obsahom disponovali plody nazbierané pri Harmónii a to 6,06 %. Plody nazbierané U Dvora obsahovali 6,36 % fenolických látok a plody nazbierané v Botanickej záhrade 6,16 % fenolických látok.

Experimentálne sa zistilo, že so zvyšujúcou teplotou obsah fenolických látok v droge klesá (Graf 2). Pri zvyšujúcej sa teplote sušenia sa v plodoch nameral nižší obsah fenolických látok. Čím bola teplota vyššia, tým bol obsah fenolických látok nižší. Najvyššie straty boli pri teplote 60°C (Tabuľka č.13, Graf 2).

Ďalej bola experimentálna časť zameraná na porovnanie obsahu antokyánov medzi plodmi jednotlivých odrôd bazy čiernej skladovaných v mrazničke pri teplote -18°C od r. 2011 (40) a na zistenie, či došlo k nejakej zmene od doby posledného stanovenia.

Zmrazené plody majú vysoký obsah vody, preto bolo potrebné stanoviť tiež stratu sušením (38) a prepočítať obsah antokyánov na vysušenú drogu.

Jednotlivé odrody sa líšili obsahom antokyánov (Tabuľka č.15 – 16, Graf 3). Najvyšším obsahom disponovala odroda Samyl, čo činilo 5,44%. Najnižší obsah mala odroda Allesö, čo bolo 2,36 %. Odroda Weihenstephan disponovala obsahom antokyánov 3,59 % a odroda Sambu 2,79 %.

Porovnaním obsahu antokyánov v plodoch zo zberu 2011 (40) s výsledkami po trojročnom skladovaní plodov v mrazničke (Tabuľka č.17, Graf 4) sa zistilo, že celkový obsah antokyánov v plodoch sa pri uskladnení v mrazničke časom nemení.

5 ZÁVER

Práca poukazuje na rôzne vplyvy, ktoré spôsobujú znehodnocovanie obsahových látok v plodoch. Snaží sa zistiť, ktoré spôsoby konzervácie zabraňujú znehodnocovanie liečivých obsahových látok v rastlinách.

V plodoch bazy čiernej bol sledovaný vplyv rôznych typov konzervovania na obsah účinných látok.

Teplota sušenia mala vplyv na obsahové látky fenolickej povahy. Plody konzervované pri zvýšenej teplote mali nižší obsah fenolických látok než plody konzervované sušením pri teplote miestnosti. Najvyšší obsah fenolických látok bol u plodov sušených pri teplote miestnosti, pohyboval sa v rozmedzí 6,16 % - 7,25 % v závislosti na lokalite zberu. Pri teplote 60°C bol obsah najnižší, pohyboval sa v rozmedzí 4,42 % - 5,13 % fenolických látok.

V plodov z pestovaných odrôd bazy čiernej konzervovaných zmrazením a po zbere 3 roky skladovaných pri teplote -18°C bol stanovený obsah antokyánov, vyjadrený v % cyanidín 3-O-glukozidu. Plody odrôd Samyl obsahovali 5,44 %, Sambu 2,79 %, Weihestephan 3,59 % a Allesö 2,36 %. Dlhodobým skladovaním plodov v mrazničke pri teplote -18°C sa obsah antokyánov nezmenil.

6 PREHLAD POUŽITEJ LITERATÚRY

- (1) *Sambucus nigra*. Integrated Taxonomic Information System: on-line database. 2015. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=35324 (20. 4. 2015)
- (2) Slavík B. a kol. Květena České republiky. Vyd. 5. Praha: Academia 1997; 504-506.
- (3) Tomko J. et al. Farmakognózia: učebnica pre farmaceutické fakulty. 2. vyd. Martin: Osveta 1999; 422 s.
- (4) *Sambuci nigrae flos*. Český lékopis 2009-Doplněk 2012. Praha: Grada Publishing 2009; 1503-1504.
- (5) Opletal L., Volák J. Rostliny pro zdraví. Vyd. 1. Praha: Aventinum 1999; 146-147.
- (6) Jirásek V., Starý F. Kapesní atlas léčivých rostlin. Praha: SPN 1986; 94 s.
- (7) Pogorzelski E. Formation of cyanide as a produkt of decomposition of cyanogenic glucosides in the treatment of elderberry fruit (*Sambucus nigra*). J. Sci. Food Agric. 1982; 33, 496-498.
- (8) Baloun J., Jahodář L., Leifertová I., Štípek S. Rostliny způsobující otravy a alergie. Praha: Avicenum 1989; 125s.
- (9) Baza čierna, http://sk.wikipedia.org/wiki/Baza_%C4%8Dierna (1. 3. 2015)
- (10) Kaplan J. Černý bez v produkčním ovocnářství-I. díl. Zahradnictví 2011; 10 (8), 12-13.
- (11) Volf K., Andrs F. Flavonoidy a jejich biologické působení. Praha: JuWital s.r.o. 2011; 2-3.
- (12) Veveřic R., Jerneja J., Stampar F., Schmitzer V. European elderberry (*Sambucus nigra*) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. Food Chem. 2009; 114, 511-515.
- (13) Hubík J., Dušek J., Spilková J., Šícha J. Obecná farmakognosie-II. Sekundární látky. 3 vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství 1989; 31-39.
- (14) Jordheim M., Giske N. H., Andersen O. M. Anthocyanins in Caprifoliaceae. Biochem. Syst. Ecol. 2007; 35, 153-159.

- (15) Kong J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 2003; 64, 923-933.
- (16) Li H. et al. Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. *Food Res. Int.* 2012; 46, 250-259.
- (17) Scobie H. A. Dietary hydroxycinnamic acids: Phase I and phase II metabolism (online). 2000; 1-106. <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/14199/1/MQ54178.pdf> (20. 4. 2015)
- (18) Hubík J., Dušek J., Spilková J., Šícha J. *Obecná farmakognosie-II. Sekundární látky*. 3 vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství 1989; 90-91.
- (19) Buhrmester R., Ebinger J., Seigler D. Sambunigrin and cyanogenic variability in populations of *Sambucus canadensis* L. (Caprifoliaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 2000; 28, 689-695.
- (20) Wichtl M. *Teedrogen und Phytopharmaka: Ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage*. 5. Vyd. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2009; 601-602.
- (21) Bühringová U. *Léčivé rostliny. Obsahové látky, zpracování, základní recepty*. 1.vyd. Praha: Euromedia Group, k.s. – Knižní klub 2010; 218-221.
- (22) Aghdam M. S., Sevillano L., Flores B. F., Bodbodak S. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*. 2013; 160, 54-64.
- (23) Šíma P., Trebichavský I. Stresové proteiny v imunitě. *Vesmír*. 1999; 78, s. 372.
- (24) Lubaretz O., Zur Nieden U. Accumulation of plant small heat-stress proteins in storage organs. *Planta*. 2002; 215, 427-448.
- (25) Patras A., Brunton N. P., O'Donnell C., Tiwari B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. 2010; 21, 3-11.
- (26) Oliveira C., Amaro L. F., Pinho O., Ferreira I. M. P. L. V. O. Cooked Blueberries: Anthocyanin and Anthocyanidin Degradation and Their Radical-Scavenging Activity. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58, 9006-9012.

- (27) Jimenez P. et al. Effects of Short-term Heating on Total Polyphenols, Anthocyanins, Antioxidant Activity and Lectins of Different Parts of Dwarf Elder (*Sambucus ebulus* L.). *Plant Foods for Human Nutr.* 2014; 69, 168-174.
- (28) Fernández-López J. A., Angosto J. M., Giménez P. J., León G. Thermal Stability of Selected Natural Red Extracts Used as Food Colorants. *Plant Foods for Human Nutr.* 2013; 68, 11-17.
- (29) Mulas M., Fadda A., Angioni A. Effect of maturation and cold storage on the organic acid composition of myrtle fruits. *J. Sci. Food Agric.* 2012; 93, 37-44.
- (30) Vakuové vymrazování. http://cs.wikipedia.org/wiki/Vakuov%C3%A9_vymrazov%C3%A1n%C3%AD (21. 4. 2015)
- (31) Šumić Z. M., Tepić A. N., Jokić S. D., Malbaša R. V. Optimization of frozen blueberry vacuum drying process. *Hemijska industrija.* 2015; 69, 77-84.
- (32) Tezotto-Uliana J. V., Berno N. D., Saji F. R. Q., Kluge R. A. Gamma radiation: An efficient technology to conserve the quality of fresh raspberries. *Sci. Horticultur.* 2013; 164, 348-352.
- (33) Satanina V., Kalt W., Astatkie T., Havard P., Martynenko A. Comparison of Anthocyanin Concentration in Blueberries Processed Using Hydrothermodynamic Technology and Conventional Processing Technologies. *J. Food Process Eng.* 2014; 37, 609-618.
- (34) Kaack K., Christensen L. P. Effect of packing materials and storage time on volatile compounds in tea processed from flowers of black elder (*Sambucus nigra* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 2008; 227, 1259-1273.
- (35) De Reuck K., Sivakumar D., Korsten L. Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality retention of two cultivars of litchi (*Litchi chinensis* sonn.). *J. Food Qual.* 2010; 33, 337-351.
- (36) Sánchez-Rangel J. C. et al. The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Anal. Methods.* 2013; 5, 5990-5999.

- (37) Stanovení tříslovin v rostlinných drogách. Český lékopis 2009-Doplněk 2012. Praha: Grada Publishing 2009; 378s.
- (38) Ztráta sušením. Český lékopis 2009-Doplněk 2012. Praha: Grada Publishing 2009; 158s.
- (39) *Myrtilli fructus recens*. Český lékopis 2009-Doplněk 2012. Praha: Grada Publishing 2009; 1452-1453.
- (40) Leharová E. Anthokyany v plodech vybraných kultivarů *Sambucus nigra* L. I. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Diplomová práce 2014.
- (41) Keppler K., Humpf H. U. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorg. Med. Chem.* 2005; 13, 5195-5205.
- (42) Howard L. R., Prior R. L., Liyanage R., Lay J. O. Processing and Storage Effect on Berry Polyphenols: Changes and Implications for Bioactive Properties. *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60, 6678-6693.
- (43) Arancibia-Avila P. et al. The influence of different time durations of thermal processing on berries quality. *Food Control* 2012; 26, 587-593.