

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOGNOSIE**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Anthokyany v plodech vybraných kultivarů
Sambucus nigra L. I.**

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Konzultant: Ing. Aleš Matějčík, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2014

EVA LEHAROVÁ

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala docentce Jiřině Spilkové, vedoucí mé diplomové práce, za její cenné rady, trpělivost, vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací a podkladů.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne 11. 4. 2014

1. Obsah

1. OBSAH	5
2. ÚVOD	7
3. CÍL PRÁCE	9
4. TEORETICKÁ ČÁST	10
4.1. <i>SAMBUCUS NIGRA L. – BEZ ČERNÝ</i>	10
4.2. PĚSTOVÁNÍ ČERNÉHO BEZU.....	11
4.2.1. <i>Pěstování bezu v České republice</i>	11
4.2.2. <i>Pěstování bezu v zahraničí</i>	12
4.3. OBSAHOVÉ LÁTKY PLODŮ.....	15
4.3.1. <i>Antokyany</i>	15
4.3.2. <i>Flavonoidy</i>	16
4.3.3. <i>Organické kyseliny</i>	16
4.3.4. <i>Cukry</i>	17
4.3.5. <i>Kyanogenní glykosidy</i>	17
4.3.6. <i>Další obsahové látky</i>	18
4.4. BIOLOGICKÉ ÚČINKY PLODŮ	20
4.4.1. <i>Antioxidační účinky (protiradikálová aktivita)</i>	20
4.4.2. <i>Chemoprotektivní působení</i>	22
4.4.3. <i>Kardiovaskulární systém</i>	23
4.4.4. <i>Hyperlipidemie, obezita, metabolický syndrom</i>	24
4.4.5. <i>Diabetes mellitus</i>	25
4.4.6. <i>Protizánětlivé a protiinfekční účinky</i>	26
4.4.7. <i>Astma</i>	28
4.4.8. <i>Chronická zácpa</i>	28
4.5. BIOLOGICKÁ AKTIVITA PRODUKTŮ Z PLODŮ	28
4.5.1. <i>Vliv zpracování plodů na biologické vlastnosti</i>	29
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
5.1. POUŽITÝ MATERIÁL	31
5.2. PŘÍSTROJE.....	31
5.3. POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	32

5.4.	POSTUP PŘI STANOVENÍ OBSAHU ANTOKYANŮ V PLODECH	32
5.5.	ZTRÁTA SUŠENÍM.....	33
6.	VÝSLEDKY	34
6.1.	OBSAH ANTOKYANŮ VE ZMRAZENÝCH PLODECH.....	34
6.2.	OBSAH ANTOKYANŮ PO PŘEPOČTENÍ NA VYSUŠENÉ PLODY	37
7.	DISKUSE.....	41
8.	ZÁVĚR	45
9.	ABSTRAKT	46
10.	ABSTRACT.....	48
11.	POUŽITÁ LITERATURA.....	50

2. ÚVOD

Černý bez byl jako léčivá rostlina využíván již léčiteli starého Řecka a Říma. O bezu a jeho účincích se ve svých dílech zmiňují takové významné osobnosti jako řecký filozof a vědec Theophrastos (asi 371-285 př.n.l) - ve svých spisech „O příčinách rostlinného života“ a „Historie rostlin“; dále řecký lékař Hippokrates (460 - asi 377 př. n. l.) či vědec a vojenský lékař Pedanius Dioskurides (asi 50 n. l.), který léčivé účinky bezu popisuje ve svém pětidílném díle o léčivých rostlinách „Materia medica“. [1]

Ve středověku byl bez považován za bylinu kouzelnou, čarovnou a někdy dokonce i posvátnou. O tom, do jaké míry byl ceněn, vypovídá i známé přísloví: „Před heřmánkem smekni, před bezem klekni.“ [2]

Svůj rozkvět zaznamenalo lidové léčitelství v době renesance, kdy byly léčivé rostliny podrobně studovány v zahradách kolem klášterů. Z této doby je možné zmínit jména jako Oto Brunfels, Leopold Fuchs a Hieronymus Bock. Zvláště o jedovaté látce obsažené v bezu se pak zajímal lékař a reformátor Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, známý jako Paracelsus (1493-1541). [1]

O černém bezu je pojednáno též v mnoha herbářích a bylinářích. Tento keř je uveden ve slavném Matthioliho herbáři (vydaný poprvé v Benátkách roku 1544), který byl do češtiny přeložen a upraven významným lékařem a přírodovědcem Tadeášem Hájkem z Hájku (1525?-1600). [3] Ve svém díle „Knieha lékarská, kteráž slove Herbář aneb Zelinář“ (vyšla v roce 1517 v Norimberku) se o něm zmiňuje lékař Jan Černý [4]. Ve starých herbářích ani v lidové léčbě nejsou zmiňovány plody (bezinky), ale především kůra, kořeny a květy. Podle tehdejších znalostí byla bezu připisována „přirozenost horká a suchá na druhém stupni“ vyhánějící chudokrevnost, obměkčující a otvírající průduchy. [3,4] Proti „vodnatelnosti“ využívá Matthioli odvar z kořene ve víně, s přidáním medu, puškvorce, zázvoru a růžových lístků. Kořen s kmínem vařený ve víně doporučuje též pro dobré trávení a proti zimnici. „Prostřední kůru“ pak radí přidávat do mastí na spáleniny, protože má hojivý účinek a „krotí“ bolest. Značné je též využití bezových listů. Ty se nechávají považet s nejrůznějšími bylinami a poté jsou použity například pro léčbu dny či odstranění otoků. [3]

Lidová medicína většinou přejímá údaje ze starých herbářů jak pro vnitřní, tak pro vnější aplikaci. U květů je využíván především jejich diaforetický a diuretický účinek. [5]

Využití plodů je novějšího původu. Ve starém lidovém léčitelství jsou pojednání o léčivém účinku plodů poměrně vzácná. Bezinky za syrova nejsou totiž příliš chutné a mnozí lidé je nesnášejí. [2] Ze zralých plodů se připravuje šťáva, víno, džemy, a to jak v domácnosti, tak průmyslově. [1] Znalost antineuralgických vlastností bezinek byla údajně poprvé zveřejněna pražským lékařem Epsteinem (začátek 20. století). [2] Dnes již víme, že plody bezu ovlivňují imunitní systém a mají též antivirotické účinky. Lidové léčitelství je doporučuje k mírnění revmatických bolestí či bolestí nervů. Šťáva působí též jako mírné projímadlo. [5]

I v současnosti je černý bez využitelný po mnoha stránkách. Poskytuje pro farmaceutické využití drogy *Sambuci nigrae flos* a *Sambuci fructus*, které se získávají sběrem z rostlin ve volné přírodě.

Z hospodářského hlediska je významné pěstování kulturních odrůd bezu černého a nejdůležitějším využitím je sklizeň plodů především pro zpracování v potravinářství. Nevýhodou bezinek je, že se mohou skladovat v čerstvém stavu velmi krátkou dobu, vydrží při teplotě 20 °C maximálně dva dny. [6] Proto se sklizené bezinky co nejdříve lisují, mrazí, suší či jinak zpracovávají. [7] Plody mají výrazný dietetický a nutriční význam. Zastoupení jednotlivých obsahových látek a aroma chutí výrobků z plodů se liší v závislosti na odrůdě či genotypu. V potravinářství jsou bezinky nejvíce využívány pro výrobu přírodních barviv, dále se zpracovávají na ovocné šťávy, vína či pálenky. Jsou též součástí ovocných směsí při výrobě džemů, ovocných čatní, povidel, sirupů a kompotů; sortiment výrobků v jednotlivých zemích, kde se bez pěstuje je velmi pestrý. Dřevo bezu může sloužit ke kultivaci houby Jidášovo ucho a vyrábí se z něj také hudební nástroje. Vyšlechtěné a značně variabilní kultivary bezů jsou pěstovány v okrasném zahradnictví. [6]

Diskutuje se možnost využití plodů z pěstovaných rostlin také ve farmacii.

3. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovit obsah antokyanů v plodech deseti vyšlechtěných kultivarů bezu černého (*Sambucus nigra* L.) a podat přehled nových poznatků o hlavních obsahových látkách a biologické aktivitě plodů.

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1. *Sambucus nigra* L. – bez černý

Bez černý je keř, případně strom vysoký 1,5 až 5 metrů, bohatě větvený, s dlouhými vodorovnými oddenky. Větve jsou v mládí lysé nebo roztroušeně krátce chlupaté, barvy zelenavé až šedozelené s početnými tmavými podlouhlými lenticelami. Starší větve jsou šedozelené až šedohnědé s nepravidelně rozbrázděnou borkou. Pupeny vejcovité se zelenými až červenohnědými šupinami, kryjící pupeny jen v dolní polovině. Mladé listy na vrcholu pupenu vyčnívají a často jsou na jaře poškozované mrazem. Listy lichozpeřené, čepel eliptická, vejčitá až obvejčitě eliptická; lístky kopinaté až vejčitě kopinaté, vzácněji eliptické, mnohdy asymetrické. Okraje mají lístky pilovitě zubaté, svrchní stranu olýsalou až lysou s barvou tmavozelenou, na spodní straně sivozelenou až šedavou. Jsou roztroušeně jemně chlupaté, především na žilkách, krátce řapíkaté, po rozemnutí nepříjemně páchnou. Květenství chocholičnaté, květy vonné, v hustých, mnohokvětých zpravidla 3-5ramenných plochých vrcholících. Koruna bílá nebo slabě nažloutlá, v průměru 6-9 mm, korunní cípy tupé. Plodenství nicí, peckovice kulovité, černé až černofialové. Variabilita v přírodě se projevuje především ve tvaru, velikosti a zbarvení listů, dále v barvě květů a velikosti květenství a semen. Taxonomická hodnota odchylek je ale pravděpodobně nízká, nanejvýš se jedná o variety.

V České republice je bez hojně rozšířený po celém území s výjimkou nejvyšších poloh. Vyskytuje se na okrajích lesů, pasekách, křovinatých porostech, ve světlých listnatých a lužních lesech, ale i podél komunikací, v obcích na sídlištích, podél zdí a plotů. Jedná se především o vlhké, humózní, na dusík bohaté, hluboké půdy; semena jsou roznášena na nejrůznější stanoviště. [8]

4.2. Pěstování černého bezu

Bez černý je rostlina mírného podnebného pásu, vyskytuje se ale i v subtropických oblastech. Je přirozeně rozšířen po větší části evropského kontinentu, nevyskytuje se v případě evropských zemí jen na Maltě a Kypru. Areál výskytu zasahuje částečně i do severní Afriky a západní Asie. Vyhovující přírodní podmínky nalézá též například v USA, Kanadě, Argentině, Austrálii, Japonsku či na Novém Zélandu. Z hlediska stanoviště se jedná o velmi přizpůsobivou rostlinu. Přirozeně preferuje teplejší oblasti s dostatečnou délkou vegetačního období a oslunění, ale lze se s ním setkat i na plně zastíněných stanovištích. Lépe mu vyhovují půdy humózní, s dobrou zásobou živin (hlavně dusíku), spíše neutrální nebo kyselé. Na druhou stranu se s ním můžeme setkat i na půdách chudých s výjimkou trvale zamokřených stanovišť a vysoce zásaditých půd. [6]

Pro cílené pěstování plodů jako ovoce (bezinky) je nejdůležitější množství srážek a jejich rozložení v době vegetace – v našich podmínkách je to 500 mm za rok. Fáze kvetení nastává v Česku v závislosti na lokalitě a genotypu v druhé polovině května až na začátku června, opylování není závislé na včelách. Vývoj plodů je rychlý, doba potřebná pro plné dozrání záleží na konkrétním genotypu. U nás se zralé plody sklízí od počátku srpna do poloviny října. [6]

4.2.1. Pěstování bezu v České republice

Přestože je na našem území černý bez původním ovocným druhem, donedávna se zde téměř nepěstoval. Podmínky pro pěstování jsou však po přírodní stránce vhodné na většině území. První výsadba u nás byla založena na střední Moravě před rokem 1990, neměla ale dlouhého trvání. V roce 2010 pak byla založena výsadba nedaleko jihomoravských Hustopečí, kde se pěstují dvě slovenské odrůdy. Další odrůdově stejně koncipovaná výsadba byla založena v roce 2011 poblíž Znojma. Co se týká odrůdové skladby, tržně dostupný sortiment je u nás slabý. Kulturní odrůdy bezu se oproti přirozeně se vyskytujícím bezům vyznačují vyššími výnosy. [7] Mají význam

především ekonomický – poskytují nepoměrně vyšší hektarové výnosy než bez planý. [9] Jednotlivé odrůdy se liší z hlediska výnosového potenciálu, křivky plodnosti, odolnosti dřevin, doby zrání, chemického složení plodů, schopnosti rovnoměrného dozrávání, sensorických vlastností, a také možností zpracování bezinek. [7] Na území České republiky nebyly vyšlechtěny žádné kulturní odrůdy bezu černého. [9] Šlechtěním a výzkumem odrůd černého bezu v našich podmínkách pro využití v ovocnářské praxi se zabývají pracovníci Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy, s.r.o..

Při výběru odrůd pro porovnávání v našich podmínkách byly upřednostňovány země původu s podobnými klimatickými charakteristikami – tedy Dánsko, Německo, Rakousko a Slovensko. [9]

První výsledky hodnocení fenologických znaků sedmnácti sledovaných odrůd bezu černého ukázaly rozdíly v ranosti odrůd. Nejdříve vykvetly odrůdy Sampo a Sambu, nejpozději Heidegg 13 a Aurea. Sklizňové zralosti dosáhly nejdříve odrůdy Sampo a Korsör, nejpozději naopak Albida a Bohatka. [10]

Prvotní zhodnocení hospodářských znaků plodů bezu černého také ukázalo rozdíly ve výnosovém potenciálu jednotlivých odrůd. Plodenství se lišila počtem a hmotností. V prvním roce po výsadbě vykázaly nejvyšší výnosový potenciál odrůdy Sambu a Weihenstephan, dále potom odrůdy Sampo, Haschberg a Allesö. [9] Ve výsledcích fenologických a hospodářských znaků lze po dosažení plné plodnosti předpokládat změny. [9, 10]

4.2.2. Pěstování bezu v zahraničí

Většina odrůd černého bezu používaná pro ovocnářské účely pochází z Rakouska a Dánska. Tyto země začaly v polovině dvacátého století jako první v Evropě selektovat přírodní genotypy a pěstovat černý bez v kulturách. V Rakousku je černý bez standardní ovocnou plodinou, která v současnosti zaujímá asi 10 % podílu všech sadů. V roce 2009 bylo sklizeno necelých 10 tisíc tun bezinek. Pěstují se zde ovocnářské odrůdy Donau či Haschberg - tato odrůda patří zároveň i mezi nejvíce pěstované v Evropě. Významnou zemí z hlediska pěstování bezu je Maďarsko. Zde se roční produkce pohybuje v množství 8 až 10 tisíc tun. V Německu převažují sady v bioprodukci, mezi odrůdy zde pěstované patří odrůda Mammut či Weihenstephan.

V Dánsku je pěstování složitější kvůli pozdějším termínům zrání, které korelují se sklizní jablek. Mezi odrůdy pěstované v této zemi patří mimo jiné Allesö, Sambu, Samdal, Sampo a Samyl. Na Slovensku jsou registrovány a tržně pěstovány čtyři odrůdy – mezi nimi Bohatka, Dana a Sambo. V nedávné době se černý bez začal komerčně pěstovat též v Polsku.

Mimo Evropu se pěstují odrůdy příbuzného bezu kanadského na významných plochách v Kanadě a USA.

Komplexní výzkum bezů probíhá stále především v Rakousku, Maďarsku, Německu, USA a Kanadě. [7]

Jedním z důvodů proč pěstovat černý bez je to, že plody z volně rostoucích bezů mohou pocházet z rostlin z blízkosti silnic, kde jsou vystaveny různým exhalátům. Zjistilo se, že znečištění pocházející z dopravního provozu významně ovlivňuje chemické složení čerstvých plodů bezu. [11] Plody sbírané poblíž cest se silnější dopravou měly nižší obsah flavonoidů a vyšší koncentrace chromu, železa, kadmia a mědi. Chemické složení plodů je tedy výrazně ovlivněno dopravou a závisí na místě sklizně. [11]

Při pěstování je možnost volby vhodných kultivarů např. s ohledem na další zpracování. Výběrem genotypů bezu nejvhodnějších pro přípravu šťávy se zabývali Kaack a kolektiv. [12] Cílem těchto experimentů bylo zjistit, jaké jsou možnosti zlepšení rozdílné kvality bezové šťávy. Ukázalo se, že obsah fenolických kyselin a flavonoidů v plodech, byl ovlivněn stádiem vývoje v době sklizně (fází zrání). Navíc byly zjištěny značné rozdíly ve výtěžnosti šťávy, jejích fyzikálně chemických vlastnostech jako zákal, rozpustná sušina, titrovatelné kyseliny, a v obsahu fenolických kyselin a flavonoidů v bezinkách různých genotypů bezu zpracovaných pektolýzou. Zdá se, že pektolýza nemá na výnos šťávy a obsah fenolických kyselin a flavonoidů v porovnání s neenzymatickým zpracováním významný vliv. [12]

Pro výběr kultivarů s vysokým obsahem antokyanů a rozpustné sušiny, které jsou nezbytné pro zpracování vysoce kvalitních ovocných koncentrátů, jsou za nejdůležitější parametry považovány především výnos plodů a hmotnost okolíků. [13] Při dvou srovnávacích experimentech s plody z 11 kultivarů bezu se ukázalo, že kultivary Allesö a Korsor mají nižší výnos, obsah antokyanů a hmotnost okolíků než kultivary Sampo a Samdal. Naopak obsah rozpustné sušiny byl u kultivaru Korsor

vysoký, u kultivaru Allesö nízký. Pěstováním kultivaru Sampo je možné získat vysoký výnos, středně velké okolíky, vysoký obsah antokyanů a střední obsah rozpustné sušiny. Při porovnávání výnosu a obsahu antokyanů není rozdíl mezi Sampo a Samdal nijak výrazný, kultivar Samdal má ale vyšší hmotnost okolíků a nižší obsah rozpustné sušiny a titrovatelných kyselin. [13]

Dva kultivary bezu (Albida a Dana) byly studovány a porovnávány s planě rostoucím bezem. Obsah cukrů v plodech byl určen gravimetricky, množství vitamínu C pomocí HPLC. Nejvyšší obsah cukrů (9,2 g na 100 g) i vitamínu C (26 g na 100 g) byl nalezen v kultivaru Dana, naopak nejnižších hodnot dosáhly tyto parametry v planě rostoucím bezu (7 a 12 g na 100 g). [14]



Obr. 1.: Plody odrůdy Haschberg, autor Ing. Aleš Matějček, Ph.D.

4.3. Obsahové látky plodů

Černý bez je jednou z „nejstarších“ léčivých bylin používaných již v tradiční lidové medicíně. Přesto je stále předmětem výzkumu, který se zabývá především chemickým složením rostliny a biologickými účinky obsahových látek.

Plody černého bezu jsou bohaté na cukry, organické kyseliny, antokyany a další polyfenoly. Bylo zjištěno, že zastoupení jednotlivých látek se liší v závislosti na konkrétním kultivaru bezu. [15]

Plody bezu černého obsahují především tyto látky:

4.3.1. Antokyany

Pro plody rodu *Sambucus* sp., které mohou být zbarvené od oranžové po černou, jsou bez ohledu na barvu plodů charakteristické deriváty cyanidinu. Konkrétně se jedná o cyanidin 3-*O*-(2"-*O*-xylosylglukosid)-5-*O*-glukosid, cyanidin 3-*O*-(2"-*O*-xylosyl-6"-*O*-*Z*-*p*-kumaroylglukosid)-5-*O*-glukosid a cyanidin 3-*O*-(2"-*O*-xylosyl-6"-*O*-*E*-*p*-kumaroylglukosid)-5-*O*-glukosid nebo deriváty cyanidinu obsahující xylózu. Celkem bylo nalezeno dvanáct druhů antokyanů. Kromě výše uvedených derivátů cyanidinu se jedná o 3-*O*-glukosid, 3-*O*-galaktosid, 3-*O*-(6"-*O*-arabinosylglukosid), 3-*O*-(6"-*O*-rhamnosylglukosid), 3-*O*-(2"-*O*-xylosyl-6"-*O*-rhamnosylglukosid), 3-*O*-(2"-*O*-xylosylgalaktosid), 3-*O*-(2"-*O*-xylosylglukosid) cyanidinu; k těmto derivátům navíc ještě 3-*O*-glukosidy pelargonidinu a delphinidinu. [19]

Plody *Sambucus nigra* jsou typické tím, že hlavním antokyanem je cyanidin 3-*O*-(2"-*O*-xylosylglukosid) a obsahují jen minimální množství cyanidinu 3-*O*-(2"-*O*-xylosylglukosid)-5-*O*-glukosidu (9%). Mezi analyzovanými druhy rodu *Sambucus* je pouze jen v *Sambucus nigra* přítomen cyanidin 3-*O*-glukosid. [19]

Běžně pěstovaný kultivar Haschberg obsahuje ve zralých plodech jen poměrně malé množství antokyanů (737 mg na 100 g čerstvé váhy). [15]

Porovnávací analýzou kultivarů Haschberg, Rubini, Selection 13, Selection 14 a Selection 25 byly identifikovány hlavní antokyany odvozené od cyanidinu : cyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid, cyanidin-3,5-diglukosid, cyanidin-3-sambubiosid, cyanidin-3-glukosid a cyanidin-3-rutinosid. [15] Všechny uvedené antokyany byly nalezeny i ve

studii zabývající se složením a obsahem antokyanů v plodech rostlin a zahrnující *Sambucus nigra*. [20] Z nalezených antokyanů byl nejhojněji zastoupen cyanidin-3-sambubiosid, který představoval více než polovinu všech nalezených antokyanů. Nejbohatší na antokyaniny byl kultivar Rubini, nejmenší zastoupení těchto sloučenin bylo zjištěno v Selection 14. [15]

Množství antokyanů je stejně jako v případě flavonoidů ovlivněno nadmořskou výškou, na rozdíl od flavonoidů však obsah antokyanů s nadmořskou výškou klesá. [18]

Ukázalo se také, že množství antokyanů je zřejmě závislé na odrůdě, ekologických standardech zemědělské techniky a částečně i na teplotě a množství slunečního záření. [20]

4.3.2. Flavonoidy

Ze skupiny flavonolů byly nalezeny mimo samotný kvercetin rovněž glykosidy kvercetin-3-rutinosid a kvercetin-3-glukosid. [15] Kvercetin-3-glukosid se vyskytuje i v dalším tmavém drobnoplodém ovoci. [16]

Při srovnávání plodů několika kultivarů bezu bylo nejvyšší množství flavonolů zjištěno v Selection 25, oproti tomu kultivar Haschberg obsahoval těchto flavonoidů jen průměrné množství. [15]

Ukázalo se ale, že plody z planě rostoucích rostlin mají obecně vyšší obsah fenolických látek než plody z pěstovaných rostlin. [17]

Ve studii provedené v Rakousku se zjistilo, že obsah fenolických sloučenin v květech a plodech planě rostoucích populací *Sambucus nigra*, je ovlivněn také nadmořskou výškou. [18] S rostoucí nadmořskou výškou bylo pozorováno zvyšování koncentrace flavonoidů a především flavonol-3-*O*-glykosidů s hydroxylovou skupinou vázanou na kruhu B. [18]

4.3.3. Organické kyseliny

Organické kyseliny jsou nejdůležitějším parametrem v procesu zpracování ovoce. [15] V plodech bezu byly nalezeny kyseliny citronová, jablečná, šikimová a fumarová. Ve všech odrůdách byla nejhojnější kyselina citronová. [15] Její obsah byl

stanoven ve studii zabývající se tmavým drobnoplodým ovocem na 0,83 g na 100 g; dále byla zjištěna přítomnost kyseliny chlorogenové. [16]

Co se týče celkového množství organických kyselin, nejbohatším z analyzovaných kultivarů byl kultivar Haschberg, který patří mezi nejběžněji pěstované odrůdy. [15]

4.3.4. Cukry

Z cukrů je obecně nejhojněji zastoupena fruktóza a glukóza, jen v malém množství se vyskytuje ještě sacharóza. [15] Jednou z nejbohatších odrůd na cukry se ukázala Selection 25, naopak nejběžněji pěstovaný Haschberg má obsah cukrů standardní. [15] To, že se koncentrace cukrů v drobnoplodém ovoci výrazně liší v závislosti na druhu, bylo prokázáno také při studiu zastoupení cukrů, organických kyselin a celkového množství fenolů ve 25 jak kultivovaných, tak i planě rostoucích druzích bobulovitých rostlin - mezi nimi *Sambucus* sp., dále například druhy rodu *Vaccinium*, *Rubus*, *Ribes*, *Fragaria* či *Aronia*. [17] Glukóza a fruktóza ale opět patřily mezi hlavní nalezené cukry. [17]

4.3.5. Kyanogenní glykosidy

Mezi produkty sekundárního metabolismu rostlin jsou řazeny kyanogenní glykosidy, které se vyskytují mimo jiné také v černém bezu. [21] Zjistilo se, že proces vzniku těchto látek je u rostlin značně různorodý. Jejich produkce závisí nejen na biosyntéze, ale i na přítomnosti či absenci degradačních enzymů. Předpokládá se, že pro rostlinu představují tyto látky součást obranného mechanismu před fytopatogeny. Pro všechny živočichy znamenají kyanogenní glykosidy potenciální nebezpečí kvůli jejich možné hydrolytické přeměně na kyanovodík (HCN). Jejich toxicita závisí na citlivosti druhu, na obsahu glykosidů v rostlině a množství produkce HCN.

V několika druzích rodu *Sambucus* sp. byl nalezen kyanogenní glykosid (*S*)-sambunigrin. V *Sambucus nigra* byl mimo to objeven ještě (*R*) – prunasin a dále metasubstituovaný (*R*) - holocalin a (*S*)-zierin. [22]

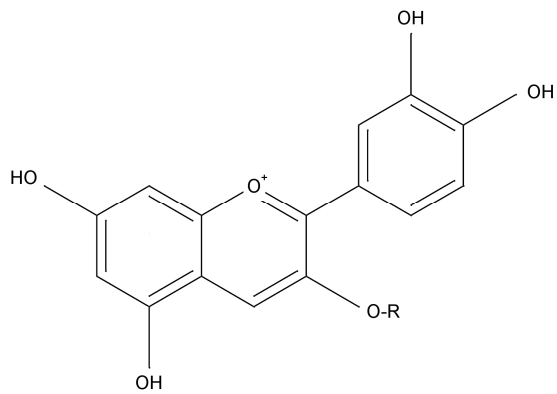
4.3.6. Další obsahové látky

Studie prováděná na planém bezu a šestnácti kultivarech bezu pěstovaného v České republice se zabývala důkazem a stanovením těkavých aromatických sloučenin obsažených v plodech a dále hledáním kultivaru s jejich nejvyšším obsahem. V analyzovaných vzorcích bylo nalezeno celkem 102 těkavých sloučenin, z toho 38 alkoholů, 16 aldehydů, 10 ketonů, 19 esterů, 4 heterocykly, 6 uhlovodíků a 9 kyselin. Nejčastějšími sloučeninami byly alkoholy, aldehydy a estery; naopak výrazně nižších koncentrací ($P < 0.05$) dosahovaly heterocykly a uhlovodíky. [23]

Zajímavou obsahovou látkou plodů černého bezu je melatonin. Tento původně živočišný hormon byl nalezen u mnoha rostlin. Vyznačuje se antioxidační aktivitou, schopností vychytávat volné radikály a aktivovat některé antioxidační enzymy. Předpokládá se proto, že konzumace melatoninu v jedlých rostlinách může mít prospěšné účinky na lidské zdraví. [24]

Plody dále obsahují silici (0,01%), vitaminy A, B₁, B₂, B₆ a C (0,03%), kyselinu listovou; třísloviny (3%), aminokyseliny, draslík, vápník a fosfor. [5]

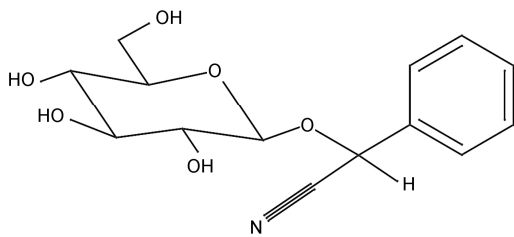
Chemická struktura vybraných obsahových látek:



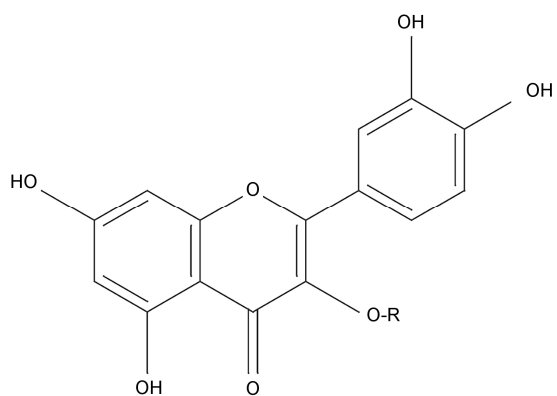
R - sambubiosa
- glukóza

cyanidin – 3 – sambubiosid
cyanidin – 3 – glukosid

Obr.2.: cyanidin



Obr.3.: sambunigrin



R - glukóza

quercetin – 3 – glukosid

Obr.4.: quercetin

4.4. Biologické účinky plodů

Plody černého bezu jsou v tradiční medicíně využívány pro léčbu zácpy, ke zvýšení diurézy, jako diaforetikum při onemocnění horních cest dýchacích, pro zmírnění bolesti zad a/nebo neuropatické bolesti, bolestí hlavy a zubů. [25] Pro aktualizaci údajů o farmakologických a klinických účincích bezinek byla provedena studie, která přezkoumávala dostupnou literaturu z několika elektronických databází. Následně shrnula údaje ze studií *in vitro*, experimentů na zvířatech a klinických studií na zdravých dobrovolnících i pacientech. [26] Rešerše ukázala slibné účinky plodů bezu (příznivý vliv na hladiny lipidů, centrálně tlumivý a analgetický účinek, mírný imunomodulační účinek) a podpořila další zkoumání využití plodů z hlediska preventivního i terapeutického. Poukázala však i na nutnost dalších údajů o bezpečnosti. [26] Konzumace bezinek může u dětí způsobit zvracení, u dospělých může být nevolnost či zvracení vyvoláno konzumací většího množství syrových, nedostatečně tepelně upravených plodů [27] (obzvláště při současné náhodné přítomnosti nezralých bezinek, listů nebo stonku). Toxické účinky jsou způsobeny lektiny a kyanogenními glykosidy (například sambunigrin), které jsou v gastrointestinálním traktu hydrolyzovány na volný kyanid. [28] Někteří lidé hlásili po inhalaci či kontaktu s květy nebo šťávou z květů symptomy astmatu a rinokonjunktivitidy. Alergické reakce na produkty z černého bezu jsou tedy možné, v literatuře ale nejsou zatím popsány. [26] Způsobeny jsou nejspíše toxickými proteiny lektiny, které se však zdají důležitými v antivirotickém a antiproliferativním působení bezu. [29,30]

4.4.1. Antioxidační účinky (protiradikálová aktivita)

U různých druhů malého bobulovitého ovoce (zahrnující plody černého bezu) byl zkoumán vliv antokyanů, flavonolů a fenolických kyselin na protiradikálovou aktivitu. Byla zjištěna významná korelace mezi obsahem těchto sloučenin a působením proti radikálům. Ze všech fenolů studovaných v této práci vykazovaly nejvyšší aktivitu antokyaniny. [31] Frakce bohatá na antokyaniny vykazovala 7-25 krát vyšší protiradikálovou aktivitu než frakce bohatá na flavonoly a fenolické kyseliny. K dalším

fenolickým sloučeninám s relativně silným vlivem na protiradikálovou aktivitu patřily u černého bezu deriváty kvercetinu a deriváty kyseliny kávové (kyselina chlorogenová). [31]

Antioxidační aktivita antokyánů je předmětem zájmu mnoha odborníků. Studie se zabývají především jejich působením proti peroxidaci lipidů a ochranou před volnými radikály.

Zvýšená akumulace volných radikálů je příčinou vzniku mnoha civilizačních onemocnění, mezi jinými například rakoviny a kardiovaskulárních chorob. Zdá se, že dostatečná konzumace antioxidantů, by mohla poskytovat ochranu před jejich škodlivým působením, které je zapříčiněno oxidativním poškozením biomolekul. Tímto problémem se zabývali odborníci z Prešovské university ve Slovenské republice. [32] Antioxidační aktivita plodů bezu a aronie byla stanovována spektrofotometricky pomocí DPPH+ metody. Antiradikálová hodnota SC_{50} byla u bezu 17.74. V jiné studii byla antioxidační aktivita lipofilních a hydrofilních látek měřena metodou ORAC_(FL), při níž se měří schopnost vychytávat kyslíkové radikály. [33] Zjistilo se, že jednotlivé druhy fenolických sloučenin mají na celkovou antioxidační aktivitu rozdílný vliv. U černého bezu jsou za antioxidační aktivitu zodpovědné pravděpodobně především antokyany. [33]

Zdůvodnění protektivních účinků antokyánů na zdraví navzdory nepříznivým farmakokinetickým vlastnostem [34] poskytly výsledky studie antioxidační aktivity na buněčných liniích rakoviny střeva u člověka (Caco-2), lidského kepatokarcinomu (HepG2), lidských endotelií (EA.hy926) a hladkého svalu u potkanů (A7r5). Při tomto výzkumu bylo poprvé dokázáno, že antokyany vykazovaly nitrobuněčnou antioxidační aktivitu, pokud byly aplikovány ve velmi nízkých koncentracích (<1 μ g/l; nM rozsah). [34]

Jako účinné antioxidanty v modelu peroxidace lipidů navozené Cu^{2+} ionty se projevíly cyanidin-3-glukosid, cyanidin a jejich metabolit (kyselina protokatechová) - tedy polyfenoly s orto-dihydroxy skupinovým uspořádáním v molekule. Polyfenoly s tímto uspořádáním chelatují Cu^{2+} ionty, což vysvětluje jejich vyšší efekt v tomto modelovém oxidačním systému ve srovnání s ostatními fenoly. Ve vztahu struktura - účinek hrají u sloučenin významnou roli také rozdíly ve schopnosti poskytovat vodík a míra rozdělení mezi lipidovou a vodnou fází. [35]

Ukázalo se také, že biologický účinek antokyanů se liší v závislosti na tom, zda se jedná o glykosid či aglykon (antokyanidin). V japonské studii se výzkumníci zabývali účinky cyanidinu a cyanidin-3-glukosidu na hladinu reaktivních forem kyslíku uvnitř buněk za použití čtyř nádorových buněčných linií a jedné normální. Zjistilo se, cyanidin měl ve srovnání s glykosidem mnohem výraznější efekt a na rozdíl od cyanidin-3-glukosidu redukoval hladiny reaktivních forem kyslíku u nádorů a inhiboval též proliferaci buněk. Z těchto výsledků vyplývá, že přítomnost cukru ve struktuře antokyanu ovlivňuje biologickou aktivitu. [36]

4.4.2. Chemoprotektivní působení

Bylo prokázáno, že antokyaniny mají určitý chemopreventivní potenciál, a to jak při studiích na buněčných kulturách, tak i na modelu zvířecích nádorových buněk. Omezené informace o tomto jejich působení jsou dostupné také z epidemiologických studií. Za chemopreventivní aktivitu je pravděpodobně zodpovědná kyselina protokatechová, jeden z nejčastějších metabolitů antokyanů. [37]

Protinádorovým působením antokyanů se zabývají mnohé studie. Při jedné z nich se zjistilo, že vývoj rakoviny jsou schopny zastavit lyofilizované bobulovité plody. [38] Zkoumal se jejich účinek na rakovinu jícnu, střeva, dutiny ústní a mléčnou žlázu u hlodavců. Studie předpokládá, že právě antokyaniny jsou těmi nejaktivnějšími protinádorovými sloučeninami z obsahových látek bobulí. Inhibice kancerogeneze je nejspíš způsobena omezením růstu pronádorových buněk, inhibicí angiogeneze a zánětlivé reakce, dále stimulací apoptózy, buněčné diferenciace a buněčné adheze. Studie ukazují široký vliv bobulí na genovou expresi. [38]

Ve stejné studii bylo dále zjištěno, že schopnost působit proti nádoru je podmíněna absorpcí aktivních sloučenin do cílové tkáně. Topická léčba orálních dysplázií ostružinovým gelem po dobu šesti týdnů snížila stupeň histologického nálezu až u padesáti procent lézí. Konzumace prášku z černého bezu (60 g denně) ve troše vody po dobu pouhých dvou až čtyř týdnů snížila proliferační index buněk Ki-67 u nádoru buněk střeva, které byly chirurgicky odebrány onkologickým pacientům. [38]

4.4.3. Kardiovaskulární systém

V epidemiologických a klinických studiích jsou polyfenoly jako obsahové látky bobulovitých plodů spojovány se snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění. Přestože jsou údaje zatím omezené, podporují využití bobulovitých plodů jako základní skupiny ovoce v rámci zdravého stravování. Intervenční studie prováděné na lidech ukázaly významné zlepšení u oxidace LDL cholesterolu, peroxidace lipidů, celkové antioxidační kapacity plazmy, dyslipidémie a metabolismu glukózy. Přínos byl pozorován jak u zdravé populace, tak u jedinců s již přítomnými rizikovými metabolickými faktory. Základní mechanismy těchto příznivých účinků nejspíše zahrnují upregulaci syntézy endoteliálního oxidu dusnatého (NO), snížení aktivity enzymů metabolizujících sacharidy, snížení oxidativního stresu a inhibici exprese prozáněťových genů a tvorby pěnových buněk. [39]

Výsledky některých studií však s protektivním účinkem antokyanů jako zástupců fenolických sloučenin zcela nekorespondují.

U 52 zdravých žen po menopauze byla provedena randomizovaná, paralelní, placebem-kontrolovaná studie zabývající se vlivem dlouhodobé konzumace antokyanů na biomarkery rizika kardiovaskulárních onemocnění a funkce jater a ledvin. [40] Dobrovolníci konzumovali denně 500 mg antokyanů ve formě glykosidů cyanidinu z černého bezu a to po dobu dvanácti týdnů. V krvi nalačno byly změřeny hladiny antokyanů a biomarkerů kardiovaskulárního rizika (zánětlivé markery, aktivita krevních destiček, hladina lipidů a glukózy) a dále funkce jater a ledvin (celkový bilirubin, albumin, urea, kreatinin, γ -glutamyl transferáza, alkalická fosfatáza, alanin aminotransferáza). Hodnoceny byly také antropometrické parametry, krevní tlak a tepová frekvence a navíc ještě postprandiální hladina antokyanů po podání bolusové dávky.

Po ukončení studie nebyla pozorována významná změna biomarkerů rizika kardiovaskulárních onemocnění, hodnoty jaterních a ledvinných funkcí zůstaly bez výrazných změn, nebyla pozorována žádná akumulace antokyanů v plazmě. Postprandiální metabolismus se však zvýšil ($P=0,02$). Tyto závěry ukazují, že dlouhodobá konzumace 500 mg extraktu z černého bezu denně po dobu dvanácti týdnů je sice bezpečná, ale v ovlivnění biomarkerů rizika kardiovaskulárních onemocnění u zdravých postmenopauzálních žen není efektivní. [40]

4.4.4. Hyperlipidemie, obezita, metabolický syndrom

V experimentu prováděném na křečcích krmných vysoce tučným rybím olejem byl zkoumán účinek extraktu z černého bezu na vyvolanou hyperlipidémií a zvýšený oxidativní stres. U křečků krmných zároveň rybím olejem i extraktem z bezu byl prokázán významný pokles hladin plazmatických a jaterních lipidů. Zaznamenán byl také antioxidační účinek. [41]

Systematická rešerše výsledků 77 studií prováděných na zvířatech i lidech zhodnotila účinnost a bezpečnost přírodní medicíny používané v léčbě obezity. [42] Ukázalo se, že konzumace přípravků s obsahem *Sambucus nigra* (šťáva z plodů obohacená extraktem z květů a tablety obsahující upráškované plody a výtažky z květů) vedla spolu s dalšími rostlinami (například *Asparagus officinalis*, *Cissus quadrangularis*, *Efedra*, kofein, *Slimax*) k výraznému úbytku váhy. Po skončení diety bylo kromě snížení průměrné hmotnosti prokázáno i snížení krevního tlaku a zlepšení fyzické a psychické pohody a celkové kvality života. Účinnost a snášenlivost dietního režimu byla většinou testovaných zhodnocena jako velmi dobrá nebo dobrá. Směsi obsahující uvedené složky by tedy mohly být efektivní pro zvládnutí obezity. Touto studií však nebylo stanoveno, zda k účinku diety přispívá některá konkrétní sloučenina. [43]

Ve studii prováděné s plody ostružin se zjišťovalo, zda je za modulaci exprese genů v játrech a snížení rizika obezity, zodpovědný cyanidin 3-*O*-beta-D-glukosid, tedy antokyanin obsažený i v plodech černého bezu. Ukázalo se, že konzumace plodů bohatých na tento derivát cyanidinu, má ochranný vliv před přibýváním na váze a rozvojem zánětu v modelu představovaném potkany s menopauzou navozenou ovariektomií. [44]

Při zkoumání mechanismu působení cyanidinu na regulaci lipidového metabolismu buněk bylo zjištěno, že se cyanidin váže na nukleární X receptory v játrech. Ty jsou zodpovědné za regulaci lipidového a glukózového metabolismu buněk (stimulace syntézy HDL a aktivace reverzního transportu cholesterolu). Současná zjištění ukazují, že cyanidin vyvolává transaktivaci těchto receptorů a jako ligand se váže na doménu alfa i beta. Stimulace cyanidinem navíc vede k redukci intracelulární koncentrace cholesterolu a triglyceridů v makrofázích. Dva metabolity cyanidinu (kyselina protokatechová a floroglucinal) už se na receptory přímo neváží, ani je

neaktivují. Zdá se, že cyanidin může, alespoň částečně, fungovat jako modulátor aktivity X receptorů v jaterních buňkách. [45]

Cyanidin vykazuje silnou antiaterogenní aktivitu *in vitro* i *in vivo*. Pro zjištění základního mechanismu jeho působení byla provedena analýza s cyanidinem a PPAR receptory, při které vyvolal cyanidin transaktivaci všech tří podtypů receptorů. Cyanidin se na receptory přímo navázal, nejvyšší afinitu vykazoval k receptoru alfa. Cyanidin významně snížil nitrobuněčnou koncentraci lipidů v tukových hepatocytech, navíc bylo zjištěno, že výsledky stimulace cyanidinem na metabolismus lipidů byly podobné těm, které jsou vyvolány hypolipidemicky působícími léky. Cyanidin pravděpodobně působí jako fyziologický agonista receptorů PPAR alfa a případně i PPAR beta/delta a gama a na základě ovlivnění genové exprese metabolismu lipidů snižuje koncentraci tuků v hepatocytech. [46]

4.4.5. Diabetes mellitus

Současné studie se zaměřují na mechanismus, jakým přírodní polyfenoly z černého bezu ovlivňují oxidativní stres u experimentálně navozeného diabetu mellitu a zároveň zlepšují stav u kardiovaskulárního poškození. [47]

Výsledky zkoumání účinku polyfenolů u onemocnění diabetes mellitus potvrdily, že polyfenolické sloučeniny redukují lipidové peroxidy, neutralizují peroxylové radikály a inhibují oxidaci LDL cholesterolu. Zároveň ukázaly, že polyfenolické sloučeniny snižují u potkanů riziko aterosklerózy na běžné hodnoty ve srovnání se skupinou neléčenou. U diabetické skupiny nechráněné polyfenoly byla v séru zjištěna i mnohem nižší aktivita enzymů glutathion-peroxidázy a superoxid-dismutázy. [48]

To, že by se černý bez mohl uplatnit jako součást terapie diabetu potvrzuje další studie. Vysoká hladina glukózy v důsledku diabetu zvyšuje oxidativní stres, což přispívá k patologickým změnám jater. Zjistilo se, že cyanidin-3-*O*-glukosid přítomný v *Sambucus nigra* zvyšuje syntézu glutathionu v játrech a tím chrání hepatocyty při hyperglykémii před působením reaktivních kyslíkových radikálů. [49] V experimentech prováděných na myších a na lidských HepG2 buňkách byl zkoumán přesný

mechanismus tohoto účinku a podařilo se popsat signální cestu, která je důsledkem působení cyanidin-3-*O*-glukosidu.

Ke stejným závěrům dospěla i další studie prováděná na potkanech s experimentálně navozeným diabetem. [47] Ta potvrdila, že ochrana polyfenoly vede k intenzivnější sérové aktivitě glutathion-peroxidázy, normálním koncentracím redukovaného glutathionu a poklesu lipidové peroxidázy v séru. Podáváním polyfenolů byly sníženy i hladiny prozáněťového interleukinu IL-1. [47]

Antioxidační účinek polyfenolů byl potvrzen i v další studii. [50] Ta se zabývala navíc ještě jejich působením na diabetickou osteoporózu u hyperglykemických potkanů. Vzhledem k jejich příznivému vlivu v této oblasti by podle studie mohl být extrakt polyfenolů z černého bezu doporučen jako potravinový doplněk při diabetické osteoporóze. [50]

4.4.6. Protizánětlivé a protiinfekční účinky

Léčivé rostliny a bylinné přípravky jsou již tradičně používány na léčení mnohých infekcí, především virových onemocnění. Bylo proto zjišťováno, zda má používání přírodní medicíny v těchto případech skutečně své opodstatnění.

Nejčastější infekční onemocnění západní civilizace představuje zánět horních cest dýchacích, který je z 90-95 % způsoben virem. Studie srovnávající třicet přípravků z dvaceti rostlin však ukázala, že zdaleka ne každý rostlinný přípravek, který deklaruje „protivirový“ účinek, tento efekt skutečně vykazuje. [51] Mezi sledovanými rostlinami byl *Sambucus nigra*, z dalších pak například *Menta piperita*, *Echinacea purpurea*, *Tilia* ssp. či *Pelargonium sidoides*. Nebyl zjištěn žádný významný účinek na rhinoviry a adenoviry, některé extrakty vykazovaly aktivitu jen proti konkrétním virům, proti jiným účinné nebyly. *Sambucus nigra* podle výsledků působí proti RSV virům, pouze slabý účinek pak vykazuje proti viru HSV. [51]

Jiná studie se zabývala účinností a bezpečností extraktu z černého bezu podávaného při léčbě chřipky způsobené chřipkovými viry A a B. [52] Nemocní pacienti, kteří dostávali sirup s bezovým extraktem, použili značně nižší množství úlevové medikace a symptomy chřipky u nich byly zmírněny v průměru o čtyři dny

dříve ve srovnání s placebo skupinou. Podle výsledků se zdá, že bezový extrakt nabízí účinnou, bezpečnou a cenově efektivní léčbu chřipky. [52]

Zjišťováno bylo také to, zda je černý bez účinný i proti bakteriální superinfekci, která může na chřipku nasednout a vést až k vážné pneumonii. Analyzován byl standardizovaný bezový vodný extrakt (Rubini, BerryPharma AG). Vodný extrakt vykazoval antimikrobní aktivitu proti G+ bakteriím *Streptococcus pyogenes*, skupině streptokoků C a G a dále G- bakterii *Branhamella catarrhalis*. Zároveň byl prokázán i inhibiční účinek na reprodukci patogenních lidských virů chřipky. Přípravek Rubini je tedy účinný nejen proti chřipkovým virům, ale působí i proti patogenním bakteriím. [53]

Studiem účinku koncentráту z černého bezu na růst bakterií a kvasinek se zabývali i jiní autoři. Ti zkoumali vliv bezu na růst typické gram negativní bakterie *Escherichia coli*, gram pozitivních bakterií *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* a kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Jejich výsledky však ukázaly, že černý bez má na růst *Escherichia coli* pouze mírný účinek, růst bakterie *Staphylococcus aureus* a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* dokonce nepatrně stimuloval. V této studii bylo dále zjištěno, že inhibiční efekt zřejmě nevykazují antokyany, ale jiné sloučeniny obsažené v koncentrátu. [54]

Některé bylinné přípravky prodávané jako doplňky stravy slibují stimulační vliv na imunitní systém. Zda tento efekt skutečně vykazují, se zkoumalo i na třech různých přípravcích obsahujících černý bez (*Sambucol*). [55] V průběhu experimentu se ve srovnání s kontrolou zvýšila produkce pěti cytokinů – hlavních komponent imunitního systému. To ukazuje, že černý bez obsažený v přípravku *Sambucol*, by skutečně mohl působit jako účinné imunostimulans. Tohoto účinku může být využito nejen v terapii chřipky, jak je už známo z jiných výsledků, ale stimulační vliv na imunitní systém by se mohl uplatnit i u imunokompromitovaných pacientů s rakovinou či AIDS, kteří podstupují chemoterapii nebo jinou léčbu. [55]

Jiná studie ukázala, že antokyany inhibují aktivaci jaderného faktoru kappa-B v monocytech a redukují plazmatické koncentrace prozáněťových mediátorů (chemokinů, cytokinů) u zdravých dospělých. Suplementace antokyany tedy může hrát roli v prevenci a léčbě chronických zánětlivých onemocnění. [56]

4.4.7. Astma

Ve studii prováděné na modelu astmatu u myší se ukázalo, že antokyany inhibují zánět a hyperreaktivitu dýchacích cest. [57] Podáváním antokyanů byly v závislosti na dávkovacím režimu zeslabeny všechny experimentálně navozené astmatické projevy jako eozinofilie, zvýšení lipidových hydroperoxidů v bronchoalveolární tekutině, zvýšení glykoproteinů v hlenu a zvýšení exprese různých cytokinů a cyklooxygenázy 2 (COX-2) v plicích. Zdá se, že antokyany zmírňují příznaky astmatu downregulací Th2 cytokinů, prozáněťových cytokinů a COX-2 a jako doplňky stravy tedy mohou mít příznivý účinek v prevenci tohoto onemocnění. [57]

4.4.8. Chronická zácpa

Laxativní účinky bezu nebyly podrobněji testovány, i když se bez lidově jako mírné projímadlo používá. Laxativní efekt čajové směsi obsahující *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Cassia angustifolia* a *Sambucus nigra* a užívané hojně v Brazílii byl hodnocen v randomizované klinické studii. Studie čítala dvacet pacientů s chronickou zácpou podle kritérií Americké Asociace Gastroenterologie. Výsledky této kontrolované studie ukazují, že hodnocená fytoterapeutická směs má laxativní účinek a může být použita jako bezpečná alternativa léčby zácpy. [58]

4.5. Biologická aktivita produktů z plodů

Mnoho studií se zabývalo antioxidační aktivitou potravin a potravních doplňků z plodů i květů *Sambucus nigra*. Antiradikálová aktivita vybraných vzorků byla stanovena metodou využívající DPPH+. Na antioxidační aktivitě džusu z čerstvých plodů se nejméně podílely antokyany (10,2 %), hlavními aktivními skupinami byly katechiny a fenolové kyseliny. [59]

Koncentrát z černého bezu patřil společně s produkty z aronie a černého rybízu k nejbohatším co do celkového obsahu fenolických sloučenin (antokyany, flavonoly, hydroxyskořicové kyseliny a jejich deriváty, stilbenoidy a fenoly). Prokázal též nejsilnější antioxidační kapacitu *in vitro*. Z tohoto hlediska jde o významnou surovinu při vyvíjení takzvaných funkčních džusů. [60]

Antioxidační potenciál vína z černého bezu se pohybuje v rozsahu červeného vína a úzce souvisí s celkovým obsahem fenolických sloučenin. Nejhojnějšími fenoly v bezovém víně byly antokyany, které jsou zodpovědné za barevný odstín vína. Jejich obsah ovšem významně klesal se stárnutím produktu. Skladováním byl rovněž ovlivněn celkový obsah fenolů a antioxidační potenciál – u vína bezového i červeného byl zaznamenán pokles. [61]

Práškový extrakt z plodů (standardizovaný na obsah 10 % antokyaninů vyjádřeno jako cyanidin-3-glukosid) vykazoval vysokou antioxidační aktivitu stanovenou *in vitro* fotochemiluminiscenční metodou. [62]

S ohledem na využití v potravinářství byla zjišťována také toxicita extraktu z plodů metodou využívající působení na meristem z kořínků *Allium cepa*. Vodný roztok vykázal mutagenní aktivitu při použití koncentrace 1 g na 100 ml po dobu 48 hodin. V nízké koncentraci (0,1 g na 100 ml) mutagenní účinek pozorován nebyl a hodnocený extrakt byl doporučen pro využití v potravinářství. [62]

4.5.1. Vliv zpracování plodů na biologické vlastnosti

Na bioaktivní vlastnosti polyfenolů má vliv zpracování a skladování bobulovitých plodů. Obsahové látky plodů - antokyany a třísloviny jsou během zpracovávání náchylné k rozkladu, nejvyšší ztráty jsou způsobeny již mechanickým odstraněním slupky a semínek. [63]

Významný vliv na kvalitu má také teplota a délka tepelného zpracování bobulovitých plodů. Vodný extrakt byl vystaven rozdílné délce tepelného zpracování (10, 20, 40 a 60 minut) a srovnán se vzorky tepelně nezpracovanými. Ukázalo se, že tepelné zpracování významně ovlivňuje kvalitu plodů, například antioxidační aktivita zůstávala zachována pouze při tepelném zpracování trvajícím deset či dvacet minut. [64]

Antokyany přítomné v bezu jsou široce využívány pro zbarvení potravin. [65] S kultivarem bezu Haschberg byly prováděny studie s cílem zjistit stabilitu antokyanů černého bezu za různých okolností (tepelné zpracování při rozdílném pH a teplotě). Výsledky odhalily, že antokyany reagují citlivě na zvýšení pH a teploty. [65]

V průběhu zpracování šťávy je nezbytné vyhnout se vhodnými kroky ztrátám biologicky aktivních látek způsobených oxidací. Důležité je omezit kontakt ovoce se vzduchem a zabránit dokonce i nízké hladině kyslíku ve šťávě. Během sledování interakce vitamínu C a flavonoidů ve třinácti kultivarech černého bezu v průběhu zpracovávání na džus se zjistilo, že čištění šťávy v prostředí N₂ a/nebo přidání kyseliny askorbové snížilo rychlost oxidační degradace dvou hlavních antokyanů a flavonoidu kvercetin. Kyselina askorbová chránila před oxidační degradací antokyany, kvercetin však ne. Zlepšení nutriční hodnoty džusu z černého bezu a zvýšení ochrany antokyanů před oxidační degradací by mohlo být dosaženo selekcí vhodných kultivarů bezu s vyšším obsahem kyseliny askorbové. [66]

K degradaci antokyanů a procyanidinů dochází též v průběhu skladování již zpracovaných produktů za běžné teploty. Rozklad je doprovázen zvýšením polymerních pigmentů, ke kterému dochází nejspíš přeměnou antokyanů a procyanidinů, avšak konečný osud antokyanů zůstává dosud nejasný.[63]

Při zpracování bezové šťávy na „marmeládu“ může být zničeno až 90 % antioxidačně aktivních sloučenin. [63]

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1. Použitý materiál

V experimentální části byl stanoven obsah antokyanů v plodech deseti kultivarů bezu černého (*Sambucus nigra* L.). Plody byly získány z rostlin pěstovaných ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském Holovousy s.r.o., rok sběru 2011. Plody byly ihned po sběru zamrazeny, ve zmrazeném stavu dodány a v této podobě po celou dobu skladovány. Před provedením analýzy nebyly rozmrazeny, pomocí pinzety byly pouze odstraněny případné drobné zbytky lístečků a větviček, poté byly plody mechanicky rozdrceny v laboratorní třence.

Plody pocházely z těchto odrůd *Sambucus nigra* :

Allesö

Bohatka

Haschberg

Mammut

Sambo

Sambu

Samdal

Sampo

Samyl

Weihenstephan

5.2. Přístroje

Analytické váhy Kern (Německo)

Spektrofotometr Shimadzu (Japonsko)

Ultrazvuková lázeň Bandolin Sonorex (Německo)

5.3. Použité chemikálie

Methanol p. a., Penta, Chrudim, ČR

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

5.4. Postup při stanovení obsahu antokyanů v plodech

Stanovení antokyanů bylo provedeno postupem dle Českého lékopisu 2009, článek *Myrtylli fructus recens*. [67] Použity byly zmrazené plody bezu černého. Stanovení se provádělo na 3 navážky vzorku.

Příprava měřeného roztoku

Asi 5,00 g zmrazených plodů zbavených stopek se smíchalo s 95 ml methanolu a extrahovalo se za obyčejné teploty 30 minut na ultrazvukové lázni. Poté se zfiltrovalo do 100,0 ml odměrné baňky. Filtr se promyl methanolem a výluh se doplnil methanolem na 100,0 ml. Z tohoto výluhu se odebral 1 ml zkoušeného roztoku a připravilo se padesátinásobné zředění ve směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové a methanolu R (1+999).

Měření absorbance

Absorbance připraveného roztoku byla měřena při 528 nm za použití směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a methanolu R (1+999) jako kontrolní tekutiny. Z naměřených hodnot se vypočítal obsah antokyanů v procentech.

Vzorec pro výpočet obsahu antokyanů

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

A absorbance zkoušeného roztoku při 528 nm

m hmotnost zkoušené drogy v g

718 specifická absorbance cyanidin-3-*O*-glukosid-chloridu při 528 nm

Výsledky stanovení obsahu antokyanů jsou uvedeny v tabulkách 2 - 22 a grafech 1 - 2. Obsah antokyanů počítáno jako cyanidin 3-*O*-glukosid-chlorid byl zjištěn v plodech zmražených a přepočten na plody vysušené.

5.5. Ztráta sušením

Stanovení bylo provedeno postupem dle Českého lékopisu. [67] Ztráta sušením je ztráta hmotnosti vyjádřená v hmotnostních procentech (*m/m*). Navážka zmražených plodů byla sušena v sušárně do konstantní hmotnosti, výsledná hodnota je průměrem ze 3 stanovení.

Výsledky jsou v tabulce 1.

Tab. 1.:

Vzorek	Navážka plodů [g]	Ztráta sušením [%]	Obsah sušiny [%]
Samdal	10,0921	82,1	17,9
Mammut	10,0689	82,7	17,3
Sambo	10,0966	85,8	14,2
Sambu	10,0286	84,8	15,2
Sampo	10,2207	83,4	16,6
Allesö	10,1789	83,9	16,1
Samyl	10,1277	84,5	15,5
Bohatka	10,0468	81,9	18,1
Haschberg	10,0668	82,1	17,9
Weihenstephan	10,0792	81	19

6. VÝSLEDKY

6.1. Obsah antokyanů ve zmrazených plodech

Tab. 2.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Weihenstephan

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	5,0516	0,494	0,681	0,664	0,011
2	5,0681	0,486	0,668		
3	5,0478	0,467	0,644		

Tab. 3.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Samyl

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	4,9911	0,542	0,756	0,789	0,018
2	5,0151	0,589	0,818		
3	4,9901	0,569	0,794		

Tab.4.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Sambu

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	4,9944	0,288	0,402	0,437	0,018
2	4,9210	0,319	0,451		
3	4,9751	0,328	0,459		

Tab. 5.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Sampo

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	4,9840	0,366	0,511	0,492	0,015
2	4,9586	0,358	0,503		
3	4,9791	0,331	0,463		

Tab. 6.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Haschberg

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	4,9572	0,360	0,506	0,581	0,040
2	5,0398	0,432	0,597		
3	4,9657	0,457	0,641		

Tab. 7.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Sambo

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	5,0033	0,337	0,469	0,451	0,023
2	5,0800	0,296	0,406		
3	5,0243	0,345	0,478		

Tab. 8.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Allesö

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	5,0259	0,229	0,317	0,352	0,021
2	5,0042	0,251	0,349		
3	5,0206	0,281	0,390		

Tab. 9.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Mammut

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	4,9379	0,381	0,537	0,530	0,004
2	5,0163	0,381	0,529		
3	4,9939	0,376	0,524		

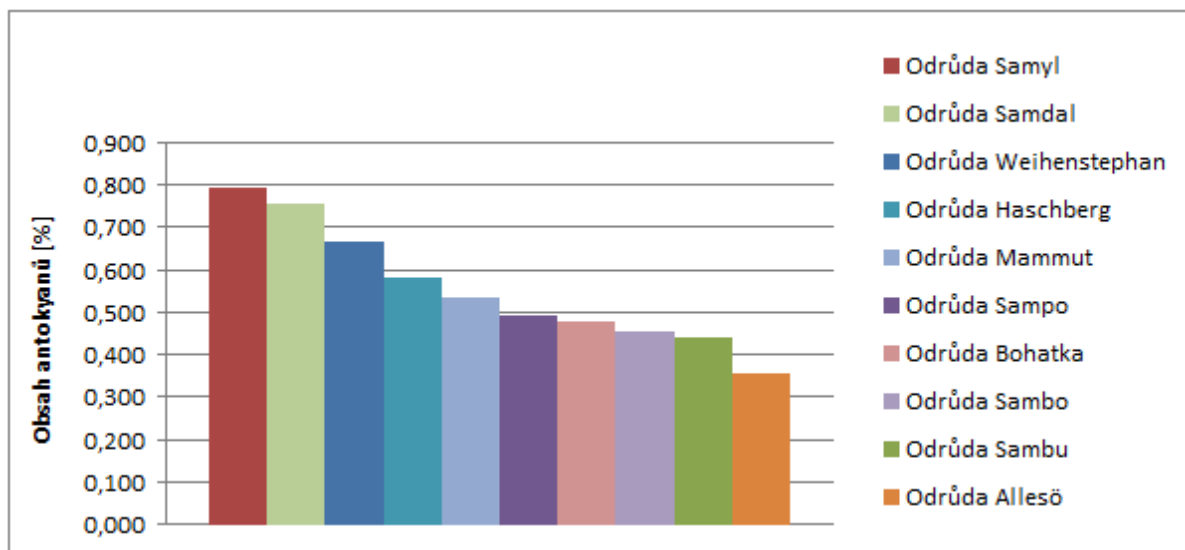
Tab. 10.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Bohatka

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	5,0120	0,324	0,450	0,476	0,018
2	5,0531	0,371	0,511		
3	5,0211	0,337	0,467		

Tab. 11.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech – odrůda Samdal

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	5,0134	0,553	0,768	0,752	0,012
2	5,0158	0,525	0,729		
3	5,0092	0,547	0,760		

Graf 1.: Obsah antokyanů ve zmrazených plodech vybraných pěstovaných odrůd bezu černého.



6.2. Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody

Tab. 12.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Weihenstephan

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,9598	0,494	3,584	3,497	0,057
2	0,9629	0,486	3,515		
3	0,9591	0,467	3,391		

Tab. 13.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Samyl

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,7736	0,542	4,879	5,093	0,116
2	0,7773	0,589	5,277		
3	0,7735	0,569	5,123		

Tab. 14.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Sambu

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,7591	0,288	2,642	2,877	0,119
2	0,7480	0,319	2,970		
3	0,7562	0,328	3,020		

Tab. 15.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Sampo

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,8273	0,366	3,081	2,966	0,090
2	0,8231	0,358	3,029		
3	0,8265	0,331	2,789		

Tab. 16.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Haschberg

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,8873	0,360	2,825	3,247	0,222
2	0,9021	0,432	3,335		
3	0,8889	0,457	3,580		

Tab. 17.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Sambo

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,7105	0,337	3,303	3,176	0,160
2	0,7214	0,296	2,857		
3	0,7135	0,345	3,367		

Tab. 18.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Allesö

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,8242	0,229	1,935	2,147	0,128
2	0,8207	0,251	2,130		
3	0,8234	0,281	2,377		

Tab. 19.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Mammut

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,8543	0,381	3,106	3,065	0,022
2	0,8678	0,381	3,057		
3	0,8639	0,376	3,031		

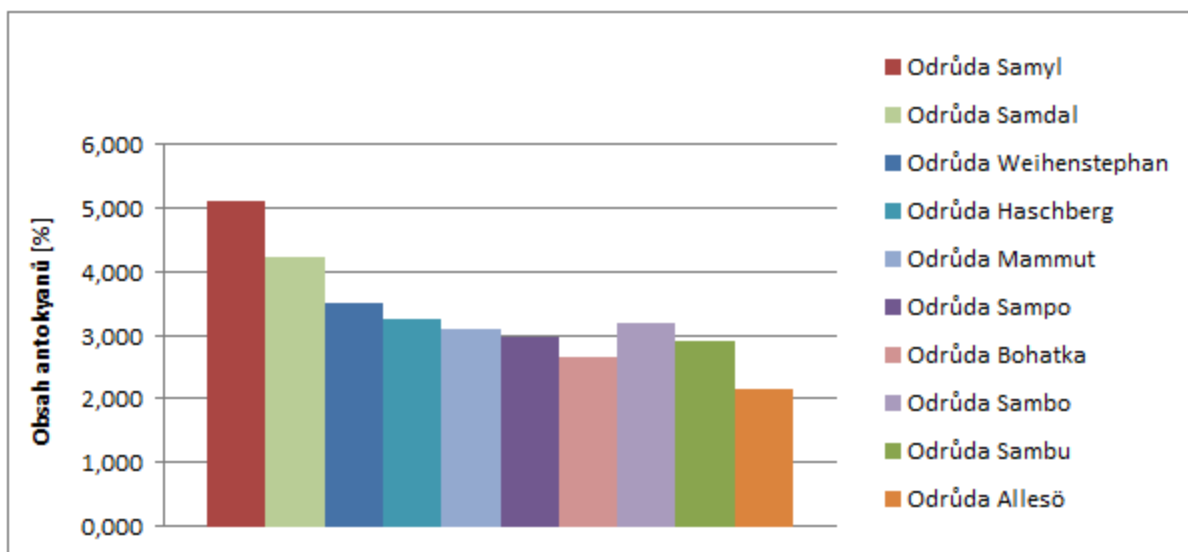
Tab. 20.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Bohatka

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,9072	0,324	2,487	2,631	0,101
2	0,9146	0,371	2,825		
3	0,9088	0,337	2,582		

Tab. 21.: Obsah antokyanů po přepočtení na vysušené plody – odrůda Samdal

n	m [g]	A [-]	obsah antokyanů [%]	\bar{x}	s
1	0,8974	0,553	4,291	4,204	0,067
2	0,8978	0,525	4,072		
3	0,8966	0,547	4,248		

Graf 2.: Obsah antokyanů v plodech vybraných pěstovaných odrůd bezu černého přepočtený na vysušenou drogu.



Tab. 22.: Obsah antokyanů v plodech zmrazených a po přepočtení na plody vysušené

Odrůda	Sušina [%]	Obsah antokyanů [%] ve zmrazených plodech	Obsah antokyanů [%] po přepočtení na vysušené plody
Samyl	15,5	0,79±0,02	5,1±0,2
Samdal	17,9	0,75±0,02	4,20±0,07
Weihenstephan	19	0,66±0,02	3,50±0,06
Haschberg	17,9	0,58±0,04	3,2±0,3
Mammut	17,3	0,530±0,004	3,07±0,03
Sampo	16,6	0,49±0,02	2,97±0,09
Bohatka	18,1	0,48±0,02	2,6±0,2
Sambo	14,2	0,45±0,03	3,2±0,2
Sambu	15,2	0,44±0,02	2,9±0,2
Allesö	16,4	0,35±0,03	2,1±0,2

7. DISKUSE

Lidové léčitelství využívá příznivé účinky nejrůznějších bylin na lidské zdraví již od nepaměti. Léčivé rostliny jsou v dnešní medicíně využívány stále, i když v menší míře. Jejich používání navazuje v mnoha případech na tradiční využití bez znalosti přesného mechanismu působení. Teprve současná věda se snaží odhalit příčiny léčebného účinku, identifikovat jednotlivé účinné látky a objasnit mechanismus jejich působení.

K hojně využívaným léčivým bylinám patří černý bez (*Sambucus nigra* L.). Lékopisnou drogou je sice pouze květ *Sambuci nigrae flos*, v lidové i současné medicíně jsou však využívány i plody - obecně známé jako bezinky, které poskytují drogu *Sambuci fructus*. V lidovém léčitelství se dříve ojediněle používala i kůra a listy.

Léčebné účinky plodů jsou předmětem zájmu odborníků spíše až v současné době. Dříve sloužily především jako surovina pro výrobu bezinkového vína, kompotů, džemů a sirupů, čehož se využívá i dnes. Zároveň se ale ukazuje, že obsahové látky plodů vykazují mnoho biologických účinků. Mezi nejdůležitější sloučeniny obsažené v bezinkách patří antokyany, flavonoidy a organické kyseliny. V popředí zájmu odborníků stojí především jejich antioxidační aktivita, příznivý vliv na zdraví kardiovaskulárního systému, účinky protizánětlivé, antiinfekční a mnohé další. Odborníci se v současné době zaměřují na konkrétní aktivní sloučeniny, mechanismus jejich působení a možnosti zvýšení příznivých účinků na člověka.

Nejdůležitější skupinou obsahových látek plodů jsou antokyany. Antokyany mají společný biogenetický původ s flavonoidy a patří mezi rostlinné polyfenoly. Jedná se o barviva zodpovědná za charakteristická zbarvení květů, plodů a listů rostlin, zeleniny a ovoce (především bobulí). V ovoci, zelenině a červeném víně jsou velmi široce rozšířeny. [37] Průzkum prováděný ve Spojených státech v roce 2012 ukázal, že denní příjem antokyanů ve stravě tamních obyvatel představuje přibližně 200 mg, to znamená asi devětkrát více, než například příjem flavonoidů. [37]

Antokyany jsou hlavními obsahovými látkami i dalších rostlin s bobulovitými plody. Mezi ně patří například plody aronie, borůvky, černého rybízu, maliníku nebo jahodníku. [16, 17, 20]. Antokyany se vyskytují jako glykosidy, což je forma považovaná obvykle za biologicky nedostupnou. [68] Byla proto provedena studie

zabývající se biodostupností a farmakokinetikou antokyanů u člověka. Ve vzorcích plazmy i moči byla glykosidická forma skutečně detekována. Dosažené výsledky by tedy mohly vyvrátit předpoklady, že antokyaniny nejsou u lidí v nezměněné glykosidické formě absorbovány. [68] Ve studii prováděné na potkanech byl posuzován i vliv bakterií střevní mikroflóry na metabolismus cyanidin-3-glukosidu. [69] V přítomnosti střevních bakterií byla v exkretech pozorována vyšší koncentrace fenolických kyselin než u potkanů bezmikrobních. Jejich přítomnost by mohla přispívat k předpokládanému pozitivnímu vlivu cyanidin-3-glukosidu na zdraví. [69]

Zdá se, že za pozorovanou antioxidační aktivitu a jiné fyziologické účinky *in vivo*, mohou být zodpovědné fenolické kyseliny a/nebo jiné, zatím neidentifikované, metabolity antokyanů díky své vyšší chemické a mikrobiální stabilitě. [70]

Bylo zjištěno, že zastoupení jednotlivých obsahových látek se liší v závislosti na konkrétním kultivaru bezu. [15] V současné době již bylo vyšlechtěno mnoho odrůd, které se liší množstvím jednotlivých obsahových látek a tím i biologickými účinky.

Zjištění množství antokyanů v plodech z odrůd bezu pěstovaných v ČR na pozemcích VŠÚO Holovousy s.r.o. bylo předmětem mé práce. Zabývala jsem se stanovením obsahu antokyanů v plodech deseti vyšlechtěných kultivarů bezu černého (*Sambucus nigra* L.). Stanovení bylo provedeno spektrofotometricky ve výluhu připraveném ze zmrazených plodů. Obsah antokyanů byl vyjádřen v procentech, počítáno jako cyanidin-3-*O*-glukosid-chlorid. Pro stanovení jsem aplikovala metodu, kterou uvádí lékopis [67] při stanovení obsahu antokyanů v čerstvých plodech borůvky. Extrakce probíhala methanolem 95% za obvyčejné teploty v ultrazvukové lázni. Stabilita výluhu byla zajištěna okyselením HCl. Obsah antokyanů byl vyjádřen v % a počítán jako cyanidin-3-*O*-glukosid. Je to jeden z pěti hlavních glykosidů nacházejících se v plodech bezu. [71]

Výsledky stanovení potvrdily závěry jiných autorů [15, 19, 20], že obsah antokyanů v plodech se liší v závislosti na konkrétním kultivaru bezu. Nejvyšší množství antokyanů ve zmrazených plodech jsem naměřila u odrůdy Samyl, další v pořadí byla odrůda Samdal. [graf 1] Běžně pěstovaná odrůda Haschberg obsahovala v plodech antokyanů jen průměrné množství, jak již bylo zjištěno i v jiných experimentech. [15] V porovnání s nejbohatší odrůdou Samyl obsahovala odrůda Allesö méně než poloviční množství antokyanů. [graf 1, tab. 22] Menší množství antokyanů

bylo dále zjištěno u odrůd Sambo a Sambu, odrůda Allesö ale obsahovala ze všech porovnávaných odrůd antokyanů nejméně. Při přepočtení na vysušenou drogu [graf 2] byla nejbohatší odrůdou na antokyanu opět odrůda Samyl, dále Samdal. Haschberg dosáhl v porovnání s ostatními přibližně průměrných hodnot. Pořadí odrůd v závislosti na množství obsažených antokyanů se v porovnání se zmrazenými plody mírně lišilo, odrůda Allesö byla ale znovu nejchudší a dosahovala méně než poloviční obsah antokyanů naměřených u odrůdy Samyl.

Při výběru kultivarů pro průmyslovou produkci ovocných koncentrátů hraje roli také výnos plodů a hmotnost plodenství. [13] Je ale nutno zvažovat i další kritéria týkající se kvality plodů, a také zastoupení ostatních látek, zajímavých pro chuťové vlastnosti (cukry, organické kyseliny), potravinářské zpracování (pektin) nebo terapeutickou hodnotu (antokyanu, flavonoidy, vitamin C). S ohledem na obsah antokyanů se jako nejbohatší jeví plody odrůdy Samyl a Samdal. [viz grafy 1,2] Námi analyzované plody odrůd bohaté na antokyanu Samyl, Samdal, resp. Weihenstephan nebo Haschberg [grafy 1,2] nepatří mezi zatím nejlépe hodnocené, pokud jde o fenologické a hospodářské znaky. [9,10] Je však třeba zdůraznit, že ke srovnávání jsou k dispozici výsledky jen prvotních analýz hospodářských znaků a dá se předpokládat, že po dosažení plné plodnoti budou ve výsledcích hospodářských znaků změny.

Ve shodě s analýzou [13] má Allesö i v našich hodnoceních nižší obsah antokyanů než Sampo a Samdal. Odrůda Sampo má ovšem obsah antokyanů průměrný (necelá 3 % přepočteno na vysušenou drogu), nebyly ale hodnoceny stejné odrůdy. Při srovnání plodů odrůd Sampo a Samdal v plodech u nás vypěstovaných odrůd je v plodech Samdal obsah antokyanů o 30 % vyšší na rozdíl od malých rozdílů v obsahu antokyanů uváděných v literatuře [13]

Běžně pěstovaný kultivar Haschberg, který měl ve zralých plodech podle analýz [15] jen poměrně malé množství antokyanů (737 mg na 100 g čerstvé váhy) se v našich hodnoceních ukázal jako průměrný (0,58 % v čerstvých plodech). [graf 1]

Výsledky získané v této práci jsou cenné vzhledem k tomu, že jsou prakticky eliminovány vlivy, které by mohly zpochybnit hodnocení plodů jednotlivých odrůd z hlediska obsahu antokyanů. Všechny plody pocházely z rostlin z jedné lokality, rostoucích za stejných podmínek. Množství antokyanů může být totiž ovlivněno např. nadmořskou výškou, přičemž obsah antokyanů s nadmořskou výškou klesá. [18] Je

zřejmě závislé také na ekologických standardech zemědělské produkce a částečně i na teplotě a množství slunečního záření. [20]

Bezprostředně po sběru v optimálním stupni zralosti byly plody zmrazeny a v tomto stavu uchovávány až do provedené analýzy. V maximální míře tak bylo zabráněno posklizňovým změnám obsahových látek.

8. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo stanovit obsah antokyanů v plodech vybraných kulturních odrůd bezu černého (*Sambucus nigra L.*), sestavit přehled obsahových látek a jejich biologické aktivity.

Plody černého bezu jsou již tradičně využívány v prevenci a terapii nejrůznějších onemocnění a dále také v potravinářství. Obsahové látky vykazují antioxidační aktivitu, která může být potenciálně využita v prevenci a terapii kardiovaskulárních a metabolických chorob. Mezi další účinky patří protizánětlivé a antiinfekční působení, dále účinek diuretický, diaforetický a analgetický. Významné biologické účinky vykazují z obsahových látek především antokyanany.

Obsah antokyanů v plodech deseti pěstovaných kulturních odrůd bezu černého byl stanoven spektrofotometricky. Stanovení antokyanů bylo provedeno se zmrazenými plody, výsledky jsou přepočítány na plody vysušené a vyjádřeny v procentech jako cyanidin 3-*O*-glukosid chlorid. Bylo zjištěno, že obsah antokyanů se u jednotlivých odrůd liší. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u odrůdy Samyl (0,79 % ve zmrazených plodech) a Samdal (0,75 % ve zmrazených plodech). Plody většiny odrůd (Bohatka, Sampo, Mammut, Haschberg) měly obsah antokyanů mezi 0,48 – 0,58 %. Nejméně antokyanů obsahovaly plody z odrůdy Allesö.

Vzhledem k tomu, že všechny plody pocházely z rostlin pěstovaných ve stejné lokalitě, nepodílí se na zjištěných rozdílech mezi odrůdami environmentální faktory. Plody černého bezu se získávají především z rostlin ve volné přírodě. Na kvalitě plodů se může projevit mnoho vlivů. Zejména pro využití bezu ve farmacii je zhodnocení plodů z pěstovaných odrůd velmi významné a plody z pěstovaných rostlin bohatých na obsah antokyanů se v budoucnu mohou stát zdrojem kvalitní drogy *Sambuci fructus*.

9. ABSTRAKT

Černý bez je tradiční bylinou využívanou v lidové medicíně již od nepaměti. Plody obsahují množství biologicky aktivních látek, z nichž nejdůležitější jsou antokyany. Dále plody obsahují flavonoidy, organické kyseliny, cukry, kyanogenní glykosidy a další látky jako vitamíny, třísloviny, aminokyseliny, draslík, vápník a fosfor. Plody černého bezu jsou v potravinářství využívány na výrobu marmelád, povidel, ovocných sirupů, vín a jiných pochutin. Droga *Sambuci fructus* se v současné době dostává do popředí zájmu farmacie a medicíny. Předmětem výzkumu jsou především příznivé účinky antokyanů na lidské zdraví a jejich možné uplatnění v medicíně a farmacii. Antokyany vykazují silnou antioxidační aktivitu, která může být potenciálně využita v terapii kardiovaskulárních, nádorových nebo metabolických onemocnění. Je zkoumána možnost využití antioxidačních účinků například v léčbě hyperlipidemie, obezity a s tím souvisejícího metabolického syndromu, uvedené účinky mohou být dále významné při ochraně před oxidativním poškozením buněk při onemocnění diabetes mellitus. Nelze opomenout také působení protizánětlivé a protiinfekční, které bylo zkoumáno jak u virových, tak u bakteriálních onemocnění. Současně se ukázalo, že by černý bez mohl být využíván i jako účinné imunostimulans. Schopnost antokyanů inhibovat zánět a hyperreaktivitu dýchacích cest pak může být potenciálně využita v doplňkové terapii astmatu. Využití nalézají plody černého bezu i jako laxativa při terapii chronické zácpy.

Černý bez je planě rostoucí rostlina, vyskytující se na nejrůznějších stanovištích. Místo výskytu má vliv na složení plodů, množství obsahových látek se tedy u planě rostoucích keřů může poměrně značně lišit. V současné době již bylo cíleně vyšlechtěno mnoho kultivarů černého bezu. Ty se liší množstvím obsahových látek v plodech a tím i biologickými účinky.

V deseti vybraných kultivarech černého bezu byl spektrofotometricky stanoven obsah antokyanů, obsah byl vyjádřen v procentech jako cyanidin 3-*O*-glukosid chlorid a přepočítán na vysušenou drogu. Zjistilo se, že jednotlivé odrůdy se obsahem antokyanů liší. Obsah (počítáno na vysušenou drogu) se pohyboval od 2,1 % po 5,1 %. Z porovnávaných odrůd byla nejbohatší na antokyany *Samyl*, nejmenší obsah byl naměřen u odrůdy *Allesö*.

Vzhledem k tomu, že plody pocházely z rostlin pěstovaných ve stejné lokalitě, nejsou rozdíly mezi odrůdami dány environmentálními faktory. Pro využití plodů ve farmacii se jako nejvýhodnější z hlediska množství antokyanů jeví odrůdy Samyl, Samdal a Weihenstephan.

10. ABSTRACT

Elderberry is a traditional herb which has always been used in folk medicine. The berries contain many biologically active compounds, from which antocyanins are the most important. The fruits also contain flavonoids, organic acids, sugars, cyanogenic glycosides and another compounds such as vitamins, tannins, amino acids, potassium, calcium and phosphorus. The berries are used in food industry for production of marmelade, fruit syrups, wine and another delicacies. The drug *Sambuci fructus* is currently a subject of interest in pharmacy and medicine. The research examines the beneficial effects of antocyanins on human health and the possible use of antocyanins in medicine and pharmacy. Antocyanins exhibit a strong antioxidant activity, which can potentially be used for treating cardiovascular, tumor or metabolic disorders. The possibility of using the antioxidant effects in treatment for example hyperlipidemia, obesity and metabolic disorder is investigated. The listed effects can be also important as protection against oxidative damage of cells in diabetes mellitus. The antiinflammatory and antiinfective action is also important, it was investigated for both viral and antibacterial infections. At the same time it was shown, that elderberry could act as an effective immunostimulant. The ability of antocyanins to inhibit an inflammation and hyperreactivity of airways can potentially be used as a supplementary treatment of asthma. The elderberry fruits are also used as laxatives in the treatment of chronic constipation.

Elderberry is a wild herb occurring at various habitats. The site of occurrence has an influence on the composition of fruits. The amount of contained compounds can be significantly different in wild plant. Currently the most cultivars of elderberry have been artificially cultivated. The cultivars differ in the amount of contained compounds in berries and therefore in the biological effects.

The content of antocyanins was determined by spectrophotometry in ten selected cultivars, the content was expressed in percentage as a cyanidin 3-*O*-glucoside-chloride and it was converted to the dried drug. It was found out, that the content of antocyanins is different in each cultivar. The content (calculated for the dried berries) ranged from 2,1 % to 5,1 %. The cultivar *Samyl* was the richest from all of the compared cultivars, the lowest content was measured in cultivar *Allesö*.

Taking into account that the fruits originated from the plants cultivated at the same locality, the differences among the cultivars are not caused by environmental factors. The cultivars Samyl, Samdal and Weihenstephan seem to be the most advantageous for use in pharmacy in term of antocyanins amount.

11. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Hemgesberg H.: Černý bez a naše zdraví. Olomouc: Fontána 2002.
- [2] Opíchal F., Dostál D.: Bez černý – *Sambucus nigra* L. Baza černá: Chutná potravina a ještě lepší lék. 4. vyd. Olomouc: D.Dostál 1991.
- [3] Matthioli P.O.: Herbář, jinak bylinář velmi užitečný. (Tadeáš Hájek z Hájku). 1.vyd. Praha: Odeon 1982; s. 312-315
- [4] Černý J.: Knieha lékarská, kteráž slove herbář aneb zelinář. 1.vyd. Praha: Avicenum 1981; s. 59-60
- [5] Bühringová U.: Léčivé rostliny. Obsahové látky, zpracování, základní recepty. 1.vyd. Praha: Euromedia Group, k.s. – Knižní klub 2010; s. 218-221
- [6] Kaplan J.: Černý bez v produkčním ovocnářství - I. díl. Zahradnictví 2011; 10 (8), 12-13
- [7] Kaplan J., Matějček A.: Černý bez v produkčním ovocnářství – II. díl. Zahradnictví 2011; 10 (9), 18-21
- [8] Slavík B. a kol.: Květena České republiky 5. vyd. Praha: Academia 1997; s. 504-506
- [9] Matějček A., Kaplan J.: Porovnání hospodářských znaků kulturních odrůd bezu černého. Zahradnictví 2011; 10 (1), 60-61
- [10] Matějček A., Kaplan J.: Porovnání fenologických znaků sedmnácti kulturních odrůd bezu černého. Zahradnictví 2011; 9 (2), 16-17
- [11] Kolodziej B., Maksymiec N., Drozdal K., Antonkiewicz J.: Effect of traffic pollution on chemical composition of raw elderberry (*Sambucus nigra* L.). J Elementol 2012; 17(1), 67-68
- [12] Kaack K., Fretté X.C., Christensen L.P., Landbo A. Meyer A.S.: Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for the preparation of juice. Eur. Food Res. Technol. 2008; 226(4), 843-855
- [13] Kaack K.: Sampo and Samdal, elderberry cultivars for juice concentrates. Fruit Var. J. 1997; 51(1), 28-31
- [14] Matejcek A., Kaplan J., Vespalcova M.: Investigation of Fruit Composition and Vegetative Propagation of Cultivated and Wild Elderberry. Acta Hort. 2011; 926, 353-356

- [15] Veverič 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
- [16] Ochmian I., Oszmiansky J., Skupien K.: Chemical composition, phenolics, and firmness of small black fruits. *J. Appl. Bot. Food Qual.-Angew. Bot.* 2009; 83(1), 64-69
- [17] Mikulic-Petkovsek M., Schmitzer V., Slatnar A., Stampar F., Veberic R. : Composition of Sugars, Organic Acids , and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *J. Food Sci.* 2012; 77(10), C1064-C1070
- [18] Rieger R., Müller M., Guttenger H., Bucar F.: Influence of altitudinal variation on the content of phenolic compounds in wild populations of *Calluna vulgaris*, *Sambucus nigra*, and *Vaccinium myrtillus*. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56(19), 9080-9086
- [19] Jordheim M., Giske N. H., Andersen O. M.: Anthocyanins in Caprifoliaceae. *Biochem. Syst. Ecol.* 2007; 35(3), 153-159
- [20] Labun P., Fejér J., Šalamon I., Ragác P.: Study of content and composition of anthocyanins in selected plants species. *Planta Med* 2011, 77-PL68
- [21] Vetter J.: Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon* 2000; 38 (1), 11-36
- [22] Buhrmester R., Ebinger J., Seigler D. : Sambunigrin and cyanogenic variability in populations of *Sambucus canadensis* L. (Caprifoliaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 2000; 28, 689-695
- [23] Vitova E., Divisova R., Sukalova K., Matejcek A.: Determination and quantification of volatile compounds in fruits of selected elderberry cultivars grown in Czech Republic. *J. Food Nutr. Res* 2013; 52(1), 1-11
- [24] Kolar J., Malbeck J.: Levels of Antioxidant melatonin in fruits of edible berry species. *Planta Med* 2009; 75- PJ42
- [25] Jirásek V., Starý F.: *Kapesní atlas léčivých rostlin*. Praha: SPN 1986; s.94
- [26] Vlachojannis J.E., Cameron M., Chrubasik S.: A Systematic Review on the *Sambuci fructus* Effect and Efficacy Profiles. *Phytother. Res.* 2010; 24, 1-8
- [27] Baloun J., Jahodář L., Leifertová I., Štípek S.: *Rostliny způsobující otravy a alergie*. Praha: Avicenum 1989; s. 125
- [28] Pogorzelski, E.: Formation of cyanide as a product of decomposition of cyanogenic glucosides in the treatment of elderberry fruit (*Sambucus nigra*). *J. Sci. Food Agric.* 1982; 33, 496–498. doi: 10.1002/jsfa.2740330516

- [29] Chen Y., Peumans W.J., Van Damme E.J.: The Sambucus nigra type-2 ribosome-inactivating protein SNA-I exhibits in planta antiviral activity in transgenic tobacco. FEBS Lett 2002; 516, 27-30
- [30] Vandenbussche F., Desmyter S., Ciani M., Proost P., Peumans W.J., Van Damme E.J.: Analysis of the in planta antiviral activity of elderberry ribosome-inactivating proteins. Eur. J. Biochem. 2004; 271, 1508-1515
- [31] Jakobek L., Seruga M.: Influence of anthocyanins, flavonols and phenolic acids on the antiradical activity of berries and small fruits. Int. J. Food Prop. 2012; 15(1-2), 122-133
- [32] Poracova J., Tkacikova L., Blascakova M.: Antioxidant capacity of fruits elderberries (*Sambucus nigra* L.) and black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Wild.). Planta Med 2012; 78-PI354
- [33] Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S.: Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity. J. Agric. Food Chem. 2004; 52, 7846-7856
- [34] Bornsek, S.M., Ziberna L., Polak T., Vanzo A., Ulrih N.P., Abram V., Tramer F., Passamonti S. : Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. Food Chem. 2012; 134(4), 1878-1884
- [35] Brown J.E., Kelly M.F.: Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2007; 109(1), 66-71
- [36] Takeuchi M., Ohtani K., Ma YJ., Kato S., Semba S., Katoh T., Wakamiya N., Taniguchi T.: Differential Effects of Cyanidin and Cyanidin-3-glucoside on Human Cell Lines. Food Sci. Technol. Res. 2011; 17(6), 515-521
- [37] Wang L., Carmella S., Keyes R., Kuo Ch., Huang Y. et al.: Anthocyanins and Cancer Prevention. Nutraceuticals and Cancer 2012; 201-229, DOI: 10.1007/978-94-007-2630-7_11
- [38] Stoner G., Wang L., Sardo Ch., Zikri N., Hecht S. et al. : Cancer Prevention with Berries: Role of Anthocyanins. Nutr. Health 2010; Bioactive Compounds and Cancer, IV, 703-723, DOI: 10.1007/978-1-60761-627-6_29
- [39] Basu A., Rhone M., Lyons T.J.: Berries: emerging impact on cardiovascular health. Nutr Rev. 2010; 68(3), 168-177

- [40] Curtis P.J., Kroon P.A., Hollands W.J., Walls R., Jenkins G., Kay C.D., Cassidy A.: Cardiovascular disease risk biomarkers and liver and kidney function are not altered in postmenopausal women after ingesting an elderberry extract rich in anthocyanins for 12 weeks. *J Nutr.* 2009; 139(12), 2266-2271
- [41] Dubey P., Jayasooriya A.P., Cheema S.K.: Fish oil induced hyperlipidemia and oxidative stress in BioF1B hamsters is attenuated by elderberry extract. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2012; 37, 472–479.
- [42] Hasani-Rajnbar S., Nayebi N., Larijani B., Abdollahi M.: A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. *World J. Gastroenterol.* 2009; 15(25), 3073-3085
- [43] Chrubasik C., Maier T., Dawid C., Torda T., Schieber A., Hofmann T., Chrubasik S.: An observational study and quantification of the actives in a supplement with *Sambucus nigra* and *Asparagus officinalis* used for weight reduction. *Phyther. Res.* 2008; 22(7), 913-918
- [44] Kaume L., Gilbert W.C., Brownmiller C., Howard L.R., Devareddy L.: Cyanidin 3-O-beta-glucoside-rich blackberries modulate hepatic gene expression, and anti-obesity effects in ovariectomized rats. *J. Funct. Foods* 2012; 4(2), 480-488
- [45] Jia Y., Hoang M.H., Jun H.J., Lee J.H., Lee S.J.: Cyanidin, a natural flavonoid, is an agonistic ligand for liver X receptor alpha and beta and reduces cellular lipid accumulation in macrophages and hepatocytes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013; 23(14), 4185-4190
- [46] Jia YY., Kim JY., Jun HJ., Kim SJ., Lee JH., Hoang JH., Hoang MH., Kim HS., Chang HI., Hwang KY., Um SJ., Lee SJ.: Cyanidin is an agonistic ligand for peroxisome proliferator – activated receptor – alpha reducing hepatic lipid. *BBA-Mol Cell Biol L* 2013; 1831(4), 698-708
- [47] Ciocoiu M., Badescu L., Badulescu O., Tutunaru D., Badescu M.: Protective intervention of *Sambucus nigra* polyphenols in the diabetic heart. *Annals of RSCB* 2012; 17(1), 312-317
- [48] Ciocoiu M., MirAln A., Mares L., Tutunaru D., Pohaci C., Groza M., Badescu M.: The effects of *Sambucus nigra* polyphenols on oxidative stress and metabolic disorders in experimental diabetes mellitus. *J Physiol Biochem.* 2009; 65(3), 297-304
- [49] Zhu W., Jia Q., Wang Y., Zhang Y., Xia M.: The anthocyanin cyanidin-3-O-beta-glucoside, a flavonoid, increases hepatic glutathione synthesis and protects hepatocytes

- against reactive oxygen species during hyperglycemia: Involvement of a cAMP-PKA-dependent signaling pathway. *Free Radical Biol. Med.* 2012; 52(2), 314-327
- [50] Badescu L., Badulescu O., Badescu M., Ciocoiu M.: Mechanism by Sambucus nigra Extract Improves Bone Mineral Density in Experimental Diabetes. *eCAM* 2012; 2012, Article ID 848269
- [51] Hudson J., Suter A., Schoop R.: Anti – viral activities of herbal preparations. *Planta Med* 2010; 76-P492
- [52] Zakay-Rones Z., Thom E., Wollan T., Wadstein J.: Randomized study of the efficacy and safety of oral elderberry extract in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Int Med Res.* 2004; 32(2), 132-140
- [53] Krawitz C., Mraheil M.A., Stein M., Imirzalioglu C., Domann E. Pleschka S., Hain T.: Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. *BMC Complement Altern Med.* 2011; 25, 11:16
- [54] Werlein H.D., Küttemeyer C., Schatton G., Hubberman E.M., Schwarz K.: Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms. *Food Control* 2005; 16(8), 729-733
- [55] Barak V., Birkenfeld S., Halperin T., Kalickman I.: The effect of herbal remedies on the production of human inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Isr Med Assoc J.* 2002; 4(11 Suppl), 919-922
- [56] Karlsen A., Retterstol L., Laake P., Paur I., Kjølsrud-Bohn S., Sandvik L., Blomhoff R.: Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappa B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of proinflammatory mediators in healthy adults. *J. Nutr.* 2007; 137(8), 1951-1954
- [57] Park SJ., Shin WH., Seo JW., Kim EJ.: Anthocyanins inhibit airway inflammation and hyperresponsiveness in murine asthma model. *Food Chem. Toxicol.* 2007; 45(8), 1459-1467
- [58] Picon P.D., Picon R.V., Costa A.F., Sander G.B., Amaral K.M., Aboy A.L., Henriques A.T.: Randomized clinical trial of a phytotherapeutic compound containing Pimpinella anisum, Foeniculum vulgare, Sambucus nigra, and Cassia angustifolia for chronic constipation. *BMC Complementary Altern. Med.* 2010; 10: 17

- [59] Cejpek K., Malouskova I., Konecny M., Velisek J.: Antioxidant Activity in Variously Prepared Elderberry Foods and Supplements. *Czech J. Food Sci.* 2009; 27, 45-48
- [60] Bermúdez-Soto M.J., Tomás-Barberán F.A.: Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *Eur. Food Res. Technol.* 2004; 219(2), 133-141
- [61] Schmitzer V., Veberic R., Slatnar A., Stampar F.: Elderberry (*Sambucus nigra* L.) wine: a product rich in health promoting compounds. *J Agric Food Chem.* 2010; 58(18), 10143-10146
- [62] Bratu M.M., Doroftei E., Negreanu-Pirjol T., Hostina C., Porta S.: Determination of Antioxidant Activity and Toxicity of *Sambucus nigra* Fruit Extract Using Alternative Methods. *Food Technol. Biotechnol.* 2012; 50(2), 177-182
- [63] Howard L.R., Prior R.L., Liyanage R., Lay J.O.: Processing and Storage Effect on Berry Polyphenols: Challenges and Implications for Bioactive Properties. *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60(27), 6678-6693
- [64] Arancibia-Avila P., Namiesnik J., Toledo F., Werner E., Martinez-Ayala A.L., Rocha-Guzmán N.E., Gallegos-Infante J.A., Gorinstein S.: The influence of different time durations of thermal processing on berries quality. *Food Control* 2012; 26(2), 587-593
- [65] Steger-Mate M., Horvath D., Barta J.: Investigation of colourant content and stability in elderberry. *Acta Aliment.* 2006; 35(1), 117-126
- [66] Kaack K., Austed T.: Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods Hum. Nutr.* 1998; 52(3), 187-198
- [67] Český lékopis 2009. Praha: Grada Publishing 2009; s. 2669
- [68] Milbury P., Cao G., Prior R., Blumberg J.: Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mech. Ageing Dev.* 2002; 123(8), 997-1006
- [69] Hanske L., Engst W., Loh G., Sczesny S., Blaut M., Braune A.: Contribution of gut bacteria to the metabolism of cyanidin 3-glucoside in human microbiota – associated rats. *Br. J. Nutr.* 2013; 109(8), 1433-1441
- [70] Keppler K., Humpf H.U.: Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorg. Med. Chem.* 2005; 13 (17), 5195-5205

[71] Anton, A., M., Pinte, A., M., Rugina D. O., et al.: Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant capacity of polyphenols from Sambucus sp. Dig. J. Nanomater. Biostruct. 2013; 8 (3), 973 – 980