



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VLIV SKLADOVACÍCH PODMÍNEK NA NEČOKOLÁDOVÉ CUKROVINKY S PŘÍDAVKEM FILIPENDULA ULMARIA

EFFECT OF STORAGE CONDITIONS ON NON-CHOCOLATE SWEETS WITH THE ADDITION OF
FILIPENDULA ULMARIA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Kateřina Geierová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2025

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP2077/2024 Akademický rok: 2024/25
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Kateřina Geierová**
Studijní program: Chemie přírodních látek
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv skladovacích podmínek na nečokoládové cukrovinky s přídavkem *Filipendula ulmaria*

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární rešerši dané problematiky
 - technologie výroby nečokoládových cukrovinek se zaměřením na podmínky jejich skladování
 - stručná charakteristika tužebníku jilmového se zaměřením na obsažené těkavé látky, látky s antioxidačním a antimikrobiálním potenciálem a jejich význam a možnosti využití v potravinářství
 - způsoby získávání účinných látek z přírodních materiálů
 - možnosti zvýšení stability rostlinných extraktů
 - analýza těkavých látek, hodnocení antioxidační a antimikrobiální aktivity
2. Připravte rostlinný extrakt z vybraného rostlinného materiálu
3. Aplikujte připravený extrakt do modelových vzorků nečokoládových cukrovinek
4. Posuďte vliv různých skladovacích podmínek na antioxidační a antimikrobiální potenciál a profil těkavých látek

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2025:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Kateřina Geierová
studentka

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 3.2.2025

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá sledováním vlivu skladovacích podmínek na nečokoládové cukrovinky s přídavkem extraktu z tužebníku jilmového. Byl sledován vliv teploty a délky skladování. Cukrovinky byly charakterizovány z hlediska antioxidační aktivity, celkových fenolických látek, obsahu těkavých látek, antimikrobiální účinnosti a senzorické kvality.

Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody s využitím DPPH. Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u čerstvě připravených vzorků, kde hodnota činila $4,26 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. U vzorků skladovaných v lednici byl pokles antioxidační aktivity jen mírný, na rozdíl od vzorků skladovaných za laboratorních podmínek. Nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány po jednom a dvou měsících skladování.

Celkový obsah fenolických látek byl určen pomocí Folin-Ciocalteuovy metody. Nejvyšší obsah fenolických látek byl stanoven podle očekávání v čerstvě připravených cukrovinkách, kdy byl obsah stanoven na $14,26 \pm 0,99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$. V průběhu skladování poté docházelo k postupnému poklesu této hodnoty, přičemž výraznější úbytek byl pozorován u vzorků skladovaných za laboratorních podmínek. Nejvýraznější pokles byl pozorován již po 7 dnech skladování.

Dále byla také testována antimikrobiální aktivita vzorků pomocí difúzní jamkové metody proti kmenům *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* a *Candida vini*. Připravené vzorky vykazovaly antimikrobiální účinnost vůči všem testovaným kmenům. Nejvyšší účinnost vykazovaly čerstvé vzorky a dále se účinnost s časem snižovala. Po 2 měsících skladování vzorky stále vykazovaly antimikrobiální účinnost.

Následně byla provedena identifikace těkavých aromaticky aktivních složek, která byla realizována pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Ve vzorcích skladovaných v lednici bylo identifikováno celkem 36 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých. U vzorků skladovaných za laboratorních podmínek bylo identifikováno celkem 31 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých.

V rámci senzorické analýzy byl jako nejvíce celkově přijatelný vyhodnocen čerstvý vzorek. Nejnížší bodové hodnocení měl vzorek skladovaný měsíc v lednici. Vzorky s dlouhodobým skladováním dosáhly horšího hodnocení, což naznačuje jejich nižší senzorickou kvalitu a přijatelnost.

KLÍČOVÁ SLOVA

cukrovinky, tužebník jilmový, aromatické látky, antioxidanty, antimikrobiální aktivita, SPME, GC-MS

ABSTRACT

This thesis deals with the study of the effect of storage conditions on non-chocolate sweets with the addition of meadowsweet extract. The effect of temperature and storage period was monitored. The sweets were characterized in terms of antioxidant activity, total phenolic compounds, volatile compounds, antimicrobial activity and sensory quality.

The antioxidant activity was determined using the DPPH method. The highest antioxidant activity was measured in freshly prepared sweets, where the value was $4.26 \pm 0.42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. For samples stored in the fridge, the decrease in antioxidant activity was only slight, in contrast to samples stored under laboratory conditions. The most significant differences were observed after one and two months of storage.

The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method. As expected, the highest phenolic content was determined in freshly prepared sweets, where the content was determined to be $14.26 \pm 0.99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$. Thereafter, a gradual decrease in this value occurred during storage, with a more significant decrease observed in samples stored under laboratory conditions. The most significant decrease was observed after 7 days of storage.

Furthermore, the antimicrobial activity of the samples was also tested using the well diffusion method against *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Candida vini* strains. The prepared samples showed antimicrobial activity against all the tested strains. Fresh samples showed the highest activity and further the activity decreased with time. After 2 months of storage, the samples still showed antimicrobial activity.

Subsequently, the identification of volatile aroma active compounds was performed using the HS-SPME-GC-MS method. A total of 36 volatile compounds were identified in the samples stored in the fridge, some of them also in fresh confectionery. In samples stored under laboratory conditions, a total of 31 volatiles were identified, some of which were also found in fresh confectionery.

In the sensory analysis, the fresh sample was judged to be the most acceptable. The sample stored for a month in the fridge had the lowest score. Samples with long-term storage achieved lower score, indicating their lower sensory quality and acceptability.

KEYWORDS

sweets, *Filipendula ulmaria*, aroma compounds, antioxidants, antimicrobial activity, SPME, GC-MS

GEIEROVÁ, Kateřina. *Vliv skladovacích podmínek na nečokoládové cukrovinky s přídavkem Filipendula ulmaria*. Online, diplomová práce. Eva VÍTOVÁ (vedoucí práce). Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2025. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/161988>. [cit. 2025-04-22].

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucí práce a děkana FCH VUT.

.....
Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady a připomínky během zpracovávání mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Matěji Rychetskému za cenné rady, velkou ochotu, podporu, odborný dohled a trpělivost při zpracovávání této diplomové práce.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1	Technologie výroby nečokoládových cukrovinek.....	10
2.2	Základní suroviny.....	10
2.2.1	Sladidla.....	10
2.2.2	Želírující látky	12
2.2.3	Rostlinné gumy	13
2.2.4	Leštící látky	14
2.2.5	Barviva	14
2.2.6	Aromata	14
2.2.7	Regulátory kyselosti	15
2.3	Nečokoládové cukrovinky s nevykrytalizovanou sacharózou.....	15
2.3.1	Želé cukrovinky.....	15
2.3.2	Gumovité cukrovinky.....	17
2.3.3	Kandyty	17
2.3.4	Karamely	17
2.4	Skladovací podmínky nečokoládových cukrovinek.....	18
2.5	Charakteristika rostlinného materiálu	19
2.5.1	Tužebník jilmový.....	20
2.6	Způsoby získávání účinných látek z přírodních materiálů.....	22
2.6.1	Macerace	23
2.6.2	Perkolace	23
2.6.3	Soxhletova extrakce	24
2.6.4	Destilace s vodní parou	24
2.6.5	Ultrazvuková extrakce.....	25
2.6.6	Subkritická vodní extrakce.....	25
2.6.7	Superkritická fluidní extrakce	25
2.7	Možnosti zvýšení stability rostlinných extraktů.....	27
2.7.1	Faktory ovlivňující stabilitu	27
2.7.2	Techniky pro zvýšení stability.....	28
2.8	Metody analýzy bioaktivních látek	30
2.8.1	Mikroextrakce tuhrou fází	31

2.8.2	Plynová chromatografie	32
2.8.3	Tandemová technika GC-MS	33
2.9	Hodnocení antioxidační aktivity	34
2.9.1	Metoda TEAC	34
2.9.2	Metoda s použitím DPPH.....	34
2.9.3	Stanovení obsahu fenolických látek	35
2.10	Hodnocení antimikrobiální aktivity	35
2.10.1	Difúzní metody	35
2.10.2	Diluční metody	36
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	37
3.1	Použité chemikálie a pomůcky	37
3.1.1	Chemikálie použité při stanoveních	37
3.1.2	Chemikálie použité při práci s mikroorganismy	37
3.1.3	Plyny.....	37
3.1.4	Použité mikroorganismy.....	37
3.1.5	Přístroje a pomůcky.....	37
3.1.6	Suroviny pro výrobu cukrovinek.....	37
3.2	Analyzované vzorky	37
3.3	Použité experimentální postupy a metody	38
3.3.1	Metoda HS-SPME-GC-MS.....	38
3.3.2	Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity	39
3.3.3	Spektrofotometrické stanovení obsahu fenolických látek.....	40
3.3.4	Ověření antimikrobiální aktivity želé cukrovinek s přídavkem bylinného extraktu	41
3.3.5	Senzorická analýza	42
3.4	Statistické zpracování výsledků	42
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	43
4.1	Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity cukrovinek.....	43
4.2	Spektrofotometrické stanovení obsahu fenolických látek v cukrovinkách	45
4.3	Ověření antimikrobiální účinnosti želé cukrovinek	47
4.3.1	Antimikrobiální účinnost vzorků vůči <i>Bacillus cereus</i>	47
4.3.2	Antimikrobiální účinnost vzorků vůči <i>Escherichia coli</i>	48
4.3.3	Antimikrobiální účinnost vzorků vůči <i>Candida vini</i>	49

4.4	Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek	50
4.4.1	Identifikované těkavé látky v čerstvých cukrovinkách	50
4.4.2	Identifikované těkavé látky v cukrovinkách skladovaných v lednici.....	51
4.4.3	Identifikované těkavé látky v cukrovinkách skladovaných za laboratorních podmínek	53
4.4.4	Srovnání vlivu skladovacích podmínek na obsah těkavých látek v cukrovinkách	55
4.5	Senzorická analýza cukrovinek	62
4.5.1	Srovnání vyrobených vzorků želé cukrovinek z hlediska jejich celkové přijatelnosti	68
5	ZÁVĚR.....	70
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	72
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	91
8	SEZNAM PŘÍLOH	92
9	PŘÍLOHY.....	93

1 ÚVOD

Dnešní spotřebitelé už dávno nehledají jen potraviny, které zasytí. Stále více lidí se zajímá o to, co jejich jídlo obsahuje, jak působí na zdraví a jak bylo vyrobeno. Tento trend vede potravinářský průmysl k hledání nových možností, jak nabídnout výrobky s vyšší přidanou hodnotou – tedy takové, které nejen dobře chutnají, ale zároveň přispívají ke zdravému životnímu stylu. Jednou z cest, jak toho dosáhnout, je využití přírodních surovin a rostlinných extraktů s obsahem prospěšných látek.

Tužebník jilmový (*Filipendula ulmaria*) je známá léčivá bylina, která se v minulosti používala hlavně v lidovém léčitelství. Dnes znovu přitahuje pozornost díky svému zajímavému složení, obsahuje totiž aromatické látky, přírodní antioxidanty i sloučeniny s antimikrobiálním účinkem. Zároveň má příjemné přirozeně sladké aroma, které může zlepšit chuťové vlastnosti různých potravin. I proto se uvažuje o jeho využití například v cukrovinkách, kde by mohl částečně nahradit syntetická aditiva a dodat výrobkům nejen chuť, vůni a barvu, ale i zdravotní benefity.

Tato diplomová práce se věnuje možnostem využití extraktu z tužebníku jilmového v nečokoládových cukrovinkách, konkrétně v želé produktech. Zaměřuje se na to, jak různé podmínky skladování ovlivňují kvalitu těchto cukrovinek, především z hlediska zachování aromaticky aktivních látek a změn antioxidačního i antimikrobiálního potenciálu. Cílem je zjistit, zda je možné touto cestou vytvořit výrobek, který bude nejen chuťově atraktivní, ale zároveň bude obsahovat přírodní složky s pozitivním účinkem na zdraví.

Výsledky této práce by mohly přispět k vývoji cukrovinek, které budou nejen chutné, ale zároveň i funkční – tedy takové, které nabídnou něco navíc. Takový přístup odpovídá současným požadavkům trhu a může být zajímavý jak pro spotřebitele, tak pro výrobce, kteří chtějí držet krok s trendem přirozeného a zdravějšího stravování.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Tato diplomová práce se zabývá sledováním vlivu skladovacích podmínek na nečokoládové cukrovinky s přidavkem extraktu z tužebníku jilmového. V teoretické části je představena charakteristika a složení těchto cukrovinek spolu s popisem technologických postupů jejich výroby. Součástí práce je také charakterizace vybrané rostlinné suroviny, přičemž důraz je kladen na její obsah aromatických, antioxidačních a antimikrobiálních látek. Dále jsou popsány metody používané ke stanovení těkavých látek a hodnocení antioxidační i antimikrobiální aktivity.

2.1 Technologie výroby nečokoládových cukrovinek

Z technologického hlediska se nečokoládové cukrovinky dělí podle stavu sacharózy ve finálním produktu na dvě skupiny – cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou a cukrovinky s vykrystalizovanou sacharózou. Do první skupiny řadíme například želé, gumovité cukrovinky, kandyty a karamely, zatímco druhou skupinu tvoří komprimáty, fondány nebo marcipán. Tato práce se zaměřuje na cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou, přičemž zvláštní pozornost je věnována technologii výroby želé cukrovinek, které budou podrobně rozebrány [1].

2.2 Základní suroviny

2.2.1 Sladidla

Sladidla dodávají potravinám sladkou chuť a ovlivňují jejich senzorické vlastnosti a technologické parametry, například mikrobiální stabilitu. Podle původu se dělí na přírodní, zahrnující například sacharózu, fruktózu nebo med, a náhradní, mezi něž patří syntetická sladidla (např. aspartam, sukralóza) či sladidla identická s přírodními látkami (např. steviolglykosidy). Přírodní sladidla poskytují energii, zatímco náhradní mají zpravidla nižší energetickou hodnotu. Kombinace těchto typů v potravinářství umožňuje optimalizovat sladkost při zachování nízkého energetického příjmu, což odpovídá požadavkům moderní výživy [2, 3].

2.2.1.1 Přírodní sladidla

Přírodní sladidla představují skupinu sladících látek získaných převážně z rostlinných surovin. Jejich použití při výrobě nečokoládových cukrovinek je stále více preferováno nejen z důvodu rostoucí poptávky po přírodních surovinách, ale také kvůli jejich potenciálním zdravotním benefitům a vyšší spotřebitelské akceptaci. Do této skupiny lze zařadit jednak sacharidová sladidla, jako je glukóza, fruktóza a sacharóza, a dále tzv. přírodní intenzivní sladidla, mezi nimiž vynikají zejména steviol-glykosidy [2].

Sacharóza, běžně označovaná jako řepný nebo třtinový cukr, je disacharid složený z glukózy a fruktózy. V cukrovinkářství plní nejen funkci sladidla, ale také ovlivňuje texturu, viskozitu a barvu produktu, zejména díky svým karamelizačním vlastnostem. Fruktóza je přirozeně se vyskytující monosacharid, který se vyznačuje výrazně vyšší sladivostí než sacharóza a nižším glykemickým indexem. Díky své hygroskopické povaze nachází využití v měkkých cukrovinkách, kde pomáhá udržovat měkkost a šťavnatost produktu [3].

Jedním z nejvýznamnějších přírodních intenzivních sladidel je skupina steviol-glykosidů, které se extrahují z listů rostliny *Stevia rebaudiana Bertoni*. Tyto látky, mezi nimiž jsou nejběžnější rebaudiosid A a steviosid, vykazují velmi vysokou sladivost, až 300× vyšší než sacharóza, a prakticky nulovou energetickou hodnotu. Navíc nejsou fermentovatelné orální mikroflórou, a tedy nepřispívají ke vzniku zubního kazu. Jejich použití je výhodné i v produktech určených pro osoby s diabetem nebo pro výrobky se sníženým energetickým obsahem. Chuťový profil steviol-glykosidů je však specifický; často bývá doprovázen hořkým nebo lékořicovým dozvukem, což může být vnímáno jako negativní senzorický jev. Z tohoto důvodu se v praxi často kombinují s jinými sladidly (např. erythritolem nebo maltitolem), aby bylo dosaženo lepší chuťové rovnováhy [4, 5].

Přírodní sladidla tedy představují významnou kategorii surovin v oblasti moderní výroby cukrovin, a to nejen díky své sladivosti, ale i pro svůj příznivý výživový profil a technologické vlastnosti. Jejich využití odpovídá současným trendům zdravé výživy a přispívá k tvorbě atraktivních a funkčně hodnotných potravin [2].

2.2.1.2 Náhradní sladidla

Náhradní sladidla jsou široce používána v potravinářském průmyslu, zejména při výrobě produktů s nižším obsahem cukru, jako jsou cukrovinky, žvýkačky, nápoje a výrobky pro diabetiky. Tato sladidla lze rozdělit do dvou hlavních kategorií: cukerné alkoholy a intenzivní sladidla. Cukerné alkoholy, jako je maltitol a xylitol, se vyznačují nižší energetickou hodnotou než běžný cukr a mají podobnou texturu a sladkost, zatímco intenzivní sladidla poskytují velmi vysokou sladivost i při použití v minimálních koncentracích, čímž snižují energetickou hodnotu výrobků [6].

Cukerné alkoholy

Cukerné alkoholy jsou sladidla, která mají podobnou strukturu jako sacharidy, ale neobsahují tolik energie. Nejčastěji používanými cukernými alkoholy v cukrovinkářském průmyslu jsou maltitol, xylitol, sorbitol, erythritol a isomalt. Tyto látky jsou obvykle získávány z rostlinných surovin, jako jsou kukuřičný škrob nebo dřevní hmota [7].

Maltitol je jedním z nejběžněji používaných cukerných alkoholů v bezcukrových cukrovinkách, sladidlech pro diabetiky a dalších produktech se sníženým obsahem cukru. Vyznačuje se sladivostí podobnou sacharóze (asi 90 % sladivosti sacharózy), ale s nižší energetickou hodnotou. Maltitol má také nízký glykemický index, což znamená, že nezpůsobuje výrazné zvýšení hladiny krevního cukru. Je oblíbený nejen pro svou chuť, která je téměř identická s cukrem, ale také pro jeho schopnost zlepšovat texturu a stabilitu cukrovin [6].

Xylitol je další populární cukerný alkohol, který se přirozeně vyskytuje v ovoci, jako jsou jablka a hrušky, a v některých zeleninách. Xylitol má přibližně stejnou sladivost jako sacharóza. Je známý také svými antimikrobiálními vlastnostmi, což znamená, že může pomoci při prevenci vzniku zubního kazu, což je jeden z důvodů, proč je často používán ve žvýkačkách a pastách na zuby. Díky své schopnosti udržovat vlhkost se používá i v produkci cukrovin a žvýkaček, kde pomáhá zajišťovat jejich dlouhou trvanlivost [7].

Mezi další cukerné alkoholy využívané v potravinářském průmyslu patří sorbitol, erythritol a isomalt. Sorbitol je oblíbený pro své zvlhčující a stabilizační účinky a je často přidáván do

žvýkaček, bonbonů a produktů určených pro diabetiky. Erythritol má téměř nulovou energetickou hodnotu, což jej činí ideálním pro výrobky s minimálním energetickým obsahem, a je zvláště známý pro svou dobrou chuť bez nepříjemných dozvuků. Isomalt je často využíván při výrobě tvrdých bonbonů, kde pomáhá stabilizovat strukturu a zabraňuje krystalizaci cukrů [6].

Intenzivní sladidla

Intenzivní sladidla mají velmi vysokou sladivost, přičemž jejich použití je možné i v minimálních koncentracích. To znamená, že umožňují sladit potraviny bez významného zvýšení jejich energetického obsahu. Mezi nejběžněji používaná intenzivní sladidla patří acesulfam K, aspartam, sukralóza a steviol-glykosidy [5].

Ačkoli intenzivní sladidla, jako je acesulfam K, aspartam a sukralóza, jsou velmi sladká i v minimálních koncentracích, jejich chuťový profil může vykazovat některé charakteristické rozdíly, jako je hořkost nebo pachut' v některých případech. To je důvod, proč se často kombinují s jinými sladidly, aby bylo dosaženo lepší chuti a vyváženosti. Sukralóza a acesulfam K jsou stabilní při vysokých teplotách, což z nich činí ideální volbu pro použití ve výrobě tepelného zpracování, například při výrobě cukrovinek a pečiva [8].

2.2.2 Želírující látky

Pro výrobu želé cukrovinek je klíčové použití želírujících, nebo také rosolotvorných, látek, které díky své hydrofilní povaze dokážou vázat velké množství vody a za specifických podmínek tvořit reverzibilní gely. Proces tvorby gelu zahrnuje několik fází: nejprve dochází k hydrataci želírující látky a jejímu bobtnání, následně k jejímu rozpuštění při zvýšené teplotě za vzniku viskózní kapaliny, označované jako sol. Při následném ochlazení solu dochází k přeměně na polotuhý, průhledný gel. Mezi nejběžněji využívané želírující látky v potravinářské výrobě patří želatina, agar, pektin, algináty a modifikované škroby, které se volí v závislosti na požadovaných vlastnostech finálního výrobku [1, 9].

2.2.2.1 Agar

Agar je polysacharid získávaný z buněčných stěn červených mořských řas, který se běžně používá ve formě prášku nebo pásků. Ve studené vodě je nerozpustný, ale v horké vodě vytváří koloidní roztok, který se při teplotě 30–40 °C mění v pevný gel. Tento gel má výhodu v nízkém obsahu energie a schopnosti tvořit čiré, esteticky atraktivní struktury, což je žádoucí v potravinářství. Agar je však citlivý na přítomnost kyselin a nízkého pH, což může negativně ovlivnit jeho gelotvorné vlastnosti, zejména při vyšších teplotách. Proto je nutné přidávat kyselé látky do agarových směsí při teplotách nižších než 60 °C. Agar je rovněž oblíbenou alternativou želatiny, vhodnou pro vegetariány a vegany [10, 11].

2.2.2.2 Želatina

Želatina je bílkovina získávaná z živočišných tkání, především z částečně hydrolyzovaného kolagenu obsaženého ve vepřových a hovězích kůžích nebo hovězích kostech. Její želírující vlastnosti jsou citlivé na vysoké teploty, při delším zahřívání na vyšší teplotu dochází k jejich ztrátě. Ve studené vodě želatina bobtná, zatímco v horké vodě se rozpouští a při následném ochlazení vytváří termoreverzibilní gel. Gely na bázi želatiny mají výrazně vyšší tuhost než

gely vytvořené například pomocí agaru nebo pektinu. Kromě gelotvorné funkce může být želatina použita také k prevenci krystalizace nebo jako pěnotvorné činidlo [12, 13].

2.2.2.3 Pektiny

Pektiny jsou polysacharidy, které se přirozeně vyskytují v buněčných stěnách rostlin, zejména v ovoci, jako jsou jablka, citrusové plody, a v menší míře také v některých kořenových zeleninách. Pro tvorbu gelů je klíčový stupeň esterifikace karboxylových skupin, což rozděluje pektiny na dvě hlavní kategorie: vysokoesterifikované (HM) a nízkoesterifikované (LM). Vysokoesterifikované pektiny, které mají více než 50 % esterifikovaných skupin, vytvářejí reverzibilní gely v přítomnosti cukru při pH mezi 3,0–3,5. Nízkoesterifikované pektiny, s esterifikací pod 50 %, tvoří ireverzibilní gely v přítomnosti iontů vápníku nebo jiných kovů alkalických zemin, a to v širším pH rozmezí od 2,6 do 6,8. Pektiny jsou v potravinářském průmyslu hojně využívány pro výrobu želé cukrovinek, džemů a želatinových dezertů, kde často slouží jako náhrada želatiny [14, 15].

2.2.2.4 Alginát

Alginát je přírodní látka získávaná z hnědých mořských řas, která se v potravinářském průmyslu běžně využívá jako želírující, zahušťující a stabilizační prostředek. Při výrobě nečokoládových cukrovinek představuje moderní alternativu ke klasickým želírujícím látkám, jako je želatina nebo pektin. Jeho výhodou je, že dokáže vytvářet pevné, pružné gely i bez potřeby vysokých teplot nebo přídavku cukru. Gel vzniká díky reakci alginátu s ionty vápníku, které mezi sebou vytvoří síťovou strukturu odolnou vůči teplu i mechanickému zatížení. Díky tomu je alginát ideální pro výrobu funkčních cukrovinek, do nichž se přidávají rostlinné extrakty s bioaktivními účinky – ty totiž mohou být citlivé na vyšší teploty. Alginát tak umožňuje vytvořit výrobky nejen s atraktivní texturou, ale také s příznivějším výživovým složením [16].

2.2.2.5 Karagenany

Karagenany jsou skupinou přírodních polysacharidů, které se získávají z červených mořských řas rodu *Chondrus*, *Eucheuma* nebo *Gigartina*. V potravinářství se využívají především jako želírující, zahušťující a stabilizační látky. Při výrobě nečokoládových cukrovinek nacházejí uplatnění díky své schopnosti vytvářet gely různých struktur od měkkých až po pevné v závislosti na typu karagenanu (například kappa, iota nebo lambda) a přítomnosti iontů, zejména draslíku a vápníku. Oproti jiným želírujícím látkám mají karagenany výhodu v tom, že jsou aktivní i při nízké koncentraci a umožňují dosáhnout jemné a hladké textury. Zároveň jsou vhodné pro vegetariánské a veganské výrobky, protože nejsou živočišného původu. Díky těmto vlastnostem jsou karagenany oblíbené při vývoji moderních cukrovinek, které cílí na funkčnost, přírodní složení a atraktivní strukturu [17].

2.2.3 Rostlinné gummy

Rostlinné gummy jsou viskózní tekutiny získávané z pletiv některých rostlin, které po vystavení vzduchu tvrdnou a vytvářejí křehkou, průhlednou hmotu. Tyto látky vznikají v rostlinách jako reakce na poranění nebo naříznutí jejich částí. Nejznámějším zástupcem je arabská guma, která se získává z tropických keřů rodu *Acacia*. Jedná se o polysacharid, skládající se především z galaktózy, rhamnózy a arabinózy, nacházející široké uplatnění v potravinářství, například při výrobě dražé, jako spojovací látka v pastách nebo jako stabilizátor pěn. Kromě arabské gummy

se k výrobě žvýkaček používají také chicle-gum a rostlinný latex yelutong. Tyto gummy se využívají pro své lepicí a stabilizační vlastnosti, zejména ve výrobě žvýkaček a dalších cukrovinek [18, 19].

2.2.4 Leštící látky

Leštící látky jsou látky, které po aplikaci na povrch potraviny zajišťují její lesklý vzhled nebo vytvářejí ochranný povlak. V potravinářském průmyslu se běžně používají při výrobě dražé cukrovinek, snacků, ořechů nebo doplňků stravy. Nejčastěji se jako leštící látky využívají rostlinné nebo živočišné vosky. Mezi nejběžnější rostlinné vosky patří karnaubský vosk získávaný z palmy *Copernicia cerifera* a kandeliový vosk z rodu *Euphorbiaceae*, zatímco z živočišných vosků je nejpoužívanější včelí vosk. Kromě vosků se používají také laky, což jsou obvykle ethanolicke roztoky obsahující vosky jako šelak (získávaný z výměšků hmyzu červce lakového), sandarak (z cypřišovitě dřeviny) nebo benzoe (z kůry stromů rodu *Styrax*). Vosky slouží nejen k dosažení lesklého vzhledu, ale také jako mazadla při výrobě komprimátů, zatímco laky poskytují ochrannou vrstvu, která zajišťuje stabilitu a prodlužuje trvanlivost potravin [20, 21].

2.2.5 Barviva

Barviva hrají v technologii výroby nečokoládových cukrovinek významnou roli, neboť výrazně ovlivňují vzhled finálního produktu, a tím i jeho atraktivitu pro spotřebitele. V zásadě se barviva používaná v potravinářství dělí na dvě hlavní skupiny – přírodní a syntetická. Každá z těchto skupin má specifické vlastnosti, které ovlivňují jejich použití při výrobě sladkostí.

Přírodní barviva jsou získávána z rostlinných, živočišných nebo minerálních zdrojů a v posledních letech jsou stále více preferována z důvodu rostoucího zájmu spotřebitelů o přirozenější složení potravin. Typickými příklady jsou kurkumin z kurkumy, riboflavin (vitamin B2), chlorofyl z listové zeleně, karoteny z mrkve či karmín, který se získává z červce nopálového. Dále se využívají například antokyany z bobulového ovoce nebo betalainy z červené řepy. Přírodní barviva často přinášejí kromě své barevné funkce i zdravotní benefity, například díky přítomnosti antioxidantů. Nevýhodou však může být jejich nižší stabilita vůči světlu, změnám pH nebo vyšším teplotám, což může vést ke ztrátě barevnosti během zpracování či skladování produktu [22].

Syntetická barviva jsou chemicky definované látky, které se vyznačují vysokou barevnou intenzitou, stabilitou a nižší cenou. V potravinářské výrobě se používají například tartrazin (E102), azorubin (E122), ponceau 4R (E124), brilantní modř FCF (E133) nebo čern BN (E151). Tyto látky umožňují přesné dávkování a zachování konzistentní barevnosti během celého procesu výroby i následného skladování. Některá syntetická barviva však mohou být spojována s nežádoucími účinky, jako jsou alergické reakce nebo hyperaktivita u dětí, což vedlo k zavedení povinného označování těchto látek na obalech potravin v rámci legislativy Evropské unie [23, 24].

2.2.6 Aromata

Aromata představují důležitou složku při výrobě nečokoládových cukrovinek, jelikož výrazně ovlivňují výslednou senzorickou kvalitu produktu, zejména chuť a vůni, které jsou pro spotřebitele klíčové. V potravinářství se používají jak přírodní, tak syntetická aroma, přičemž

jejich výběr závisí na požadovaném aromatickém profilu, stabilitě během výrobního procesu a cenové dostupnosti. Přírodní aroma se získávají z rostlinných nebo živočišných zdrojů, například esenciální oleje, ovocné extrakty nebo destiláty. Naopak syntetická aroma jsou chemicky definované látky, které napodobují vůně přirozeně se vyskytujících sloučenin – často se využívají pro jejich vyšší stabilitu a nižší náklady. V případě cukrovinek jsou běžná ovocná, mentolová, vanilková nebo karamelová aroma, přičemž klíčovým požadavkem je jejich schopnost zachovat si charakteristické vlastnosti i při vyšších teplotách a nízké aktivitě vody. Použití aromat podléhá příslušným regulacím [25].

2.2.7 Regulátory kyselosti

Regulátory kyselosti a potravinářské kyseliny jsou důležitou složkou při výrobě nečokoládových cukrovinek, protože ovlivňují jak chuťový profil, tak i technologické vlastnosti výrobku. Jejich hlavním úkolem je upravit nebo stabilizovat pH prostředí, čímž přispívají ke zvýraznění svěží kyselé chuti, zlepšení stability barviv a funkčnosti želírujících látek. Nejčastěji používanou kyselinou je kyselina citrónová (E330), která se vyznačuje jemnou, příjemně osvěžující chutí a výbornou rozpustností. Kyselina jablečná (E296) je ceněná pro svou plnou a hladkou kyselost, která se dobře kombinuje s ovocnými příchutěmi. Kyselina vinná (E334) má ostřejší chuť a je často využívána ve spojení s dalšími kyselinami pro vytvoření intenzivního chuťového profilu. Kyselina mléčná (E270) se používá nejen pro acidifikaci, ale také pro její jemně mléčný podtón, který může pozitivně ovlivnit celkový dojem z výrobku [26].

Kromě senzorickeho přínosu hrají kyseliny důležitou roli i z hlediska mikrobiální stability. Snížením pH prostředí totiž dochází k omezení růstu nežádoucích mikroorganismů, čímž se prodlužuje trvanlivost a bezpečnost cukrovinek. Tento efekt je významný zejména u produktů s vyšším obsahem vlhkosti, jako jsou želé nebo gumové bonbony. Kyseliny se navíc podílejí i na stabilizaci jiných funkčních složek – například barviv, jejichž barevný odstín může být pH-dependentní. Kromě samotných kyselin se v recepturách uplatňují také jejich soli nebo pufrací systémy, které umožňují přesnou kontrolu kyselosti během výroby i skladování. Výběr konkrétní kyseliny a její koncentrace se řídí požadovaným chuťovým efektem, technologickými vlastnostmi i typem cílového produktu [27].

2.3 Nečokoládové cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou

Cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou představují specifickou skupinu sladkých výrobků, které se vyznačují vysokým obsahem cukru a nižším podílem vody. Klíčovou roli při jejich výrobě hrají přísady bránící krystalizaci sacharózy snížením její rozpustnosti, jako je například glukózový sirup. Tyto cukrovinky zahrnují široké spektrum druhů s různou konzistencí, od měkkých po tvrdé a řadíme sem například kandyty, karamely, želé nebo gumovité cukrovinky. Díky své specifické výrobní technologii a složení se tyto produkty vyznačují jedinečnými senzorickeými vlastnostmi, které je činí oblíbenými u široké škály spotřebitelů [28, 29].

2.3.1 Želé cukrovinky

Želé cukrovinky mají charakteristickou konzistenci gelu, která vzniká přidáním želírujících látek, jako jsou pektin, agar, škrob nebo želatina. Tyto látky se přidávají do směsi sacharózy, škrobového sirupu, případně kyselin, aromatických látek a barviv, což společně tvoří základní

složení těchto výrobků. Želé cukrovinky lze rozdělit do dvou hlavních skupin na základě původu použité želírující látky. První skupinu tvoří ovocné želé, využívající přírodní želírující složky obsažené v ovocných dřeních, šťávách či rosolotvorných směsích. Druhou skupinu představuje želé s ovocnou příchutí, které je vyráběno pomocí přídatku želírujících látek. Volba a množství želírující látky závisí na požadovaných vlastnostech finálního produktu, přičemž je nutné při jejím použití dbát na její chemickou stabilitu a zabránit případné hydrolýze. Výroba těchto cukrovinek zahrnuje specifické procesy, od přípravy směsi až po formování, přičemž se zohledňují požadavky na strukturu a chuť konečného výrobku [1, 28].

2.3.1.1 Agarové želé

Výroba agarového želé začíná rozpuštěním agaru, který se používá ve formě prášku nebo vláken. Agar je smíchán s vodou a zahříván na teplotu 85 až 90 °C, dokud nevznikne homogenní koloidní roztok. Po dosažení této konzistence se do směsi přidává sacharóza a směs se dále zahřívá na teplotu 105 až 107 °C. Následně se přidává škrobový sirup a celý roztok je ochlazen na přibližně 60 °C. V této fázi se do směsi přimíchávají aditivní látky, jako jsou regulátory kyselosti, barviva a aromatické složky, které dodávají želé požadované sensorické vlastnosti. Výsledná hmota je následně nalita do forem, většinou škrobových, kde tuhne na finální konzistenci. Tento postup umožňuje vytvořit cukrovinky s optimální strukturou a sensorickými vlastnostmi, přičemž konečný produkt může být upraven například povrchovou glazurou nebo jinými technologiemi pro zvýšení stability a vizuální atraktivity [30, 31].

2.3.1.2 Želatinové želé

Výroba želatinového želé začíná přípravou cukerného roztoku, který vzniká smísením sacharózy a škrobového sirupu v poměru 2:1 až 1:1. Tato směs je následně zahřívána na teplotu varu v rozmezí 113 až 121 °C, přičemž cílová teplota závisí na konkrétním složení směsi. Paralelně je připravován roztok želatiny, která se za kontinuálního pomalého míchání rozpouští ve vodě o teplotě 54 až 60 °C. Po dosažení požadovaných parametrů obou složek dochází k jejich smíchání, přičemž je klíčové, aby cukerný roztok byl k želatinovému roztoku přidáván pozvolna a teplota výsledné směsi nepřekročila 100 °C. Vyšší teploty by totiž mohly narušit želírující vlastnosti želatiny [1, 32].

Hotová směs je poté nalévána do forem, obvykle škrobových, kde dochází k tuhnutí a získání konečných tvarů cukrovinek. Kritickým faktorem ovlivňujícím kvalitu želatinového gelu je pH směsi, které by mělo být udržováno v rozmezí 3,8 až 4,0. Tato hodnota je zajišťována přídatkem regulátorů kyselosti, nejčastěji kyseliny citronové. Při jejím přidavku je potřeba hlídat správnou teplotu, neboť při přidání kyseliny za příliš vysoké teploty může dojít k inverzi sacharózy ve směsi, což negativně ovlivňuje vlastnosti finálního produktu. Optimalizace pH je nezbytná pro zajištění maximální želírující schopnosti a zabránění zakalení, které může nastat při dosažení izoelektrického bodu želatiny (pH 4,8) [33, 34].

2.3.1.3 Pektinové želé

Pektinové želé se připravuje smísením práškového pektinu se sacharózou, čímž se upravuje jeho želírující schopnost. Koncentrace sacharózy ve vodném roztoku nesmí překročit 20 %, protože ve vyšších koncentracích dochází k obtížnému rozpouštění pektinu. Směs se zahřívá až k bodu varu, čímž se zajistí úplné rozpuštění pektinu, a poté se postupně přidává škrobový sirup

a část kyseliny pro úpravu pH. Roztok se následně odpařuje, dokud obsah sušiny nedosáhne 75 až 79 %. Po ochlazení pod 60 °C se přidávají zbývající kyseliny a další aditiva, která dodávají finálnímu výrobku požadované vlastnosti. Nakonec se směs nalévá do forem, kde velmi rychle tuhne díky přítomnosti okyseleného pektinu, čímž získává svou jemnou a pružnou konzistenci. Tato technologie vyžaduje přesné dodržení postupů, aby bylo dosaženo vysoké kvality výsledného produktu [1, 35].

2.3.1.4 Škrobové želé

Příprava škrobového želé začíná vytvořením suspenze sacharózy, škrobového sirupu a škrobu ve vodě. Po zahřátí směsi dochází k absorpci vody škrobovými zrny, která bobtnají a následně se rozpadají, což vede k vytvoření roztoku. Při ochlazování roztoku se tvoří gelová struktura. Tato hmota je poté nalita do forem a ponechána ztuhnout. Vlastnosti vzniklého želé lze modifikovat výběrem různých typů škrobů, jako jsou modifikované škroby, škroby s vysokým obsahem amylózy nebo řídce vařivé škroby [1, 36].

2.3.2 Gumovité cukrovinky

Při výrobě gumovitých cukrovinek, jako jsou žvýkačky, se používají suroviny, které zajišťují jejich charakteristickou gumovitou konzistenci, jako je želatina, arabská guma, sacharóza a škrobový sirup. Roztok těchto složek se zahřívá na vyšší teploty (121 až 136 °C), což závisí na typu cukrovinky – měkké nebo tvrdé. Mezi měkké cukrovinky se řadí gumoví medvídci, želé bonbony nebo guma na žvýkání. Příkladem tvrdých cukrovinek jsou tvrdé bonbony nebo některé druhy lízátek. Po ochlazení se hmota nalévá do škrobových forem, kde během sušení získává požadovanou konzistenci. Měkké gumovité cukrovinky lze vyjmout již druhý den, zatímco tvrdé vyžadují delší sušení. Hotové výrobky jsou následně obaleny cukrem nebo ošetřeny lešticími látkami [28, 37].

Žvýkáci guma, která je specifickým typem gumovité cukrovinky, se vyrábí smícháním svařeného roztoku sacharózy a škrobového sirupu s roztavenou základní bází, jako je přírodní chicle ze stromů Manikala nebo syntetická alternativa polyvinylester nebo polyisobutylen. K dosažení správné textury se přidávají změkčovadla (např. glycerol), emulgátory (lecitin) a zahušťovadla (arabská guma nebo methylcelulóza). Pro dochucení se používají aromatické látky, jako jsou éterické oleje [38, 39].

2.3.3 Kandyty

Kandyty jsou tvrdé cukrovinky nečokoládového charakteru, které mají sklovitý vzhled a mohou mít různé tvary, barvy a chutě. Základem těchto cukrovinek je amorfní kandytová hmota, která se vyrábí odpařením cukrového sirupu, přičemž obsah vody v hotovém výrobku nesmí přesáhnout 3 %. Proces výroby zahrnuje delší zahřívání směsi při vyšších teplotách, aby se dosáhlo správného poměru vody a sušiny. Kandyty mohou být vyráběny s náplní nebo bez a mezi jejich typické zástupce patří roksy, dropsy a furé [40, 41].

2.3.4 Karamely

Karamely jsou cukrovinky s plastickou konzistencí, která jim dává žvýkavý charakter. Jejich výroba je podobná výrobě kandytů, ale na rozdíl od nich mají matný vzhled a obsahují další suroviny, jako je kondenzované mléko, máslo a ztužený tuk, který emulguje v karamelové hmotě a dodává výrobkům vláčnost. Karamely mají vyšší obsah vody (4–7 %) a nižší teplotu

sváření, obvykle v rozmezí 127–156 °C. Do karamelu lze přidat různé chuťové složky, jako je vanilin, káva, kakao nebo ovocné výtažky. Hotová hmota se tvaruje do provazců, ze kterých se následně formují jednotlivé cukrovinky [42, 43].

2.4 Skladovací podmínky nečokoládových cukrovinek

Skladovací podmínky nečokoládových cukrovinek jsou zásadní pro udržení jejich kvality, bezpečnosti a trvanlivosti. Mezi hlavní faktory ovlivňující stabilitu těchto výrobků patří teplota, relativní vlhkost, světlo, přístup vzduchu a ochrana před cizími pachy. Zvláštní pozornost je třeba věnovat ochraně před přímým slunečním zářením, které může urychlovat oxidaci tuků, způsobovat ztrátu barvy a změny chuti. Rovněž skladování v prostředí s přítomností intenzivních pachů (například koření, čisticích prostředků) může vést k absorpci těchto pachů cukrovinkami a negativně ovlivnit jejich senzorické vlastnosti. Ideální skladovací podmínky zahrnují teplotu v rozmezí 15–20 °C a relativní vlhkost nepřesahující 65 %, čímž se minimalizuje riziko mikrobiální kontaminace a nechtěných texturních změn [6].

Neméně důležitým faktorem ovlivňujícím trvanlivost je přístup vzduchu, zejména kyslíku. Oxidace je jedním z hlavních degradačních mechanismů u produktů obsahujících tuky, aromatické látky nebo přírodní barviva. Uzavřené obaly s nízkou propustností pro kyslík a vlhkost (například lamináty nebo vakuová balení) významně prodlužují životnost cukrovinek. Naopak balení propustné pro vzduch může vést k rychlejší degradaci barvy, chuti a antioxidační kapacity, a tím zkrátit dobu trvanlivosti [44].

Významnou roli ve stabilitě cukrovinek sehrávají i složky obsažené ve finálním produktu. Různé přírodní látky, zejména rostlinné extrakty s antioxidačním a antimikrobiálním účinkem, mohou podpořit prodloužení trvanlivosti.

Matulyte a kol. [45] ve studii využili hydrolát z muškátového oříšku ke zlepšení mikrobiologické stability želatinových bonbonů, kdy došlo k potlačení růstu plísní a zároveň ke stabilizaci textury během 28denního skladování.

Wahba a kol. [46] využili extrakty z ovocných slupek pro zpomalení oxidačních procesů a prodloužení trvanlivosti měkkých cukrovinek.

Výzkum Ali a kol. [47] ukázal, že extrakty z rostliny *Piper betle* si uchovaly více než 95 % své antioxidační aktivity i po 180 dnech skladování v temnu při 5 °C v uzavřeném obalu.

Priya a Prakash [48] sledovali změny ve fyzikálně-chemických vlastnostech želé cukrovinek se sníženým obsahem cukru během 60 dní a potvrdili význam vhodného balení a řízeného prostředí pro zachování kvality.

Z uvedeného vyplývá, že skladovací podmínky nejenže ovlivňují stabilitu cukrovinek jako takových, ale i účinnost přidaných funkčních složek, jako jsou rostlinné extrakty, barviva nebo aromatické látky. Kombinace optimálního skladovacího prostředí s vhodným obalem a přísadkou přírodních stabilizačních látek představuje efektivní strategii pro prodloužení trvanlivosti výrobků bez použití syntetických konzervantů [6, 45].

2.4.1.1 Teplota a vlhkost

Teplota a vlhkost jsou klíčovými faktory, které výrazně ovlivňují kvalitu nečokoládových cukrovinek během skladování. Vysoké teploty mohou způsobit tání, změkčení nebo deformaci

produktů, což je obzvláště problematické u měkkých cukrovinek a želé. Nízké teploty naopak mohou způsobit ztvrdnutí a změnu textury. Vlhkost hraje neméně důležitou roli; nadměrná vlhkost může vést k lepkavosti povrchu, růstu plísní nebo degradaci obalů. Degradace způsobená vysokou vlhkostí může způsobit, že některé obaly, zejména papírové nebo plastové materiály s nízkou odolností vůči vlhkosti, mohou absorbovat vodu, což vede k jejich změknutí, deformaci a oslabení. Tím se zhoršuje jejich ochranná funkce a zvyšuje riziko pronikání vlhkosti, která by mohla negativně ovlivnit obsah cukrovinek (např. růst plísní nebo změkčení produktu). Zatímco příliš nízká vlhkost způsobuje vysychání a lámavost. Tyto změny nejen snižují senzorickou kvalitu cukrovinek, ale mohou ovlivnit i jejich bezpečnost a trvanlivost. Udržení teploty mezi 15–20 °C a relativní vlhkosti kolem 50–60 % je proto nezbytné pro zachování optimální kvality a konzistence výrobků [49, 50].

2.4.1.2 Vliv světla a vzduchu

Světlo a vzduch mohou mít významný vliv na kvalitu nečokoládových cukrovinek během jejich skladování. Přímé sluneční záření nebo intenzivní umělé světlo může způsobit degradaci barvy, chuti a vůně cukrovinek, zejména u produktů obsahujících přírodní barviva a aroma, která jsou na světlo citlivá. Světlo může rovněž podnítit chemické reakce, například oxidaci tuků či jiných složek, což vede ke snížení kvality a vzniku nežádoucích pachů. Vystavení cukrovinek vzduchu může způsobit ztrátu vlhkosti, což vede k jejich tvrdnutí, nebo naopak absorpci vlhkosti z okolí, což zvyšuje riziko lepkavosti a mikrobiální kontaminace. Uzavřené, neprodyšné a neprůhledné obaly tak hrají klíčovou roli při ochraně cukrovinek před vlivem světla a vzduchu a umožňují zachování jejich původní kvality po celou dobu skladování [51, 52].

2.5 Charakteristika rostlinného materiálu

V experimentální části této práce byl do vyrobených želé cukrovinek přidáván extrakt tužebníku jilmového (lat. *Filipendula ulmaria*). Díky vysokému obsahu aromaticky aktivních látek a dalších biologicky aktivních látek s nutriční hodnotou byl tužebník již předmětem několika studií.

Churin a kol. [53] prokázali, že extrakt z tužebníku jilmového stimuluje humorální imunitu, což je část imunitního systému, která se zaměřuje na obranu proti patogenům pomocí protilátek produkovaných B-lymfocyty. Tyto protilátky se vážou na cizí látky (antigeny) jako jsou bakterie, viry nebo toxiny, a neutralizují je nebo je označují pro destrukci jinými imunitními buňkami. Tento typ imunity je klíčový pro ochranu proti extracelulárním infekcím [54]. Zároveň také studie prokázala, že tužebník jilmový potlačuje produkci prozánětlivých cytokinů.

Samardžić a kol. [55] studovali protizánětlivé účinky bylinného extraktu. Účinnost byla sledována v různých dávkách na modelech zánětu u potkanů. Byla prokázána výrazná protektivní účinnost ve srovnání s kontrolními skupinami, které extrakt neobdržely a u nichž bylo žaludeční poškození výrazně závažnější.

Katanić a kol. [56] prováděli hodnocení in vitro a in vivo a prokázali, že extrakt z tužebníku inhibuje aktivitu enzymu cyklooxygenázy a snižuje u potkanů zánět vyvolaný karagenanem.

2.5.1 Tužebník jilmový

Tužebník jilmový (*Filipendula ulmaria*) (Obrázek 1) je vytrvalá bylina patřící do čeledi růžovitých. Vyskytuje se převážně v Evropě a mírném pásmu Asie, kde roste na vlhkých loukách, v příkopech, podél vodních toků a v lužních lesích. Preferuje půdy s vysokou vlhkostí a často se objevuje v blízkosti bažinatých oblastí. Rostlina dorůstá výšky 50–150 cm, je charakteristická svou vzpřímenou lodyhou a bohatým květenstvím drobných krémově bílých květů. Květy obsahují aromatické silice, které tužebníku dodávají charakteristickou vůni a nasládlou chuť [57, 58].

Tužebník jilmový je známý svými léčivými účinky, které jsou dány obsahem biologicky aktivních látek, jako jsou fenolové glykosidy (zejména salicyláty), flavonoidy, třísloviny a silice. Díky těmto složkám má rostlina protizánětlivé, analgetické a antipyretické účinky. Tradičně se využívá v lidovém léčitelství při nachlazení, horečce, revmatických bolestech a zažívacích potížích [59, 60].

Kromě léčivého využití nachází tužebník uplatnění i v potravinářství a kosmetickém průmyslu. Květiny a listy se někdy přidávají do bylinných čajových směsí, sirupů nebo likérů. V kosmetice se extrakty z tužebníku používají pro své zklidňující a antiseptické vlastnosti v pleťových vodách a krémech. Celkově je tužebník jilmový cennou rostlinou s širokým spektrem využití [61, 62].

Harbourne a kol. [63] se zaměřili na optimalizaci podmínek vodné extrakce fenolických sloučenin z tužebníku pro jejich začlenění do nápojů. Výzkum ukázal, že extrakce při teplotách mezi 60 a 100 °C vedla k postupnému zvyšování koncentrace celkových fenolů, tříslovin, kvercetinu a kyseliny salicylové.

Katanić a kol. [64] se zabývali metanolickými extrakty z tužebníku jilmového. Výsledky této studie ukázaly, že extrakty obsahují vysoké koncentrace fenolických sloučenin. Studie prokázala, že tyto extrakty mají silnou antioxidační aktivitu a antibakteriální účinky, které by mohly být využity v potravinářských produktech pro zvýšení jejich stability a bezpečnosti.



Obrázek 1: Tužebník jilmový [58]

2.5.1.1 Těkavé látky obsažené v tužebníku jilmovém

Tužebník jilmový obsahuje široké spektrum těkavých látek, které jsou zodpovědné za jeho charakteristickou vůni a chuť a zároveň přispívají k jeho biologické aktivitě. Mezi nejvýznamnější složky patří silice, fenolické sloučeniny a deriváty salicylátů, které mají výrazné farmakologické účinky. Z chemického hlediska jsou klíčovými těkavými látkami především salicylaldehyd a methylsalicylát. Tyto sloučeniny dávají tužebníku jeho typickou sladkou, mírně kořeněnou vůni a zároveň se podílejí na jeho analgetických, protizánětlivých a antipyretických vlastnostech. Methylsalicylát je známý jako přírodní prekurzor kyseliny acetylsalicylové a je často využíván v léčivých mastech a obkladech k úlevě od bolesti svalů a kloubů [65, 66].

Kromě salicylátových derivátů byly v esenciálním oleji tužebníku identifikovány i další těkavé látky, jako jsou benzaldehyd, eugenol a vanilin. Tyto sloučeniny přispívají k celkovému aromatickému profilu rostliny a vykazují mírné antiseptické a protizánětlivé účinky. V menším množství se v rostlině vyskytují také monoterpeny a seskviterpeny, které se podílejí na její vůni a pravděpodobně hrají roli i v obranných mechanismech proti býložravcům a patogenům. Celkově lze říci, že těkavé látky tužebníku jilmového nejen přispívají k jeho senzorickým vlastnostem, ale mají také významné terapeutické využití, což podporuje jeho tradiční i moderní aplikace v medicíně a kosmetice [67, 68].

2.5.1.2 Antioxidační a antimikrobiální potenciál tužebníku

Mezi nejdůležitější biologické vlastnosti tužebníku jilmového patří antioxidační a antimikrobiální účinky. Tyto vlastnosti jsou dány přítomností širokého spektra bioaktivních sloučenin, zejména flavonoidů, fenolických kyselin, tríslovin a derivátů salicylátů. Díky těmto látkám tužebník přispívá k ochraně organismu před škodlivými vlivy volných radikálů a zároveň vykazuje inhibiční účinky proti různým patogenním mikroorganismům [69].

Antioxidační účinky tužebníku jsou primárně spojeny s jeho vysokým obsahem flavonoidů, jako jsou kvercetin, kaempferol a hyperosid, a fenolických kyselin, například kyseliny chlorogenové a ellagové. Tyto látky působí jako silné antioxidanty, které neutralizují volné radikály a chrání buňky před oxidačním stresem. Studie Chen a kol. [70] prokázala, že extrakty z tužebníku vykazují významnou schopnost redukovat reaktivní formy kyslíku (ROS) a peroxidaci lipidů, čímž přispívají k ochraně buněčných struktur a zpomalují proces stárnutí. Díky těmto vlastnostem může být tužebník využíván jako přírodní zdroj antioxidantů v prevenci chronických onemocnění, jako jsou kardiovaskulární choroby, diabetes nebo neurodegenerativní poruchy [70, 71].

Kromě antioxidační aktivity se tužebník jilmový vyznačuje i významnými antimikrobiálními vlastnostmi. Tyto účinky jsou přisuzovány synergickému působení fenolických sloučenin, tríslovin a esenciálních olejů, které se podílejí na narušení metabolismu bakteriálních a plísňových buněk. Výzkumy prokázaly inhibiční aktivitu extraktů z tužebníku proti širokému spektru bakteriálních patogenů, včetně *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus subtilis*. Mechanismus účinku je spojen s narušením buněčných membrán mikroorganismů, čímž dochází k jejich destrukci nebo inhibici růstu. Trísloviny obsažené v rostlině mají adstringentní účinek, zatímco fenolické sloučeniny mohou interferovat s metabolickými procesy bakterií [59, 72].

Vedle antibakteriálních účinků byla u tužebníku potvrzena i antimykotická aktivita, zejména proti kvasinkám rodu *Candida* a plísním, jako je *Aspergillus niger*. Těchto vlastností je využíváno nejen v tradiční medicíně při léčbě kožních a slizničních infekcí, ale také v moderní farmakologii a kosmetickém průmyslu. Extrakty z tužebníku nacházejí uplatnění v přírodních konzervačních přípravcích, dermatologických produktech a antiseptických formulacích určených k ochraně pokožky a sliznic [73, 74].

Savina a kol. [75] se zaměřili na květy a plody tužebníku a analyzovali přítomné bioaktivní látky pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Nejvíce zastoupené byly deriváty quercetinu a kyseliny salicylové. Tyto složky vykazovaly silné antimikrobiální účinky, zejména vůči bakteriím *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas aeruginosa*. Autoři navrhuji využití extraktu z tužebníku jako přírodního antimikrobiálního činidla s možným využitím v potravinářských nebo kosmetických aplikacích, kde je kladen důraz na snížení syntetických konzervantů.

Delić a kol. [72] porovnávali obsah polyfenolů v různých částech rostliny – kořenech, listech a květech – a následně hodnotili jejich antioxidační účinek pomocí ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina) a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential) testů. Nejvyšší koncentrace fenolických sloučenin byla zaznamenána v květech (74,55 mg ekvivalentu kyseliny gallové/g sušiny), přičemž extrakt z květů vykazoval i nejvyšší antioxidační aktivitu.

Krstić a kol. [76] hodnotili účinky hyperbarické kyslíkové terapie a doplňování antioxidantů extraktem z tužebníku při léčbě tepelných kožních poranění u potkanů. Současné podávání hyperbarické kyslíkové terapie a doplňování antioxidantů extraktem z tužebníku významně zlepšilo samotnou ránu a hojení.

Díky kombinaci antioxidačního a antimikrobiálního potenciálu je tužebník jilmový zajímavým objektem vědeckého výzkumu, zejména v oblasti přírodních léčiv a farmaceutického průmyslu. Jeho bioaktivní složky mohou přispět k prevenci a léčbě celé řady onemocnění, od zánětlivých stavů až po infekční choroby. Současné studie se proto zaměřují na podrobnější zkoumání jeho účinných složek, optimalizaci extrakčních metod a možnosti jeho širšího terapeutického využití [58, 77].

Losseva a kol. [78] se zaměřili na hodnocení protizánětlivé aktivity a chemického složení extraktů z tužebníku jilmového získaných ultrazvukovou metodou. Bylo identifikováno 16 fenolických sloučenin, včetně 6 fenolových kyselin a 10 flavonoidů, pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC-MS). Výsledky ukázaly, že extrakty z tužebníku jilmového vykazují významné protizánětlivé a regenerační účinky, což naznačuje jejich potenciál pro vývoj protizánětlivých a regeneračních léků.

2.6 Způsoby získávání účinných látek z přírodních materiálů

Přírodní materiály obsahují širokou škálu biologicky aktivních látek, které nacházejí využití v medicíně, farmacii, potravinářství a kosmetickém průmyslu. Získávání těchto látek je klíčovým krokem k jejich efektivnímu využití, přičemž existuje řada metod, které se liší mimo jiné svojí účinností, selektivitou a ekologickým dopadem [79, 80].

Tradiční metody, jako macerace, perkolace nebo destilace s vodní parou, jsou široce používány díky své jednoduchosti a dlouhodobě ověřené účinnosti. Umožňují získání účinných složek z rostlinných materiálů relativně nenáročným způsobem, avšak často s nižší efektivitou nebo delší dobou extrakce [81, 82].

Moderní technologie jako například superkritická fluidní extrakce, ultrazvuková extrakce nebo mikrovlnná extrakce přinášejí vyšší výtěžnost a zároveň šetrnější přístup k životnímu prostředí. Tyto metody umožňují získání účinných látek bez zbytků rozpouštědel a při nižších energetických nákladech, čímž se stávají preferovanými v průmyslovém měřítku [83, 84].

Volba konkrétní metody extrakce závisí na chemických vlastnostech účinné látky, požadované čistotě a výtěžnosti, ale také na dostupnosti technologického vybavení a ekonomických faktorech. Vzhledem k rostoucím požadavkům na udržitelnost a efektivitu výroby se stále více klade důraz na inovativní postupy, které minimalizují ekologickou stopu a zvyšují kvalitu získaných produktů [81, 85].

2.6.1 Macerace

Macerace je jedna z nejstarších a nejjednodušších metod extrakce účinných látek z přírodních materiálů. Spočívá v máčení suroviny v rozpouštědle při dané teplotě po určitou dobu, což umožňuje postupné uvolňování aktivních složek. Nejčastěji se používají rozpouštědla jako voda, ethanol nebo jejich směsi, přičemž volba závisí na rozpustnosti a polaritě cílových látek [86, 87].

Macerace je jednoduchá metoda s nízkými technologickými nároky. Proces nevyžaduje složité zařízení a je energeticky nenáročný, což jej činí vhodným pro laboratorní i průmyslové využití. Na druhou stranu macerace obvykle trvá několik hodin až dní a její účinnost může být nižší než u modernějších metod extrakce. Pro zvýšení výtěžnosti lze využít míchání, zvýšené teploty nebo použití vícefázové macerace [88, 89].

Andonova a kol. [60] se zaměřili na přípravu suché tinktury z nadzemních částí tužebníku jilmového pomocí macerace. 100 g sušeného rostlinného materiálu bylo rozemleto a macerováno po dobu 10 dnů v 1 litru 96% ethanolu při pokojové teplotě a ve tmě. Po filtraci byl extrakt vakuově koncentrován na suchou tinkturu. Tato tinktura byla následně použita pro hodnocení DNA-protektivní aktivity a antioxidační aktivity.

2.6.2 Perkolace

Perkolace je metoda kontinuální extrakce, při níž rozpouštědlo postupně protéká vrstvou rostlinného materiálu. Tento proces probíhá ve speciálním perkolátoru, kde se rozpouštědlo pohybuje shora dolů a postupně extrahuje účinné látky. Na rozdíl od macerace umožňuje perkolace efektivnější a rychlejší uvolňování bioaktivních složek, čímž se zvyšuje výtěžnost extraktu [90, 91].

Hlavní výhodou perkolace je její schopnost dosáhnout vyšší koncentrace účinných látek za kratší dobu ve srovnání s macerací. Proces lze dále optimalizovat změnou průtoku rozpouštědla, drcením rostlinného materiálu nebo použitím vícefázového perkolování. Díky své účinnosti se perkolace často využívá v průmyslové výrobě bylinných extraktů a tinktur [92, 93].

Táběrašu a kol. [94] se zaměřili na extrakci polyfenolů z kopřivy, levandule a šalvěje pomocí perkolace. Byly testovány různé parametry, včetně tlaku, velikosti částic rostlinného materiálu,

doby extrakce a počtu cyklů perkolace. Antioxidační kapacita extraktů byla hodnocena metodou DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl). Výsledky ukázaly, že perkolace je efektivní metodou pro získání polyfenolických sloučenin z těchto bylin.

2.6.3 Soxhletova extrakce

Soxhletova extrakce je speciální metoda kontinuální extrakce, která se využívá k získávání účinných látek z tuhých materiálů pomocí opakovaného promývání horkým rozpouštědlem. Proces probíhá ve speciálním zařízení zvaném Soxhletův extraktor, který umožňuje efektivní separaci cílových složek bez potřeby velkého množství rozpouštědla [95, 96].

Během Soxhletovy extrakce se rozpouštědlo zahřívá v baňce, jeho pára kondenzuje v chladiči a odtud kapalně rozpouštědlo stéká na extrahovaný materiál v extrakční patroně. Po dosažení určitého objemu se extrakt vrací do baňky, kde se rozpouštědlo znovu odpaří a proces se opakuje. Tento cyklický mechanismus umožňuje dosažení vysoké účinnosti extrakce i pro složky s nízkou rozpustností [95, 97].

Hlavní výhodou Soxhletovy extrakce je její schopnost dosáhnout maximálního vyčerpání účinných látek bez nutnosti neustálé výměny rozpouštědla. Na druhou stranu nevýhodou může být delší doba trvání a vyšší energetická náročnost, zejména při použití vysokých teplot. Další nevýhodou je možnost použití jen relativně malého množství extrahovaného materiálu oproti maceraci či perkolaci, z čehož pramení i poměrně nízké výsledné množství získaného extraktu. Soxhletova extrakce se často využívá v analytické chemii a farmaceutickém výzkumu [98, 99].

Redfern a kol. [100] využili Soxhletovu extrakci k získání esenciálních olejů z tymiánu (*Thymus vulgaris*). Postup zahrnoval použití přibližně 14 g tymiánu, ethanolu jako rozpouštědla a 16hodinovou extrakci.

2.6.4 Destilace s vodní parou

Destilace s vodní parou je metoda používaná k extrakci těkavých složek, především esenciálních olejů, z rostlinných materiálů. Princip spočívá v působení horké vodní páry na rostlinnou surovinu, čímž dochází k uvolnění těkavých látek, které se společně s parou přenášejí do chladiče, kde kondenzují. Vzniklý kondenzát se následně separuje na vodnou fázi a olejovou fázi. Cílové látky se dle jejich charakteru následně koncentrují v jedné z fází. [101, 102].

Tato metoda je ekologicky šetrná, protože nevyžaduje použití organických rozpouštědel, což snižuje riziko kontaminace extraktu a zároveň minimalizuje dopad na životní prostředí. Destilace s vodní parou se hojně využívá v aromaterapii, potravinářství a kosmetickém průmyslu, zejména při získávání esenciálních olejů z bylin, květů a dalších rostlinných materiálů [103].

Hlavní výhodou této metody je její selektivita pro těkavé složky a možnost získání vysoce čistých extraktů. Nevýhodou je nižší výtěžnost u některých rostlinných druhů a nutnost použití specializovaného destilačního zařízení [104].

Lindeman a kol. [105] se zaměřili na analýzu esenciálního oleje získaného pomocí destilace s vodní parou z květů tužebníku jilmového. Po extrakci byl olej analyzován pomocí plynové chromatografie, která identifikovala hlavní složky v esenciálním oleji. Nejvýznamnější složkou byl salicylaldehyd (74,8 %). Dalšími významnými složkami byly fenylethanol (2,8 %), benzylalkohol (2,1 %), 4-methoxybenzenaldehyd (2,0 %) a methylsalicylát (1,3 %).

2.6.5 Ultrazvuková extrakce

Ultrazvuková extrakce je moderní metoda využívající vysokofrekvenční ultrazvukové vlny k rozrušení buněčných struktur přírodních materiálů, což usnadňuje uvolnění účinných látek do rozpouštědla. Tato technika je efektivní pro extrakci bioaktivních sloučenin z rostlin, hub nebo mikroorganismů a nabízí vysokou výtěžnost za relativně krátkou dobu [106, 107].

Proces ultrazvukové extrakce probíhá ve speciálních sonikačních zařízeních, kde se tvoří mikroskopické bubliny, které praskají, čímž dochází k mechanickému narušení buněčných stěn. Tento proces vede k rychlému uvolnění aktivních složek do extrakčního média, čímž se zkracuje doba extrakce a snižuje potřeba použití vysokých teplot [108].

Mezi hlavní výhody ultrazvukové extrakce patří rychlost, vysoká efektivita a možnost využití ekologicky šetrných rozpouštědel, jako je voda nebo ethanol. Tato metoda nachází uplatnění zejména v potravinářství, farmacii a kosmetickém průmyslu, kde je kladen důraz na šetrnost a čistotu extraktu. Nevýhodou může být potřeba speciálního ultrazvukového vybavení a omezená účinnost u některých typů materiálů s velmi pevnou buněčnou strukturou [109, 110].

Chmelová a kol. [111] se zaměřili na extrakci polyfenolů a antioxidantů z kůry smrku (*Picea abies*) pomocí ultrazvukové extrakce. Studie ukázala, že tato metoda může být efektivní alternativou k tradičním extrakčním technikám. Výzkum porovnával konvenční extrakci rozpouštědlem a ultrazvukovou extrakci, přičemž ultrazvukové extrakce dosáhla vyšších výtěžků polyfenolů a antioxidantů za kratší dobu a při nižších teplotách.

2.6.6 Subkritická vodní extrakce

Subkritická vodní extrakce je moderní metoda, která využívá vodu při teplotách v rozmezí od 100 °C do 374 °C a zvýšeného tlaku k extrakci bioaktivních látek z přírodních materiálů. V těchto podmínkách získává voda unikátní vlastnosti, jako je snížená viskozita a zvýšená difúzní schopnost, což umožňuje účinnější extrakci cílových složek bez nutnosti použití organických rozpouštědel [112, 113].

Tento proces probíhá v uzavřených extrakčních systémech, kde se voda zahřívá a tlak zabraňuje její přeměně na páru. Díky tomu dochází k efektivnímu rozpouštění polárních i některých nepolárních složek z rostlinného materiálu. Subkritická extrakce se využívá zejména v potravinářství, farmacii a kosmetice, například pro získávání polyfenolů, flavonoidů a dalších antioxidantů [103, 114].

Hlavní výhodou této metody je její ekologičnost, absence toxických rozpouštědel a vysoká účinnost. Nevýhodou může být vyšší energetická náročnost a potřeba specializovaného vybavení, což zvyšuje počáteční investiční náklady [114].

Ibañez a kol. [115] se zabývali subkritickou vodní extrakcí antioxidantů z listů rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*). Autoři testovali teploty v rozmezí 25–200 °C a zjistili, že subkritická voda je schopna selektivně extrahovat neaktivnější antioxidanty, jako jsou karnozol, rosmanol, kyselina karnosová a některé flavonoidy.

2.6.7 Superkritická fluidní extrakce

Superkritická fluidní extrakce je pokročilá metoda separace bioaktivních látek, která využívá kapaliny ve stavu superkritické fáze. Nejčastěji se používá oxid uhličitý, který při dostatečně

vysoké teplotě a tlaku získává vlastnosti jak kapaliny, tak plynu, což mu umožňuje efektivně pronikat do extrahovaného materiálu a rozpouštět cílové látky [116, 117].

Superkritická extrakce probíhá v uzavřeném systému, kde se oxid uhličitý komprimuje na superkritickou úroveň a poté prochází přes rostlinný materiál. Po extrakci je tlak snížen, čímž se oxid uhličitý vrací do plynného skupenství a extrahované složky zůstávají v koncentrované formě [118].

Tato metoda je vysoce selektivní, ekologicky šetrná a nevyžaduje použití organických rozpouštědel, což ji činí atraktivní pro farmaceutický, potravinářský a kosmetický průmysl. Nevýhodou mohou být vyšší pořizovací náklady na extrakční zařízení a potřeba přesné regulace tlaku a teploty [116, 119].

Abbas a kol. [120] se zaměřili na superkritickou fluidní extrakci z listů eukalyptu (*Eucalyptus camaldulensis*), kde byly extrahovány esenciální oleje bohaté na bioaktivní sloučeniny s antioxidačními a antimikrobiálními účinky. Superkritická fluidní extrakce byla provedena za podmínek 10^7 Pa a 45 °C, což vedlo k získání kvalitních esenciálních olejů.

2.6.7.1 Vliv extrakčních parametrů

Účinnost různých extrakčních metod může být výrazně ovlivněna několika faktory, jako je typ rozpouštědla, teplota a doba extrakce. Každý z těchto faktorů má zásadní vliv na výtěžnost a kvalitu získaných extraktů, a proto je jejich optimalizace klíčová pro průmyslové využití [117].

Typ rozpouštědla

Výběr rozpouštědla je zásadní, protože ovlivňuje rozpustnost specifických aktivních látek. Rozpouštědla se používají v širokém spektru, od vody po různé organické sloučeniny, přičemž každé má své vlastnosti, které určují jeho vhodnost pro extrakci konkrétních látek. Například polární rozpouštědla, jako je methanol a ethanol, jsou často volena pro svou schopnost rozpouštět různé organické sloučeniny, včetně fenolových kyselin a flavonoidů. Studie Zuorra a kol. [121] zkoumala vliv různých rozpouštědel na extrakci fenolických sloučenin z artyčokového odpadu a zjistila, že směsi ethanolu a vody poskytují nejvyšší výtěžnost antioxidantů.

Teplota

Dalším důležitým faktorem je teplota, která může ovlivnit jak účinnost, tak selektivitu extrakčního procesu. Vyšší teploty obvykle zvyšují rozpustnost látek a rychlost difuze přes buněčné membrány, ale mohou také způsobit degradaci citlivých sloučenin. Studie Kavaka [122] se zaměřila na optimalizaci extrakce antioxidantů a fenolických látek z listů kdoule a ukázala, že vyšší teplota zlepšuje účinnost extrakce, ale zároveň je nutné ji pečlivě kontrolovat, aby nedošlo k degradaci termolabilních sloučenin.

Doba extrakce

Doba extrakce je dalším klíčovým parametrem, protože ovlivňuje dosažení rovnováhy mezi rozpouštědlem a rostlinným materiálem. Delší extrakce obvykle vede k vyšším výtěžkům, ale může také zvýšit riziko degradace požadovaných sloučenin. Výzkum Norshazily a kol. [123], který se zabýval extrakcí karotenoidů z dýně pomocí potravinářských rozpouštědel, ukázal, že

doba extrakce má zásadní vliv na účinnost, přičemž delší doba obvykle zvyšuje výtěžek až do dosažení rovnováhy.

Celkově lze říci, že extrakce sloučenin rostlinného původu je složitý proces, který závisí na mnoha faktorech. Každý parametr musí být optimalizován, aby bylo možné účinně extrahovat bioaktivní látky, aniž by došlo k jejich degradaci. Probíhající výzkum a technologický pokrok v této oblasti neustále zlepšují extrakční techniky s cílem maximalizovat jejich účinnost a udržitelnost, jak ukazují výše zmíněné studie. Tyto a další pokroky naznačují, že technologie extrakce rostlin stále prochází dynamickým vývojem a slibují další inovace v budoucnu [124].

2.7 Možnosti zvýšení stability rostlinných extraktů

Stabilita rostlinných extraktů je klíčovým faktorem ovlivňujícím jejich účinnost a trvanlivost. Extrakty obsahují tisíce sloučenin, včetně polyfenolů, alkaloidů a terpenů, které vykazují široké spektrum biologické aktivity. Na druhou stranu účinnost těchto extraktů může být omezená kvůli jejich horší stabilitě a náchylnosti k oxidaci. Zvýšení stability lze dosáhnout několika technologickými postupy. Výběr vhodného rozpouštědla, jako je ethanol, methanol nebo glycerol, může významně prodloužit stabilitu díky jejich antimikrobiálním vlastnostem. Dále je možné stabilitu ovlivnit úpravou pH nebo přidávkem antioxidantů. Mezi další možnosti lze zařadit různé techniky enkapsulace, či lyofilizaci. Prodloužení stability lze dále dosáhnout vhodným skladováním v tmavých a hermeticky uzavřených obalech, které zabraňují přístupu kyslíku, vlhkosti a světla. Kombinace těchto metod umožňuje efektivně zachovat biologickou aktivitu rostlinných extraktů a jejich potenciál při dalším využití [125, 126].

2.7.1 Faktory ovlivňující stabilitu

Kromě technologických metod zajišťujících stabilitu rostlinných extraktů je nezbytné vzít v úvahu faktory, které ovlivňují stabilitu samotného rostlinného materiálu. Tyto faktory mají zásadní vliv na kvalitu a účinnost extraktů, protože již při sklizni nebo skladování mohou začít degradační procesy. Mezi hlavní faktory patří obsah vlhkosti, který hraje klíčovou roli v prevenci mikrobiálního růstu a rozkladu. Příliš vysoký obsah vody může urychlit enzymatickou aktivitu a tím i degradaci bioaktivních látek. Dále je důležité zohlednit podmínky skladování, zejména teplotu a vlhkost, které mají přímý vliv na stabilitu rostlinných materiálů. Vyšší teploty obvykle urychlují degradaci účinných látek, zatímco nižší teploty tyto procesy naopak obvykle zpomalují. Dalším z faktorů je hodnota pH při skladování. Při nevhodném pH mohou některé sloučeniny v rostlinném materiálu podléhat hydrolýze nebo oxidaci. Stabilitu může rovněž ovlivnit přítomnost kyslíku a světla, které mohou iniciovat chemické reakce vedoucí k degradaci. Proto je pro optimální stabilitu rostlinných materiálů důležité zajistit správné podmínky během sklizně, skladování a zpracování, které minimalizují negativní vlivy na bioaktivní složky [126, 127].

2.7.1.1 Oxidace a degradace účinných látek

Oxidace a degradace účinných látek představují významné faktory ovlivňující stabilitu rostlinných extraktů. Oxidace, která je způsobena přítomností kyslíku v prostředí, může vést k chemickým změnám v molekulách, což snižuje jejich biologickou aktivitu. Polyfenoly, flavonoidy, terpeny a další bioaktivní složky obsažené v rostlinných extraktech jsou zvláště

náchylné k oxidaci, což může mít za následek ztrátu účinnosti a změnu organoleptických vlastností extraktů, jako je barva nebo vůně [126].

Bendini a kol. [128] prokázali, že fenolické sloučeniny, zejména *o*-difenoly, hrají důležitou roli při ochraně před oxidací a mohou také vázat kovové ionty, jako je měď.

Volf a kol. [129] studovali tepelnou stabilitu polyfenolů, kdy došli k závěru, že se jedná o relativně tepelně stabilní látky. Po 4hodinovém působení vysokých teplot došlo k degradaci asi 15–30 % polyfenolických sloučenin. Dále se také zabývali sledováním vlivu UV-C záření, které může mít na polyfenoly výrazný účinek. Po 3 hodinách expozice došlo k degradaci až 83 % některých sloučenin.

Degradace účinných látek může také nastat v důsledku enzymatické aktivity, mikrobiálního růstu nebo vnějších faktorů, jako je teplo, světlo a pH prostředí. Enzymy přítomné v rostlinných materiálech mohou katalyzovat rozklad určitých sloučenin, což vede ke ztrátě jejich biologické aktivity [126].

2.7.1.2 Vliv pH a teploty

Degradační proces může být dále ovlivněn teplotou a pH, jejich vliv je klíčovým faktorem, který ovlivňuje degradační procesy a zachování bioaktivních látek rostlinných materiálů. pH prostředí může výrazně ovlivnit chemické vlastnosti rostlinných extraktů, přičemž extrémní hodnoty pH mohou vést k hydrolyze nebo destabilizaci některých sloučenin. Pro stabilitu bioaktivních látek, jako jsou fenolické látky, flavonoidy nebo alkaloidy, je vhodné pH velmi podstatné. Vysoké pH obvykle urychluje oxidaci, zatímco příliš kyselé prostředí může vést k degradaci některých sloučenin [126, 130].

Zásadní vliv na stabilitu rostlinných materiálů má rovněž teplota. Vyšší teploty obvykle zrychlují chemické reakce, což vede k rozkladu bioaktivních složek, denaturaci enzymů nebo ztrátě těkavých látek. Naopak nižší teploty zpomalují degradační procesy, ale mohou také ovlivnit strukturu rostlinných materiálů a jejich biologickou aktivitu. Optimální skladovací podmínky, které zahrnují kontrolu pH a teploty, jsou nezbytné pro zachování stability rostlinných materiálů a maximální efektivity extrahovaných účinných látek [126, 131].

2.7.2 Techniky pro zvýšení stability

Jelikož je stabilita rostlinných extraktů zásadním faktorem, využívají se proto různé technologické postupy sloužící ke zvýšení jejich stability. Mezi tyto postupy patří například regulace skladovacích podmínek, přidávání stabilizátorů, enkapsulace bioaktivních látek nebo úprava extrakčních metod. Správná kombinace těchto technik umožňuje prodloužení trvanlivosti extraktů a zachování jejich biologické aktivity po delší dobu [126, 132].

2.7.2.1 Použití stabilizátorů

Jedním z nejčastějších přístupů ke zvýšení stability rostlinných extraktů je použití stabilizátorů, které chrání bioaktivní složky před degradací a ztrátou účinnosti. Mezi nejpoužívanější stabilizátory patří antioxidanty, jako je vitamín C, vitamín E, kyselina gallová nebo syntetické látky jako butylhydroxytoluen (BHT). Tyto sloučeniny zpomalují oxidační procesy a chrání extrakty před působením kyslíku a volných radikálů. Další skupinou stabilizátorů jsou chelatační činidla, například kyselina citrónová nebo kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), které vážou kovové ionty katalyzující degradaci aktivních složek [125, 133].

Kromě antioxidantů a chelatačních činidel se k ochraně rostlinných extraktů využívají také emulgátory a stabilizátory rozpustnosti, které pomáhají udržovat homogenní konzistenci a zabráňují separaci složek. Pro zlepšení stability emulzí používaných pro podávání nutraceutik se stále častěji využívají přírodní stabilizátory, jako jsou rostlinné polysacharidy, a to díky jejich emulgačním a zahušťujícím účinkům. Různé emulgátory a koemulgátory, včetně povrchově aktivních látek, fosfolipidů, proteinů a polysacharidů, mohou různými mechanismy inhibovat oxidaci lipidů v emulzích. Přírodní stabilizátory emulzí odvozené z rostlinných a živočišných proteinů a fosfolipidů jsou účinné ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. Tyto stabilizátory mohou zvýšit účinnost zachycování, zlepšit rozpouštění a zvýšit retenci a stabilitu emulzí. Použití přírodních stabilizátorů emulzí nabízí výhody jako je biologická odbouratelnost, netoxičnost a ekologická účinnost, což je činí cennými pro uchování a bezpečné dodávání finálních produktů [134, 135].

Další významnou skupinou stabilizátorů jsou pH regulátory, které hrají klíčovou roli při udržování optimální kyselosti nebo zásaditosti, čímž snižují riziko degradace citlivých složek. Například organické kyseliny, jako je kyselina citronová nebo kyselina mléčná, mohou zvýšit stabilitu fenolických sloučenin v produktu.

Li a kol. [136] zkoumali vliv kyseliny citronové na rozpustnost polyfenolů v různých druzích čaje. Výsledky ukázaly, že přidání kyseliny citronové výrazně zvýšilo obsah epigallokatechin gallátu, hlavního polyfenolu v čaji, čímž se zlepšila celková antioxidační aktivita nápoje.

De Montijo-Prieto a kol. [137] se zabývali fermentací listů avokáda pomocí bakterií mléčného kvašení. Studie zjistila, že fermentace vedla k významnému zvýšení obsahu fenolických sloučenin a antioxidační aktivity extraktů.

Stabilizátory mohou také ovlivňovat senzorické vlastnosti extraktů, jako je chuť, barva a vůně, čímž zlepšují jejich použitelnost v různých aplikacích. Kombinace různých stabilizačních činidel často vede k synergickým účinkům, které výrazně prodlužují skladovatelnost rostlinných extraktů a zvyšují jejich účinnost [125, 138].

2.7.2.2 Enkapsulace

Enkapsulace je pokročilá technologie, která významně přispívá k ochraně a stabilizaci rostlinných extraktů. Tento proces spočívá v uzavření bioaktivních látek do ochranné matrice, která minimalizuje jejich expozici nepříznivým vnějším vlivům, jako jsou světlo, kyslík nebo teplota. K enkapsulaci se běžně využívají přírodní polymery, například maltodextrin, arabská guma, algináty, chitosan nebo cyklodextriny, které vytváří ochranný obal kolem účinných látek. Tento obal nejen prodlužuje trvanlivost extraktů, ale také snižuje riziko chemických a fyzikálních změn, které by mohly ovlivnit jejich účinnost [139, 140].

Mezi nejrozšířenější metody enkapsulace patří sprejové sušení, lyofilizace, nanoenkapsulace a liposomální technologie. Sprejové sušení je jedna z nejpoužívanějších metod díky své efektivitě a nízkým nákladům. Tento proces zahrnuje rozprašování roztoku obsahujícího extrakt a enkapsulační látky do proudu horkého vzduchu, kde dochází k rychlému odpaření rozpouštědla a tvorbě suchých mikročástic. Lyofilizace, neboli sušení mrazem, je šetrná metoda, která umožňuje zachovat biologickou aktivitu citlivých složek, ale je energeticky náročnější. Nanoenkapsulace se využívá především ke zvýšení biologické dostupnosti účinných látek, které se za běžných podmínek v organismu špatně vstřebávají, mají nízkou rozpustnost

ve vodě nebo jsou náchylné k degradaci vlivem pH, enzymů či oxidačních procesů. Tato technologie umožňuje zakomponování účinné látky do nanoskopických nosičů, které zlepšují její stabilitu, chrání ji před nepříznivými podmínkami v gastrointestinálním traktu a umožňují lepší průnik přes buněčné membrány. Nanoenkapsulace tak nachází uplatnění u celé řady bioaktivních látek, jako jsou vitamíny rozpustné v tucích (např. A, D, E, K), přírodní antioxidanty (např. kurkumin, resveratrol, flavonoidy), omega-3 mastné kyseliny či rostlinné extrakty s protizánětlivým nebo antimikrobiálním účinkem, jako je například extrakt z tužebníku jilmového. Tato forma zapouzdření se osvědčila také u esenciálních olejů a dalších těkavých sloučenin, jejichž účinnost je závislá na ochraně před rychlým odpařením nebo degradací. Výsledkem je efektivnější využití účinné látky organismem a možnost jejího cíleného a postupného uvolňování v místě působení [132, 141].

Liposomální technologie představuje inovativní přístup k enkapsulaci, který nabízí řízené uvolňování a lepší stabilitu bioaktivních látek. Liposomy, lipidové vezikuly napodobující biologické membrány, mají využití v nanomedicině, kosmetice a potravinářském průmyslu. Tuhé lipidové nanočástice (SLN) a nanostrukturované lipidové nosiče (NLC) jsou pokročilou alternativou liposomů, která kombinuje jejich výhody se zvýšenou stabilitou. Jejich biologická odbouratelnost a biokompatibilita z nich činí ideální nosiče nanosložek. Tyto techniky často zahrnují vysrážení účinné látky uvnitř předem připravených liposomů ve formě málo rozpustných komplexů s ionty nebo chemickými látkami. Každá účinná látka však vyžaduje individuální přístup, aby bylo možné účinně řídit její specifické vlastnosti. Mezi tyto vlastnosti patří především cílené dodávání účinné látky na místo účinku, což snižuje vedlejší účinky a zvyšuje terapeutickou efektivitu. Další výhodou je postupné (řízené) uvolňování, které umožňuje prodloužený účinek a snížení frekvence podávání. Liposomy zároveň chrání účinné látky před degradací vlivem světla, kyslíku, enzymů či pH prostředí, což prodlužuje jejich stabilitu a biologickou dostupnost. U některých látek se také projevuje schopnost procházet biologickými membránami efektivněji, a tím zlepšovat jejich absorpci. Díky těmto vlastnostem jsou liposomální systémy vhodné zejména pro látky s nízkou stabilitou, špatnou rozpustností nebo nízkou biologickou dostupností [140, 142].

Kromě ochrany a zvýšení stability umožňuje enkapsulace také maskování nežádoucí chuti a vůně rostlinných extraktů, což je klíčové při jejich použití v potravinářství a farmaceutickém průmyslu. Dále poskytuje možnost cíleného uvolňování účinných látek, například v gastrointestinálním traktu, kde mohou být chráněny před degradací žaludečními kyselinami. Díky těmto výhodám se enkapsulace stále více využívá v různých oblastech průmyslu a představuje slibnou technologii pro zlepšení funkčnosti a trvanlivosti rostlinných extraktů [143, 144].

2.8 Metody analýzy bioaktivních látek

Analýza těkavých látek v potravinářských výrobcích má zásadní význam pro kontrolu kvality a hodnocení bezpečnosti. Používají se různé chromatografické techniky, přičemž nejpoužívanější metodou je plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Mezi další techniky patří také HPLC, tenkovrstvá chromatografie (TLC) a kapilární elektroforéza (CZE). Příprava vzorků obvykle zahrnuje extrakční metody, jako je například mikroextrakce tuhou fází. Nejnovější vývoj zahrnuje využití vícerozměrných technik plynové chromatografie

a pokročilých metod hmotnostně spektrometrické detekce pro lepší separaci a identifikaci složitých těkavých směsí. Kromě toho jsou pro analýzu aroma v potravinářských výrobcích slibné nové technologie, jako jsou elektronické nosy nebo olfaktometry [145, 146].

2.8.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Micro Extraction, SPME) představuje moderní analytickou metodu sloužící k izolaci analytů ze vzorku. Tato technika se vyznačuje tím, že v jediném kroku kombinuje odběr vzorku, extrakci a zakoncentrování analytů, aniž by bylo nutné použít rozpouštědla. Díky této vlastnosti je metoda ekologicky šetrná a efektivní, což přispívá k jejímu širokému využití v různých oblastech analytické chemie [147, 148].

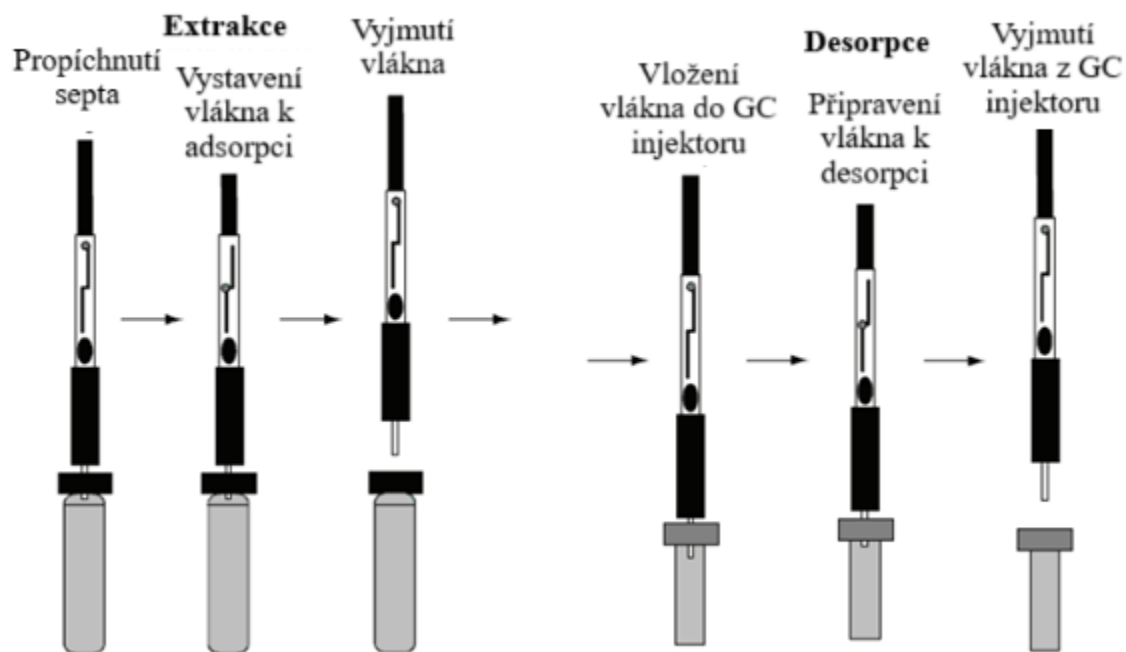
Jedná se o techniku přípravy vzorků bez použití rozpouštědel, která využívá tavené vlákno oxidu křemičitého potažené polymerní stacionární fází k extrakci a koncentraci analytů z různých matric. Vláknem je umístěno v zařízení podobném injekční stříkačce, které ho chrání při přepravě a manipulaci. Proces extrakce lze provádět dvěma způsoby – buď přímým ponořením vlákna do vzorku, tzv. direct SPME (DI-SPME), nebo umístěním vlákna do prostoru nad vzorkem, tzv. headspace (HS-SPME). Přičemž druhý způsob je zvláště užitečný pro těkavé a polotěkavé sloučeniny. Po extrakci se vlákno přeneso do chromatografického systému pro desorpci a analýzu analytu [149, 150].

Analýza získaných látek se nejčastěji provádí chromatografickými metodami, jako jsou plynová chromatografie (GC) kombinovaná s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) nebo UV detekcí, případně kapalinová chromatografie (LC). SPME se vyznačuje jednoduchostí, rychlostí a nízkým limitem detekce, díky čemuž nachází široké uplatnění v mnoha vědeckých disciplínách. Používá se například v environmentální analýze, potravinářství, toxikologii, forenzní analýze a farmaceutickém výzkumu [149, 151].

Da Silva a kol. [152] se zabývali analýzou těkavých organických sloučenin a bioaktivních látek ve čtyřech jihoamerických plodech a využili metodu SPME spojenou s plynovou chromatografií k identifikaci 41 těkavých sloučenin, včetně terpenů, aldehydů a esterů. Současně byly kvantifikovány bioaktivní látky, jako je kyselina askorbová, celkový obsah flavonoidů a fenolických sloučenin, a hodnocena jejich antioxidační kapacita.

Hlavní součástí SPME je křemenné vlákno s polymerní sorpční vrstvou, která slouží jako stacionární fáze. Používané polymery se dělí do dvou hlavních skupin – homogenní polymery, jako je polydimethylsiloxan (PDMS) a polyakrylát (PA) a porézní částice suspendované v polymerech, jako je karboxen v PDMS. Vláknem je umístěno v duté ocelové jehle, která jej chrání před poškozením, zatímco pohyblivý ocelový pístek umožňuje manipulaci s vláknem během extrakce [149, 153].

Samotný extrakční proces (Obrázek 2) probíhá ve dvou fázích – sorpční a desorpční. Při použití metody HS-SPME je vlákno umístěno do prostoru nad vzorkem, kde dochází k sorpci analytů až do dosažení rovnovážného rozdělení mezi sorpční vrstvou a analytem. Poté se vlákno přemístí do analytického přístroje, kde probíhá desorpce zachycených látek, které jsou následně detekovány vhodnou analytickou metodou. Tento postup umožňuje efektivní a reprodukovatelné stanovení těkavých aromatických látek v potravinářských výrobcích [150, 154].



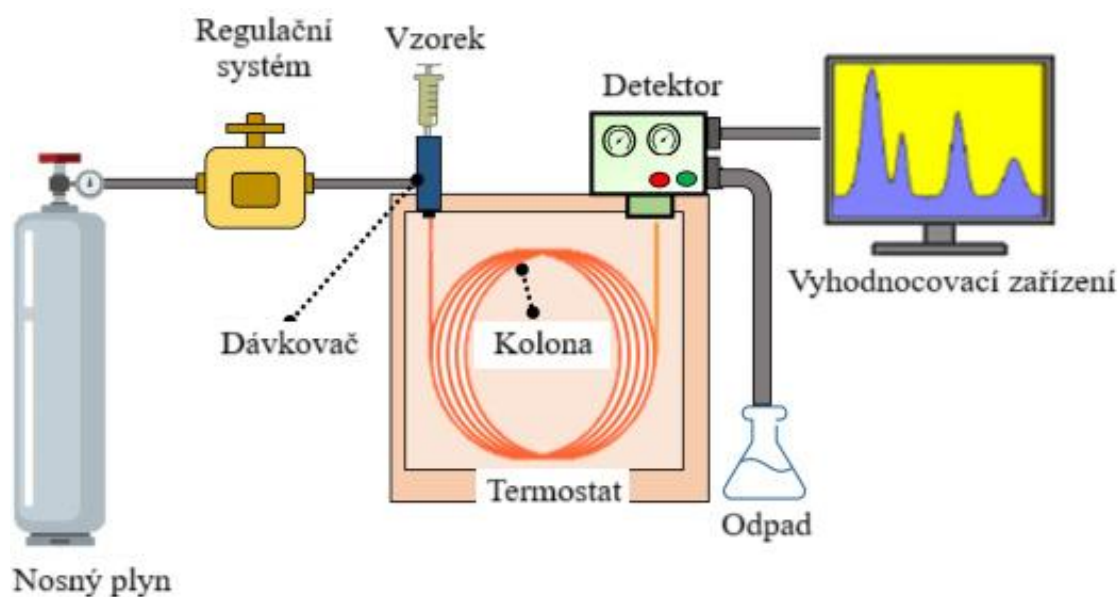
Obrázek 2: Princip HS-SPME [147]

2.8.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (Obrázek 3) je jednou z nejpoužívanějších analytických metod, zejména pro analýzu těkavých látek, díky její vysoké separační kapacitě a schopnosti efektivně kvantifikovat a kvalifikovat stanovené složky. Tato metoda je ideální pro látky s bodem varu do 400 °C, ale může být také upravena pro analýzu látek s bodem varu až do 800 °C. GC je separační metoda, která je založena na rovnovážném dělení složek vzorku mezi dvě fáze – mobilní a stacionární. Mobilní fáze je tvořena nosným inertním plynem, který nese vzorek skrz chromatografickou kolonu. Stacionární fáze může být kapalná nebo pevná, v závislosti na specifických podmínkách analýzy [148, 155].

V průběhu analýzy se jednotlivé složky vzorku oddělují na základě rozdílné afinity ke stacionární fázi. Jakmile složky opustí kolonu, jsou detekovány pomocí různých citlivých detektorů, jako jsou hmotnostní spektrometr (MS) nebo plamenově ionizační detektor (FID). Tyto detektory převádějí fyzikálně-chemické vlastnosti analyzovaných složek na měřitelný signál, obvykle elektrického charakteru. Hmotnostní spektrometrie je zvláště užitečná pro identifikaci složek, protože nabízí vysokou selektivitu a přesnost při určování molekulové hmotnosti a struktury látek [156, 157].

GC je vhodná pro analýzu těkavých látek, které mají dostatečný tlak nasycených par, jsou termálně stabilní a mají molekulovou hmotnost nižší než 1000. Metoda se běžně používá k separaci plynů, většiny organických sloučenin, některých organokovových sloučenin a dalších nedisociovatelných kapalin. Na druhé straně není GC ideální pro analýzu makromolekul, organických nebo anorganických solí, které mají jiné fyzikálně-chemické vlastnosti, jež nejsou kompatibilní s principem této metody [158, 159].



Obrázek 3: Schéma plynového chromatografu [156]

2.8.3 Tandemová technika GC-MS

Kombinace plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) představuje vysoce efektivní analytickou techniku pro identifikaci a kvantifikaci složek vzorku. Princip této metody spočívá v separaci jednotlivých složek plynovou chromatografií, po níž následuje jejich analýza pomocí hmotnostní spektrometrie. V iontovém zdroji spektrometru jsou molekuly analytů ionizovány a převedeny do plynné fáze ve formě nabitých iontů. Tyto ionty jsou následně separovány v analyzátoru na základě poměru jejich hmotnosti k elektrickému náboji (m/z). Spojení GC a MS přináší výhody obou metod – vysokou separační schopnost chromatografie a přesnou identifikaci látek prostřednictvím hmotnostní spektrometrie. Díky této kombinaci lze velmi detailně charakterizovat chemické složení vzorku, což činí metodu nepostradatelnou v mnoha oblastech, například v environmentálních studiích, potravinářství, farmaceutickém průmyslu či forenzní analýze [160, 161].

Mezi nejběžněji používané analyzátory patří kvadrupólový analyzátor, kvadrupólová iontová past a analyzátor doby letu. Separované ionty jsou poté detekovány pomocí detektorů, například elektronového nebo fotonásobiče. Hmotnostní spektrometrie umožňuje získat důležité informace o molekulové hmotnosti a struktuře analytu, čímž významně přispívá k přesnosti chemické analýzy [162, 163].

Přestože kombinace GC-MS nabízí vysokou citlivost a přesnost při analýze složek vzorku, je nutné řešit technický problém spojený s rozdílem tlaků mezi jednotlivými systémy. Zatímco plynová chromatografie operuje při relativně vysokém tlaku, hmotnostní spektrometrie vyžaduje téměř dokonalé vakuum. Tento rozdíl se obvykle překonává instalací výkonných čerpadel, která zajišťují odstranění přebytečného vzduchu z prostoru ionizátoru. Přes tyto technologické výzvy zůstává GC-MS jednou z nejspolehlivějších metod pro komplexní analýzu těkavých látek a široce se uplatňuje ve vědeckém i průmyslovém výzkumu [164, 165].

Papp a kol. [166] využili plynovou chromatografii spojenou s hmotnostní detekcí k analýze fytochemického složení tužebníku, přičemž byly identifikovány a kvantifikovány různé těkavé

organické sloučeniny v květech, listech a kořenech rostliny. Hlavními sloučeninami byly salicylaldehyd, methylsalicylát a salicylátové glykosidy. Kromě toho byly identifikovány i další bioaktivní látky, jako fenylethanol a benzylalkohol. Výsledky ukázaly, že různé části rostliny, zejména květy, mají nejvyšší koncentrace těchto terapeutických sloučenin.

2.9 Hodnocení antioxidační aktivity

Jedním z cílů této práce bylo zhodnocení antioxidační aktivity a stanovení obsahu fenolických látek připravených vzorků nečokoládových cukrovinek obohacených bylinným extraktem. Cílem bylo zjistit, jak efektivně tyto vzorky dokáží předcházet nežádoucím oxidativním procesům v organismu a jak účinně působí proti volným radikálům.

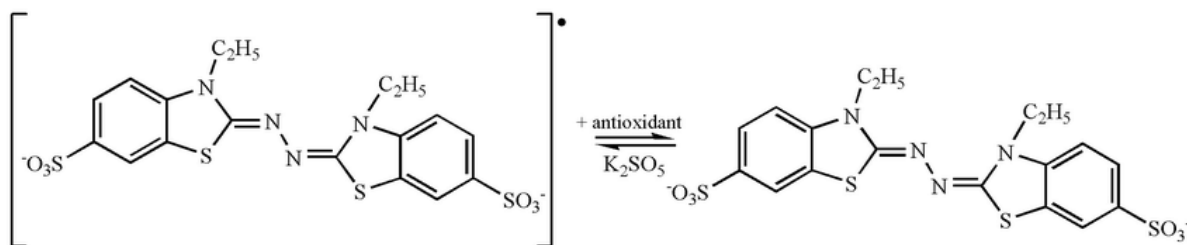
Antioxidační účinek spočívá ve schopnosti látek neutralizovat volné radikály a chránit buňky před oxidačním stresem. Tyto látky jsou zásadní pro ochranu rostlin před škodami způsobenými znečištěním, přispívají k prevenci nemocí u rostlin i živočichů a hrají významnou roli v obranném systému organismu [167].

Ke stanovení antioxidační aktivity se využívá různých metod, může se jednat o spektrometrické, elektrochemické či chromatografické techniky. Mezi nejběžněji používané testy patří metody fungující na principu redukce radikálů, jako je například metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) nebo metoda s využitím činidla 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl (DPPH) [168].

2.9.1 Metoda TEAC

Metoda TEAC patří k nejčastěji používaným postupům pro měření celkové antioxidační aktivity (TAA – Total Antioxidant Activity). Princip metody spočívá v barevných změnách substrátu ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)) (Obrázek 4), který oxidací v přítomnosti peroxodisíranu sodného vytváří metastabilní radikál kation ABTS^{•+} (Obrázek 4). Tento radikál má zeleno-modré zabarvení. Když jsou přítomny antioxidanty, které eliminují volné radikály, dochází ke snížení zbarvení a odpovídajícímu poklesu absorbance. Tento pokles je přímo úměrný množství přítomných antioxidantů [169, 170].

Metoda je označována jako TEAC, jelikož antioxidační účinek měřeného vzorku je porovnáván s kalibrační křivkou připravenou ze standardního roztoku Troloxu (kyselina 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová). Hodnota TEAC je definována jako množství Troloxu, které odpovídá antioxidační aktivitě analyzovaného vzorku [170, 171].



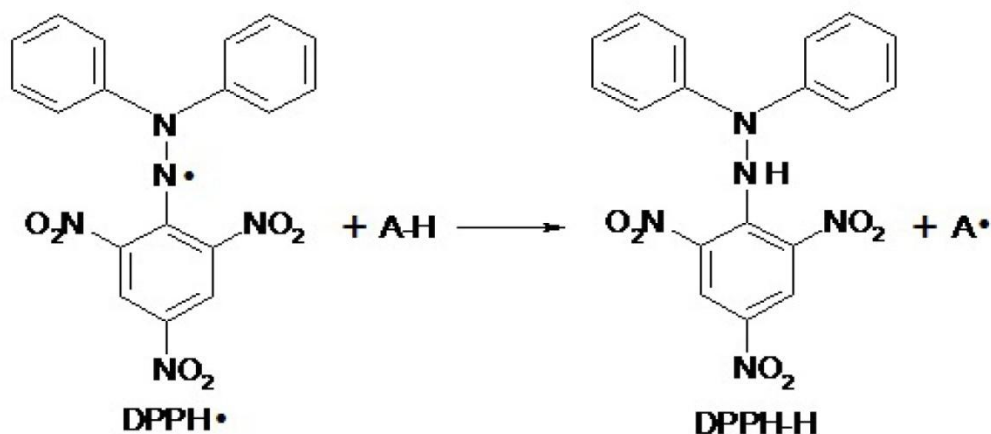
Obrázek 4: Struktura ABTS^{•+} a ABTS [171]

2.9.2 Metoda s použitím DPPH

Metoda využívající DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) se běžně používá k určení antioxidační aktivity čistých látek i směsných vzorků. Principem metody je reakce

testované látky se stabilním volným radikálem DPPH[•]. Ten má charakteristickou fialovou barvu a vysokou absorbanci v UV-VIS oblasti, obvykle měřitelnou při vlnové délce 515–520 nm. Při působení antioxidantů dochází k neutralizaci DPPH[•] radikálů (Obrázek 5), což vede k jeho redukci na difenyl-pikrylhydrazin (DPPH-H) (Obrázek 5), doprovázené změnou barvy směsi na světlejší nebo bezbarvou a poklesem absorbance [170, 172].

Měření lze provést spektrofotometricky nebo pomocí HPLC, která je výhodná zejména u barevných vzorků, u nichž spektrofotometrie neposkytuje přesné výsledky. Intenzita odbarvení je přímo úměrná antioxidační kapacitě vzorku, a metoda je proto široce používána v analýze potravin a biologických vzorků [172, 173].



Obrázek 5: Struktura DPPH[•] a DPPH-H [173]

2.9.3 Stanovení obsahu fenolických látek

Metoda stanovení celkového obsahu fenolických látek pomocí využití Folin-Ciocalteuova činidla je často používaná pro hodnocení antioxidačních vlastností potravin a biologických vzorků. Reakce probíhá mezi fenolickými sloučeninami a Folin-Ciocalteuovým činidlem, což je směs fosfomolybdenových a fosfowolframových kyselin, které jsou redukovány fenoly za vzniku modře zbarvených komplexů. Intenzita vzniklého zabarvení je úměrná obsahu fenolických látek a měří se spektrofotometricky při vlnové délce v rozmezí 750–765 nm. Ke kvantifikaci se obvykle používá standardní křivka připravená s využitím referenční fenolické látky, nejčastěji kyseliny gallové. Tato metoda je jednoduchá, citlivá a má široké uplatnění v oblasti výzkumu potravin a přírodních produktů [174, 175].

2.10 Hodnocení antimikrobiální aktivity

Hodnocení antimikrobiální aktivity je zásadní pro testování schopnosti látek nebo extraktů inhibovat růst mikroorganismů, jako jsou bakterie, kvasinky nebo plísňe. Jedno ze základních rozdělení metod je dělení na metody difúzní a diluční. Tyto metody umožňují určit účinnost testovaných látek a jejich minimální inhibiční koncentraci (MIC) [176, 177].

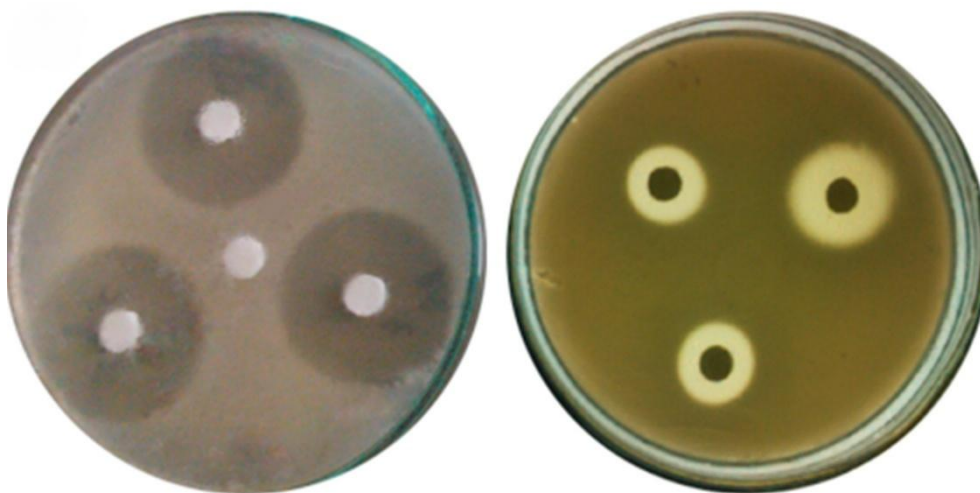
2.10.1 Difúzní metody

Princip difúzních metod spočívá v šíření testované látky ze zdroje do okolního prostředí, což umožňuje kvalitativní hodnocení antimikrobiální aktivity. Na základě velikosti inhibičních zón je možné určit, zda jsou testované bakterie citlivé, nebo rezistentní vůči dané látce. Tato metoda však není ideální pro stanovení MIC, protože neumožňuje přesně kvantifikovat množství látky,

které proniklo do agaru. Hlavní výhodou difúzních metod je jejich jednoduché provedení, nízké náklady a snadná interpretace výsledků, které jsou vizuálně dobře patrné [175, 178].

2.10.1.1 Disková difúzní metoda

Při diskové difúzní metodě (Obrázek 6) se nejprve naočkuje agarové médium testovaným mikroorganismem. Následně se na povrch agaru umístí filtrační papírový disk, který je nasycen aktivní látkou. Pokud má testovaná látka antimikrobiální účinek, vznikne po inkubaci kolem disku inhibiční zóna. Velikost této zóny se měří, přičemž průměr inhibiční zóny poskytuje informaci o účinnosti látky [179, 180].



Obrázek 6: Disková difúzní metoda [180]

2.10.1.2 Difúzní jamková metoda

Pro stanovení antimikrobiální aktivity rostlinných extraktů se často využívá také difúzní jamková metoda, která je podobná diskové difúzní metodě. Na povrch agaru se rovnoměrně nanese suspenze mikroorganismu, a pomocí sterilního korkovrtu se vytvoří několik jamek v agarovém médiu. Do těchto jamek se následně přidá stanovený objem rostlinného extraktu nebo antimikrobiální látky v požadované koncentraci. Po inkubaci za vhodných podmínek pro růst mikroorganismu dochází k difuzi látky do okolního agaru, což vede k inhibici růstu mikroorganismu a tvorbě inhibiční zóny kolem jamek [181].

2.10.2 Diluční metody

Diluční metody jsou kvantitativními technikami, které slouží k určení antimikrobiální aktivity látek, přičemž umožňují stanovení minimální inhibiční koncentrace, což je nejnižší koncentrace látky, která inhibuje růst mikroorganismu. V těchto metodách se testovaná látka připravuje v sériových ředěních, která jsou následně inokulována mikroorganismem. Po inkubaci se hodnotí růst mikroorganismu a MIC je určena jako nejnižší koncentrace látky, při které není pozorován žádný růst. Diluční metody mohou být prováděny jak v kapalných, tak i v pevných médiích, v závislosti na typu testu. Tento přístup je výhodný pro svou vysokou přesnost a schopnost poskytovat reprodukovatelné výsledky, což umožňuje přesnou kvantifikaci účinnosti antimikrobiálních látek [182, 183].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část této diplomové práce se zabývala výrobou a analýzou želé cukrovinek s přídavkem bylinného extraktu z tužebníku jilmového. Hlavním cílem bylo sledování vlivu skladovacích podmínek na stabilitu cukrovinek.

Dále bylo zkoumáno, zda a jak skladovací podmínky ovlivní obsah těkavých látek, antioxidační a antimikrobiální aktivitu v želé cukrovinkách s přídavkem bylinného extraktu.

3.1 Použité chemikálie a pomůcky

3.1.1 Chemikálie použité při stanoveních

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-dikarboxylová kyselina), Sigma Aldrich (Německo), DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) Glenthams (UK), Methanol, Penta (Česká republika), Ethanol 96 %, Penta (Česká republika), Folin-Ciocalteuovo činidlo, VWR Chemicals BDH (Francie), Uhličitán sodný, Lach-ner (Česká republika), Kyselina gallová monohydrát, Sigma-Aldrich (Německo), Kyselina fosforečná, Lach-ner (Česká republika), Hydroxid sodný, Sigma-Aldrich (Německo)

3.1.2 Chemikálie použité při práci s mikroorganismy

Masopeptonový agar (Nutrient Agar No. 2), Himedia (India), Masopeptonový bujón, Himedia (India)

3.1.3 Plyny

Helium čistota 4.8, v tlakové láhvi s redukčním ventilem, SIAD (Česká republika)

3.1.4 Použité mikroorganismy

Bacillus cereus (CCM 2010), *Escherichia coli* (CCM 3954), *Candida vini* (CCY 29-39-3)

3.1.5 Přístroje a pomůcky

Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem, Thermo Fisher Scientific Inc., (Waltham, MA, USA), Hmotnostní detektor ISQ™ LT Single Quadrupole, Thermo Fisher Scientific Inc., (Waltham, MA, USA), Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA), Spektrofotometr SPECORD 50 PLUS dvoupráskový, Analytik Jena AG, (Německo), Vodní lázeň Julabo TW 12. (Německo), Analytické digitální váhy, HELAGO, GR-202-EC, (Itálie), Autokláv, Termostat, SPME-vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, Supelco, (Bellefonte, Pennsylvania, USA), Mikropipety BiohitProline (0,1–1000 µl), Špičky, Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem, Běžné laboratorní sklo a pomůcky, Nádobí a pomůcky pro výrobu vzorků a senzorickou analýzu

3.1.6 Suroviny pro výrobu cukrovinek

Maltitol (DeliFood), Agar (Allnature), Kyselina citrónová monohydrát, Lach-Ner, s.r.o., (Česká republika), Tužebník jilmový – extrakt

3.2 Analyzované vzorky

V rámci experimentální části byly analyzovány vzorky želé cukrovinek s přídavkem extraktu z tužebníku jilmového (Obrázek 7) vyrobené v laboratorních podmínkách. Pro přípravu cukrovinek byl využit technologický postup dřívější závěrečné práce [184].

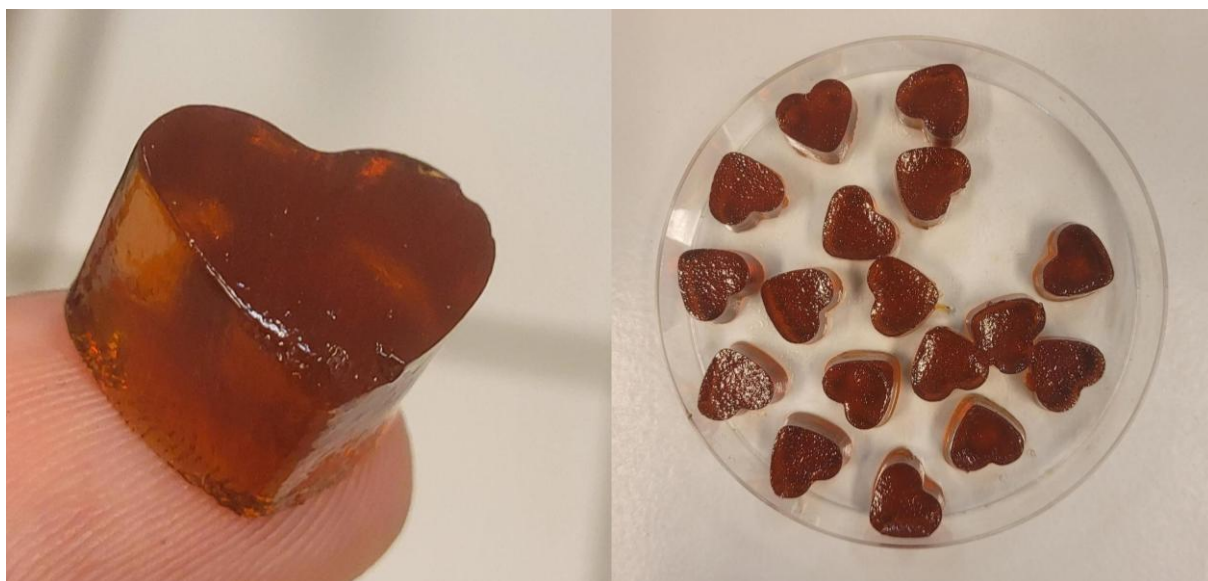
Tužebník jilmový byl do cukrovinek přidáván ve formě extraktu. Přídavek extraktu do cukrovinek byl 5 % hm. Postup přípravy extraktu byl převzat z dříve provedených experimentů, které se zabývaly optimalizací přípravy extraktů a jeho aplikací do potravin.

Stručně: navážka činila 10 g/50 ml, macerace probíhala po dobu 75 minut ve 40% ethanolu při 60 °C v ultrazvukové lázni. Sušená nat' tužebníku (k přípravě nálevu) byla rozmixována v elektrickém mlýnku, smíchána s roztokem ethanolu o požadované koncentraci a vložena do vodní lázně za podmínek uvedených výše. Po dokončení doby macerace byly vzorky za použití plátna přefiltrovány, aby extrakt neobsahoval kusy rozmixované byliny. Před samotnou aplikací do želé cukrovinek byl extrakt zahuštěn odpařením rozpouštědla pomocí vakuové odparky.

Pro sledování vlivu skladovacích podmínek byly cukrovinky uchovány v lednici při teplotě 4 °C a za laboratorních podmínek při teplotě 25 °C. Měření byla prováděna u čerstvých vzorků, následně v čase 7 dní, 14 dní, 1 měsíc a 2 měsíce.

Pro stanovení obsahu fenolických látek a antioxidační aktivity byly vzorky rozpuštěny ve vodě v poměru 1:2, pro stanovení těkavých látek byly nakrájeny na menší kousky a pro senzorickou analýzu byly vzorky předkládány hodnotitelům v původním stavu.

Pro testování antimikrobiální aktivity byly z důvodu nutnosti kapalných vzorků a opětovnému tuhnutí rozpuštěných cukrovinek připraveny modelové roztoky, které byly skladovány za stejných podmínek jako tuhé vzorky.



Obrázek 7: Vzorky cukrovinek

3.3 Použité experimentální postupy a metody

3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS

Těkavé látky ve vzorcích cukrovinek byly identifikovány pomocí headspace solid-phase microextraction (mikroextrakce tuhou fází), po které následovala plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (HS-SPME-GC-MS).

Před analýzou byly vzorky rozkrájeny na menší kousky a vloženy do analytických vialek tak, aby nedošlo ke kontaktu mezi vzorkem a SPME vláknem.

3.3.1.1 Podmínky HS–SPME extrakce

Doba inkubace (temperování): 20 minut, Doba extrakce: 25 minut, Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru): 55 °C, Agitátor zapnutý: 5 sekund, vypnutý: 60 sekund, Množství analyzovaného vzorku: 3 g, Hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

3.3.1.2 Podmínky GC-MS analýzy

Kapilární kolona ZB-Wax (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm), Teplota injektoru (desorpce): 230 °C, Doba desorpce: 20 minut, Dávkování: splitless, Ventil uzavřen: 10 minut, Hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm, Nosný plyn: helium, Průtok: 1 ml/min, Teplotní program: 50 °C s výdrží 1 min., Vzestupný gradient: 5 °C/min do 150 °C s výdrží 10 min., Vzestupný gradient: 5 °C/min do 180 °C s výdrží 10 min., Vzestupný gradient: 5 °C/min do 220 °C s výdrží 10 min. Celková doba analýzy: 70 minut, Hmotnostní detektor v modu EI, Energie ionizačních elektronů: 70 eV, Teplota iontového zdroje: 220 °C, Skenovací rozsah m/z: 30-300 amu, Rychlost skenování: 0,2 s

3.3.2 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena metodou TEAC, s využitím volného radikálu DPPH (viz kapitola 2.9.2)

Nejprve byl připraven pracovní roztok DPPH• o koncentraci 2,32 mmol·l⁻¹ rozpuštěním DPPH v methanolu. Následně bylo do zkumavek vždy napipetováno 3,25 ml metanolickeho roztoku radikálu DPPH, 1,25 ml fosfátového tlumivého roztoku o pH = 7,00 a poté bylo přidáno 0,5 ml roztoku vzorku. Poté byly zkumavky promíchány a ponechány 30 minut v temnu při laboratorní teplotě. Po uplynutí požadované doby inkubace byly jednotlivé vzorky proměřeny v kyvetách při konstantní vlnové délce 519 nm proti slepému vzorku, který obsahoval 2 ml methanolu a 1 ml fosfátového tlumivého roztoku.

Výsledná absorbance jednotlivých vzorků byla vypočtena dle vzorce (1):

$$A = A_0 - A_1 \quad (1)$$

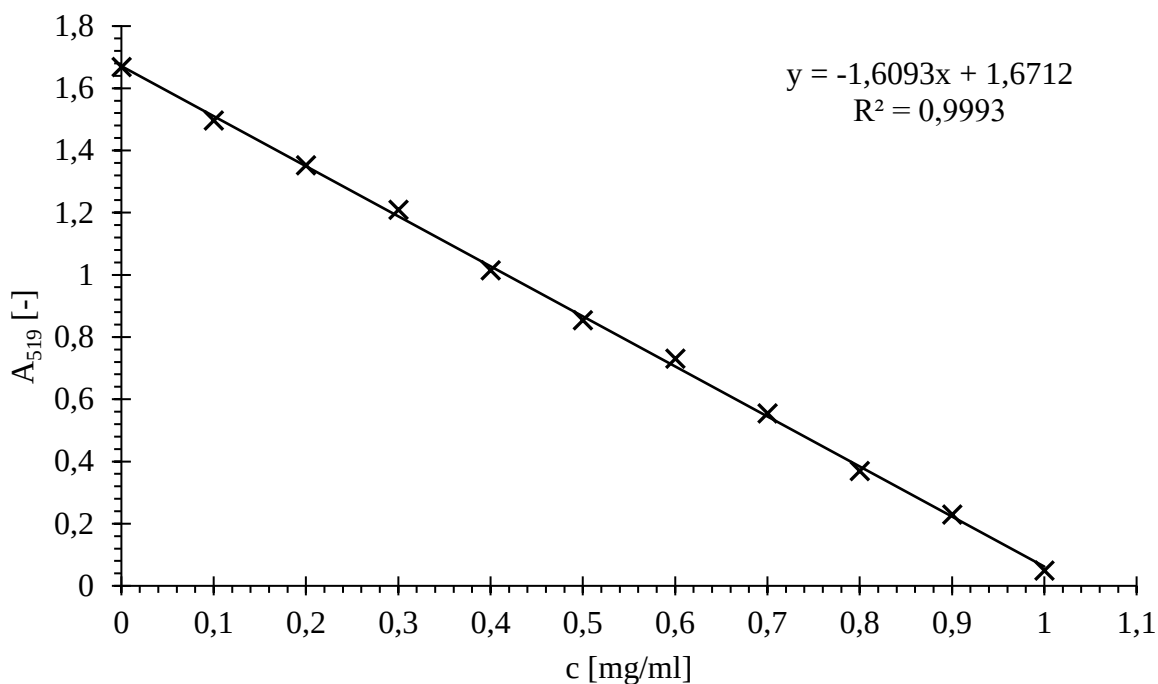
Procento zhášení radikálu bylo vypočteno podle vzorce (2):

$$\text{zhášení radikálu} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 [\%] \quad (2)$$

A_0 – absorbance v čase 0 minut, A_1 – absorbance v čase 30 minut

3.3.2.1 Příprava kalibrační křivky

Pro sestavení kalibrační křivky byla sestrojena řada různých koncentrací standardního roztoku Troloxu, který byl zředěn 60% methanolem, s cílem dosáhnout rozsahu koncentrací přibližně 0,1–100 mg·ml⁻¹ (Obrázek 8). Jako slepý vzorek byl použit methanol. Absorbance byla měřena při vlnové délce $\lambda = 519$ nm vůči slepému vzorku. Výsledky byly vyjádřeny jako hodnota TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), tedy jako koncentrace Troloxu odpovídající antioxidační aktivitě vzorku vyjádřené v mg·ml⁻¹.



Obrázek 8: Kalibrační křivka TROLOXU

3.3.3 Spektrofotometrické stanovení obsahu fenolických látek

Stanovení obsahu fenolických látek bylo provedeno spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocaltauovým činidlem (viz kapitola 2.9.3).

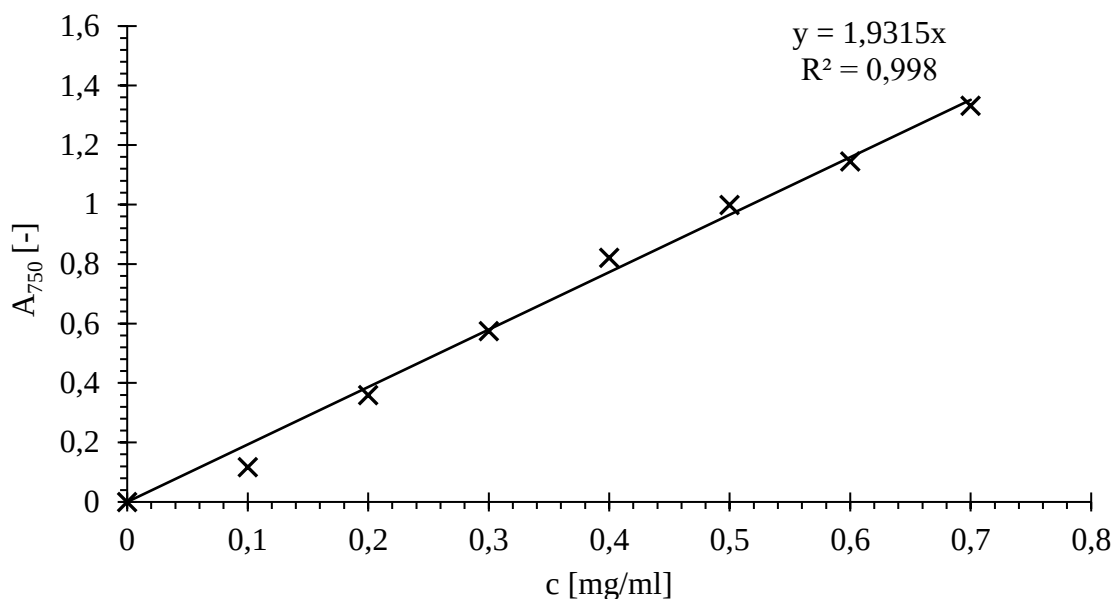
Nejprve byl připraven nasycený roztok uhličitanu sodného rozpuštěním přibližně 7,5 g v 95 ml destilované vody a zředěný vodný roztok Folin-Ciocaltauova činidla v poměru 1:9.

Pro samotné měření byl do zkumavky odpipetován 1 ml zředěného Folin-Ciocaltauova činidla, 1 ml destilované vody a 100 μl vzorku. Roztok ve zkumavkách byl promíchán a ponechán stát. Následně bylo po pěti minutách do každé zkumavky k roztoku přidáno po 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného a opět bylo vše dobře promícháno. Po 45 minutách stání ve tmě byla změřena absorbance při 750 nm proti slepému vzorku (kde namísto 100 μl vzorku bylo použito 100 μl destilované vody).

3.3.3.1 Příprava kalibrační křivky

Pro sestavení kalibrační křivky kyseliny gallové byly připraveny kalibrační roztoky o koncentraci 0,1–0,7 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Obrázek 9).

Obsah fenolických látek ve vzorku byl vypočítán dosazením získané absorbance vzorku do rovnice kalibrace.



Obrázek 9: Kalibrační křivka kyseliny gallové

3.3.4 Ověření antimikrobiální aktivity želé cukrovinek s přidavkem bylinného extraktu

K ověření antimikrobiální aktivity želé cukrovinek s přidavkem bylinného extraktu byla použita difúzní jamková metoda, princip je uveden v kapitole 2.10.1.2.

3.3.4.1 Použité mikroorganismy

Ověření bylo provedeno na bakterii *Bacillus cereus*, jakožto grampozitivním zástupci, na bakterii *Escherichia coli*, jakožto gramnegativním zástupci a na kvasince *Candida vini*.

3.3.4.2 Příprava a zaočkování bujónů

Na zaočkování mikroorganismů byl využit masopeptonový bujón. Bujón pro *Bacillus cereus* a *Candida vini* byl rozpipetován po 5 ml do zkumavek. Pro *Escherichia coli* byl odpipetován bujón o objemu 50 ml. *Bacillus cereus* a *Candida vini* byly přeočkovány ze šikmého agarů do zkumavek s tímto připraveným bujónem. Pro kultivaci *Escherichia coli* bylo do 50 ml bujónu napipetováno 5 ml kultury z tekutého média. Takto byly bujóny inkubovány při 25 °C (*Bacillus cereus* a *Candida vini*) a 37 °C (*Escherichia coli*) po dobu 24 hodin.

3.3.4.3 Příprava kultivačního média

Pro přípravu kultivačního média byl použit Masopeptonový agar (Nutrient Agar No. 2, Himedia). Živné médium bylo připraveno dle návodu a poté vysterilizováno.

3.3.4.4 Postup stanovení

Do 50 ml vysterilizovaného zchlazeného kultivačního média bylo napipetováno 0,5 ml bujónu, který obsahoval 24hodinovou kulturu daného mikroorganismu. Naočkované živné médium bylo rozlito do Petriho misek a ponecháno k zatuhnutí. Následně byly po zatuhnutí do agarů udělány jamky o průměru cca 0,5 cm. Do 4 jamek bylo pak pipetováno 40 µl vzorku a do kontrolní jamky bylo pipetováno rozpouštědlo použité pro přípravu extraktu (40% ethanol). Misky byly kultivovány při 25 °C (*Bacillus cereus* a *Candida vini*) a 37 °C (*Escherichia coli*) po dobu 72 hodin. Poté byly změřeny průměry vzniklých inhibičních zón.

3.3.5 Senzorická analýza

Při senzorické analýze byly využity čerstvé vzorky a vzorky po 1 měsíci skladování v lednici a za laboratorních podmínek.

Vzorky určené k hodnocení byly připraveny na talířcích a označeny náhodnými kódy. Pro neutralizaci chuti byla pro hodnotitele k dispozici voda. Panel hodnotitelů byl převážně složen ze studentů 4. ročníku Chemické fakulty VUT. Senzorické hodnocení provádělo 17 hodnotitelů. Senzorická analýza zahrnovala hodnocení pomocí grafických stupnic a profilového testu v senzorickém dotazníku (viz Příloha 1).

3.4 Statistické zpracování výsledků

Data byla zpracována a vyhodnocena pomocí programu MS Excel 2022 a softwaru Statistica 14. Všechny analýzy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky senzorické analýzy jsou vyjádřeny graficky jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka všech hodnotitelů ($n = 17$). Hodnoty odečtené ze stupnic jsou uváděny v cm. Pro statistické vyhodnocení byla použita parametrická analýza rozptylu ANOVA (normální distribuce dat).

Vyextrahované AAL ve vzorcích byly identifikovány pomocí programu Xcalibur 2.2 (Thermo Scientific Inc, Waltham, MA, USA) na základě srovnání získaných hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter. Porovnání obsahu jednotlivých skupin identifikovaných sloučenin je vyjádřeno semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu a prezentováno jako rel. %. Každý vzorek byl analyzován třikrát ($n = 3$), výsledky jsou vyjádřeny jako průměr těchto měření $\pm$ směrodatná odchylka.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato diplomová práce byla zaměřena na sledování vlivu skladovacích podmínek na stabilitu nečokoládových cukrovinek s přidavkem extraktu tužebníku jilmového. Tužebník jilmový se přidává do potravin, jelikož obsahuje široké spektrum látek, které přispívají k jeho biologické aktivitě. U vyrobených vzorků cukrovinek byla stanovena antioxidační a antimikrobiální účinnost, dále byl stanoven také obsah fenolických sloučenin a profil těkavých látek. Vyrobené vzorky byly také senzoricky hodnoceny.

4.1 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity cukrovinek

Antioxidační aktivita cukrovinek obsahujících extrakt z tužebníku jilmového byla stanovena spektrofotometrickou metodou TEAC za využití DPPH radikálu, jak je popsáno v kapitole 3.3.2. Výsledky měření, zaznamenané v tabulce 1, dokumentují vývoj aktivity v průběhu dvouměsíčního skladování za dvou odlišných teplotních podmínek – při laboratorní teplotě a při nízké teplotě v lednici.

Nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u čerstvě připravených vzorků, kde hodnota činila $4,26 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$ a schopnost zhaset radikály dosahovala 72,40 %. Již po prvním týdnu skladování bylo možné pozorovat pokles těchto hodnot, a to s patrným rozdílem mezi sledovanými skladovacími režimy.

U vzorků uchovaných v lednici byl pokles antioxidační aktivity jen mírný, kdy hodnota klesla na $4,18 \pm 0,30 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. Naopak u vzorků skladovaných při laboratorní teplotě byl pokles antioxidační aktivity výraznější, kdy hodnota antioxidační aktivity poklesla na $3,56 \pm 0,34 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$.

V průběhu dalšího skladování se pokles aktivity prohluboval. Po 14 dnech vykazovaly vzorky uchovávané v lednici aktivitu $3,98 \pm 0,43 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$, zatímco laboratorně skladované vzorky měly nižší hodnotu, a to $3,26 \pm 0,37 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$.

Nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány po jednom a dvou měsících. Výraznější rozdíl je možné pozorovat u vzorků uchovaných při laboratorní teplotě. Po měsíci vykazovaly vzorky z lednice antioxidační aktivitu $4,04 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$, zatímco vzorky uchovávané při pokojové teplotě klesly na $2,85 \pm 0,29 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. Po dvou měsících zůstala aktivita v lednici relativně zachována, a to $3,98 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$, kdežto při pokojové teplotě klesla na $2,67 \pm 0,24 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$.

Během skladování cukrovinek s tužebníkem jilmovým došlo k poklesu antioxidační aktivity, přičemž míra zhasení DPPH radikálů se v průběhu dvou měsíců pohybovala v rozmezí přibližně 43–72 %. Tento pokles byl výraznější u vzorků skladovaných při pokojové teplotě, zatímco vzorky uchovávané v chladu si uchovaly vyšší účinnost po delší dobu.

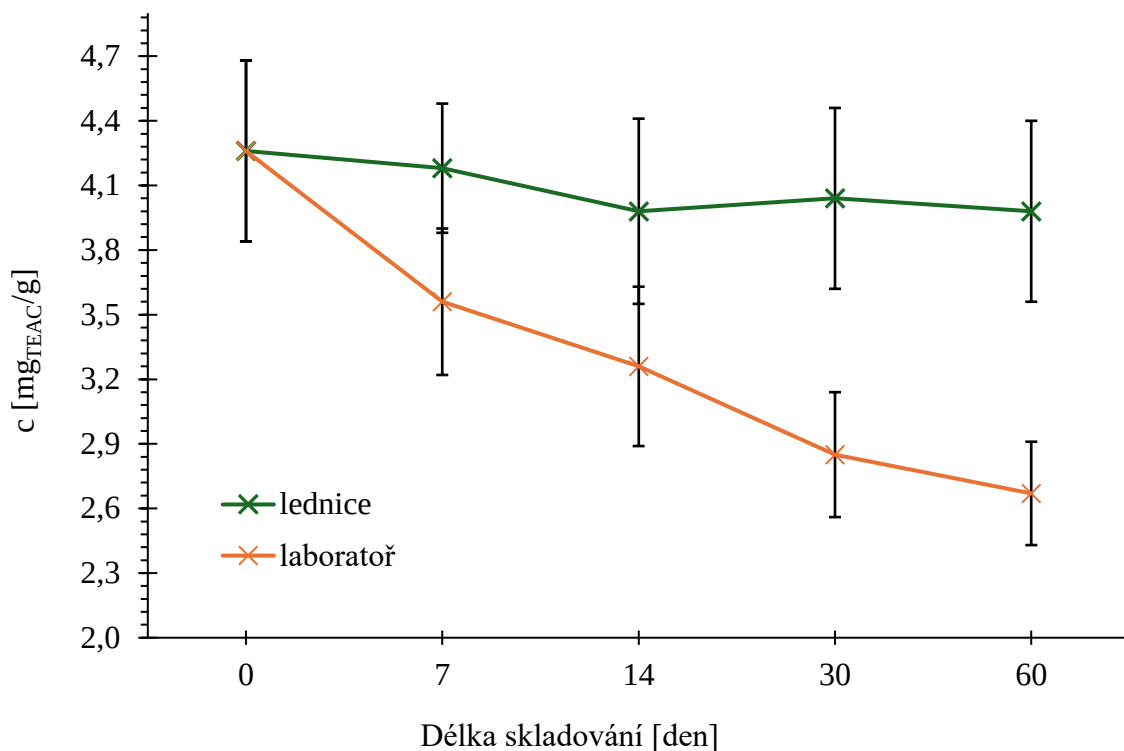
Při pohledu na grafické znázornění antioxidační aktivity u různě skladovaných vzorků je možné vidět evidentní rozdíly mezi vzorky. Tyto rozdíly je možné podložit i statisticky, kdy výsledky ANOVA testování ukazují statisticky významné rozdíly mezi vzorky již po sedmi dnech skladování, a tyto rozdíly se s prodlužující se dobou skladování zvětšují. P-hodnoty potvrzující toto tvrzení se pohybovaly od $p=0,000014$; $p<\alpha$ pro vzorky skladované 7 dní až po hodnotu $p=0,000009$; $p<\alpha$ pro vzorky skladované po dobu dvou měsíců.

Z výsledků vyplývá, že skladování za nižší teploty má pozitivní vliv na uchování antioxidační aktivity těchto výrobků. Pokles aktivity je s největší pravděpodobností způsoben postupnou degradací fenolických sloučenin, které tvoří hlavní složku antioxidačního účinku extraktu z tužebníku jilmového. Nižší teplota zpomaluje degradační procesy, a tím napomáhá uchování biologicky aktivních látek [126].

Naměřené hodnoty antioxidační aktivity vzorků jsou zaznamenány v grafu na obrázku 10.

Tabulka 1: Antioxidační aktivita želé cukrovinek s přídavkem bylinného extraktu

Délka skladování [den]	Místo skladování	c [mg _{TEAC} ·g ⁻¹]	Zhášení radikálu [%]
0		4,26 ± 0,42	72,40
7	lednice	4,18 ± 0,30	56,44
	laboratoř	3,56 ± 0,34	68,94
14	lednice	3,98 ± 0,43	60,24
	laboratoř	3,26 ± 0,37	46,70
30	lednice	4,04 ± 0,42	64,98
	laboratoř	2,85 ± 0,29	41,05
60	lednice	3,98 ± 0,42	43,59
	laboratoř	2,67 ± 0,24	42,91



Obrázek 10: Antioxidační aktivita želé cukrovinek s přidavkem bylinného extraktu

4.2 Spektrofotometrické stanovení obsahu fenolických látek v cukrovinkách

Stanovení celkového obsahu fenolických látek byla provedeno pomocí Folin-Ciocalteuovy spektrofotometrické metody (viz kapitola 3.3.3). Výsledky měření jsou zaznamenány v tabulce 2. Z tabulky je zřejmé, že docházelo k poklesu obsahu fenolických sloučenin.

Nejvyšší obsah fenolických látek byl stanoven podle očekávání v čerstvě připravených cukrovinkách, kdy byl obsah stanoven na $14,26 \pm 0,99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$.

V průběhu skladování poté docházelo k postupnému poklesu této hodnoty, přičemž výraznější úbytek byl pozorován u vzorků skladovaných při laboratorní teplotě.

Nejvýraznější pokles je možné pozorovat hned po 7 dnech, kdy hodnota klesla na $9,23 \pm 0,04 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných v lednici. Velmi výrazný pokles také nastal u cukrovinek skladovaných za laboratorní teploty, kdy obsah fenolických látek klesl na $8,82 \pm 0,14 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$.

Po dvou měsících klesla koncentrace fenolických látek na $6,55 \pm 0,99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných v lednici a na $3,54 \pm 0,20 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných za laboratorních podmínek.

Výsledky statistického zpracování ukazují, že i v případě obsahu fenolických látek se opakuje stejný trend, jako v případě antioxidační aktivity, tedy že s prodlužující se délkou skladování se zvětšují rozdíly mezi různě skladovanými vzorky. Zatímco vzorky skladované po dobu 7 a 14 dní nevykazovaly mezi sebou statisticky významné rozdíly (p -hodnota = 0,150160; $p > \alpha$, respektive $p = 0,651160$; $p > \alpha$), tak vzorky skladované po dobu jednoho, respektive dvou

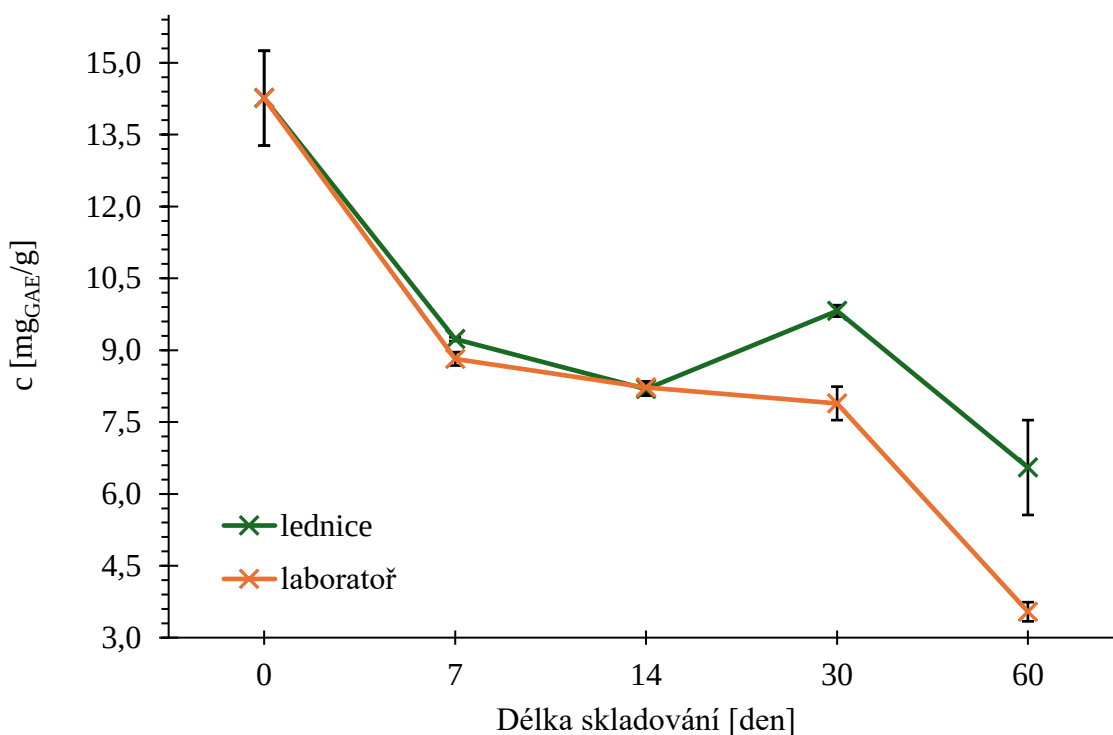
měsíců už statisticky významné rozdíly vykazovaly ($p = 0,001780$; $p < \alpha$ pro skladování po dobu dvou měsíců a $p = 0,006968$; $p < \alpha$). Lze tedy tvrdit, že z hlediska TPC je pro dlouhodobější skladování vhodnější uchovávat cukrovinky v lednici.

Jak již byli zmíněno, obsah fenolických sloučenin v cukrovinkách s tužebníkem jilmovým se v průběhu skladování snižuje. Pokles obsahu fenolických sloučenin může být způsoben oxidací či také fotodegradací. I při skladování v lednici probíhají degradační procesy, byť pomaleji než za laboratorní teploty [126].

Naměřené hodnoty obsahu fenolických sloučenin ve vzorcích jsou zaznamenány v grafu na obrázku 11.

Tabulka 2: Obsah fenolických sloučenin ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem bylinného extraktu

Délka skladování [den]	Místo skladování	c [$\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$]
0		$14,26 \pm 0,99$
7	lednice	$9,23 \pm 0,04$
	laboratoř	$8,82 \pm 0,14$
14	lednice	$8,19 \pm 0,04$
	laboratoř	$8,22 \pm 0,13$
30	lednice	$9,82 \pm 0,12$
	laboratoř	$7,89 \pm 0,35$
60	lednice	$6,55 \pm 0,99$
	laboratoř	$3,54 \pm 0,20$



Obrázek 11: Obsah fenolických sloučenin ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem bylinného extraktu

4.3 Ověření antimikrobiální účinnosti želé cukrovinek

Pro ověření antimikrobiální účinnosti vzorků byla použita difúzní jamková metoda. Testování bylo prováděno na bakterii *Bacillus cereus*, jakožto grampozitivním zástupci, na bakterii *Escherichia coli*, jakožto gramnegativním zástupci a na kvasince *Candida vini* (viz kapitola 3.3.4). Antimikrobiální účinnost vzorků byla stanovována v závislosti na čase a místě skladování. Vzorky byly skladovány v lednici a za laboratorních podmínek. Měření byla prováděna u čerstvých cukrovinek, poté po 7 dnech, 14 dnech a následně po 1 měsíci a 2 měsících. Ke zhodnocení antimikrobiální aktivity vzorků byly měřeny velikosti inhibičních zón.

4.3.1 Antimikrobiální účinnost vzorků vůči *Bacillus cereus*

Průměry inhibičních zón jsou uvedeny v tabulce 3. Z tabulky je možné vidět, že antimikrobiální účinnost vzorků s časem klesá, ale i po 2 měsících vzorky stále vykazují antimikrobiální účinnost vůči této bakterii (viz Obrázek 12).

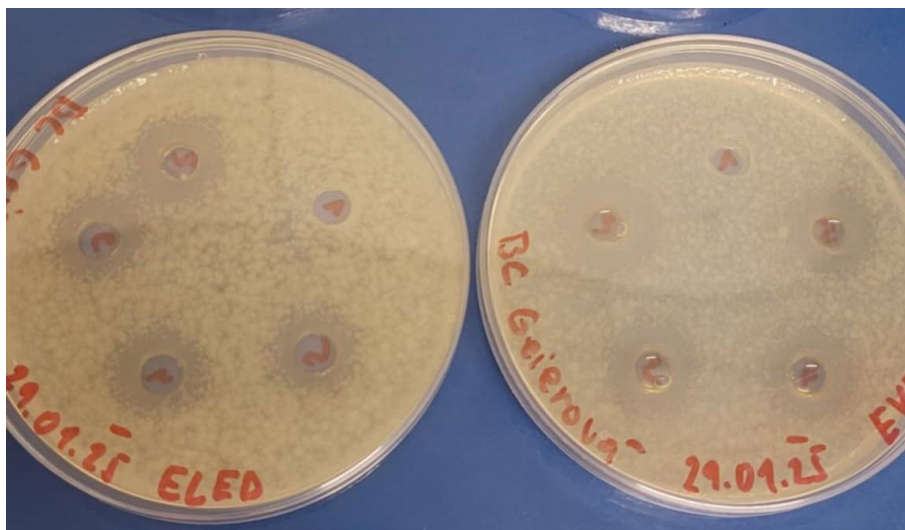
Největší antimikrobiální účinnost vykazoval čerstvý vzorek s průměrem inhibičních zón $23,8 \pm 0,8$ mm. Nejnižší antimikrobiální účinnost poté byla sledována u vzorků po 2měsíčním skladování. U vzorků skladovaných v lednici byl průměr inhibičních zón stanoven na $19,0 \pm 1,6$ mm. Vzorky skladované za laboratorních podmínek vykazovaly nižší účinnost s průměrem inhibičních zón $17,3 \pm 0,4$ mm.

Nižší antimikrobiální účinek cukrovinek s tužebníkem jilmovým po skladování při laboratorní teplotě oproti těm, které byly uchovávány v lednici, pravděpodobně souvisí s rozkladem účinných látek, zejména fenolických sloučenin. Vyšší teplota urychluje jejich oxidaci a další degradační procesy, čímž klesá jejich schopnost potlačovat růst mikroorganismů. Navíc teplejší prostředí může samotnému množení mikroorganismů napomáhat, což rozdíl v účinnosti ještě zvyšuje [185].

Tabulka 3: Antimikrobiální aktivita vzorků cukrovinek s přídatkem bylinného extraktu vůči *Bacillus cereus*

Délka skladování [den]	Místo skladování	Průměr inhibičních zón [mm]
0		$23,8 \pm 0,8$
7	lednice	$23,5 \pm 0,5$
	laboratoř	$23,0 \pm 0,7$
14	lednice	$20,8 \pm 0,4$
	laboratoř	$20,5 \pm 0,5$
30	lednice	$21,0 \pm 1,2$
	laboratoř	$21,0 \pm 1,0$
60	lednice	$19,0 \pm 1,6$
	laboratoř	$17,3 \pm 0,4$

Na obrázku 12 je možné vidět antimikrobiální účinnost vzorků po 2měsíčním skladování a velikost vytvořených inhibičních zón vůči *Bacillus cereus*.



Obrázek 12: Účinek vzorků obsahující tužebníkový extrakt vůči *Bacillus cereus* (skladováno 2 měsíce (vlevo – v lednici, vpravo – za laboratorních podmínek) (1 – negativní kontrola, 2-5 vzorek))

4.3.2 Antimikrobiální účinnost vzorků vůči *Escherichia coli*

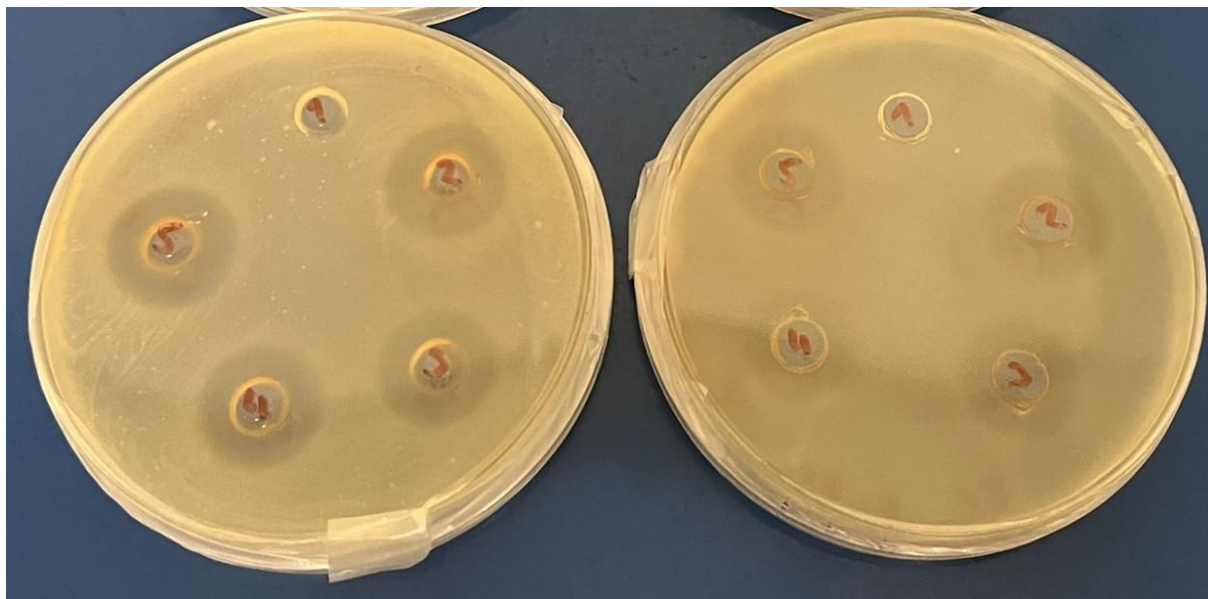
Průměry naměřených inhibičních zón jsou uvedeny v tabulce 4. Z tabulky je možné vidět pokles antimikrobiální účinnosti vzorků v čase, ale i po 2 měsících vzorky stále vykazují antimikrobiální účinnost vůči této bakterii (viz Obrázek 13). Z hodnot v tabulce je možné vidět, že vzorky jsou proti *Escherichia coli* méně účinné než proti bakterii *Bacillus cereus*.

Největší antimikrobiální účinnost vykazoval čerstvý vzorek s průměrem inhibičních zón $21,0 \pm 0,7$ mm. Nejnižší antimikrobiální účinnost poté byla sledována u vzorků po 2měsíčním skladování. U vzorků skladovaných v lednici byl průměr inhibičních zón stanoven na $18,3 \pm 0,8$ mm. Vzorky skladované za laboratorních podmínek vykazovaly nižší účinnost s průměrem inhibičních zón $17,0 \pm 1,2$ mm.

Tabulka 4: Antimikrobiální aktivita vzorků cukrovinek s přídavkem bylinného extraktu vůči *Escherichia coli*

Délka skladování [den]	Místo skladování	Průměr inhibičních zón [mm]
0		$21,0 \pm 0,7$
7	lednice	$20,8 \pm 0,4$
	laboratoř	$20,0 \pm 0,7$
14	lednice	$19,3 \pm 0,4$
	laboratoř	$18,8 \pm 0,4$
30	lednice	$19,3 \pm 0,4$
	laboratoř	$18,8 \pm 0,8$
60	lednice	$18,3 \pm 0,8$
	laboratoř	$17,0 \pm 1,2$

Na obrázku 13 je možné vidět antimikrobiální účinnost vzorků po 2měsíčním skladování a velikost vytvořených inhibičních zón vůči *Escherichia coli*.



Obrázek 13: Účinek vzorků obsahující tužebníkový extrakt vůči *Escherichia coli* (skladováno 2 měsíce (vlevo – v lednici, vpravo – za laboratorních podmínek) (1 – negativní kontrola, 2-5 vzorek))

4.3.3 Antimikrobiální účinnost vzorků vůči *Candida vini*

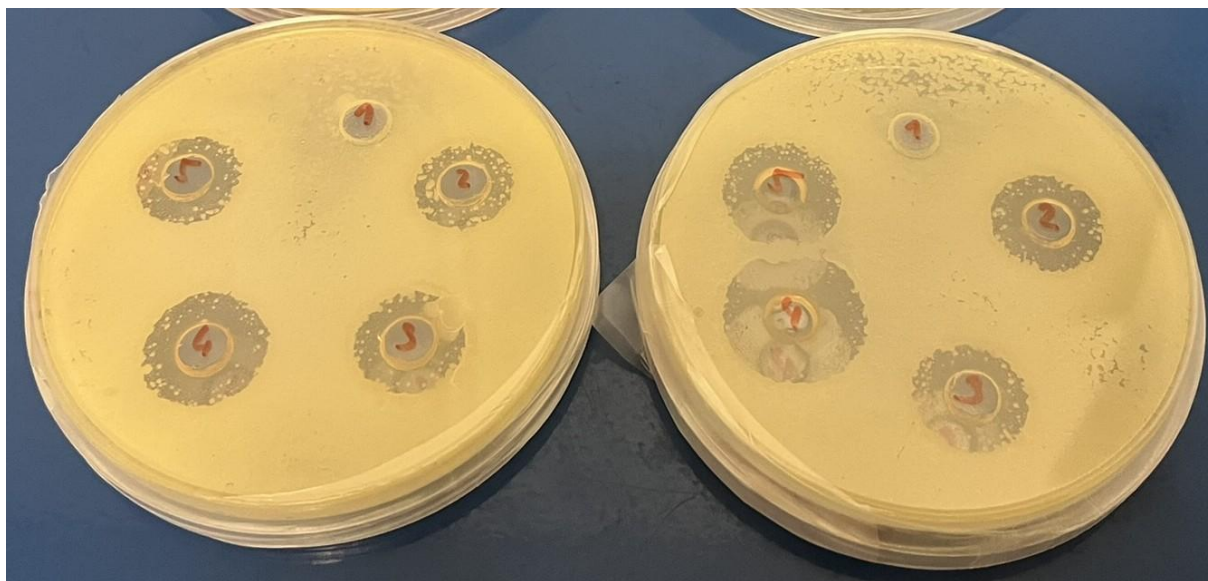
Průměry inhibičních zón jsou uvedeny v tabulce 5. Z tabulky je možné vidět určitý pokles antimikrobiální účinnosti vzorků v čase, ale i po 2 měsících vzorky stále vykazují antimikrobiální účinnost vůči této kvasince (viz Obrázek 14). Z hodnot v tabulce je možné vidět, že vzorky jeví podobnou antimikrobiální účinnost proti *Candida vini*, tak jako proti *Escherichia coli*.

Největší antimikrobiální účinnost vykazoval čerstvý vzorek s průměrem inhibičních zón $22,3 \pm 0,4$ mm. Nejnižší antimikrobiální účinnost poté byla sledována u vzorků po 2měsíčním skladování. U vzorků skladovaných v lednici byl průměr inhibičních zón stanoven na $19,0 \pm 1,9$ mm. Vzorky skladované za laboratorních podmínek vykazovaly nižší účinnost stejně jako v přechozích případech s průměrem inhibičních zón $16,5 \pm 0,9$ mm.

Tabulka 5: Antimikrobiální aktivita vzorků cukrovinek s přídavkem bylinného extraktu vůči *Candida vini*

Délka skladování [den]	Místo skladování	Průměr inhibičních zón [mm]
0		$22,3 \pm 0,4$
7	lednice	$21,5 \pm 0,5$
	laboratoř	$20,8 \pm 0,8$
14	lednice	$19,3 \pm 0,8$
	laboratoř	$18,8 \pm 0,4$
30	lednice	$20,0 \pm 1,4$
	laboratoř	$19,5 \pm 0,9$
60	lednice	$19,0 \pm 1,9$
	laboratoř	$16,5 \pm 0,9$

Na obrázku 14 je možné vidět antimikrobiální účinnost vzorků po 2měsíčním skladování a velikost vytvořených inhibičních zón vůči *Candida vini*



Obrázek 14: Účinek vzorků obsahující tužebníkový extrakt vůči *Candida vini* (skladováno 2 měsíce (vlevo – v lednici, vpravo – za laboratorních podmínek) (1 – negativní kontrola, 2-5 vzorek))

4.4 Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek

Těkavé látky ve vzorcích byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS, podmínky analýzy jsou uvedeny v kapitole 3.3.1. Následně byly tyto látky identifikovány pomocí srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou. Těkavé látky byly stanovovány v čerstvých vzorcích, vzorcích skladovaných v lednici a skladovaných za laboratorních podmínek. Měření byla prováděna ve zvolených časových intervalech (čerstvé, 7 dní, 14 dní, 1 měsíc a 2 měsíce). Všechny identifikované těkavé látky ve vzorcích skladovaných v lednici jsou uvedeny v tabulce 6. A těkavé látky identifikované ve vzorcích skladovaných za laboratorních podmínek jsou uvedeny v tabulce 7. Ukázka chromatogramů viz přílohy 2–4.

U každé identifikované sloučeniny je uveden průměrný retenční čas, vypočtený jako aritmetický průměr ze tří nezávislých měření ($n = 3$). Relativní směrodatná odchylka (RSD) retenčních časů se pohybovala kolem 0,1 %. Kromě retenčního času je u každé sloučeniny také zaznamenáno její procentuální zastoupení v analyzovaném vzorku, opět jako průměrná hodnota ze tří měření ($n = 3$) doplněná o odpovídající směrodatnou odchylku.

Ve studii Farzaneh a kol. [186] bylo v tužebníku jilmovém identifikováno 96 různých těkavých sloučenin. Nejvýznamnějšími identifikovanými látkami byly například salicylaldehyd, methylsalicylát, α -terpineol, nonanal, linalool, benzylalkohol, kyselina pelargonová a β -damascenon.

4.4.1 Identifikované těkavé látky v čerstvých cukrovinkách

V námi připravených čerstvých cukrovinkách bylo identifikováno 10 různých těkavých látek. Z toho byly 4 alkoholy, 2 ketony, 2 karboxylové kyseliny, 1 glykosid a 1 ester. Tyto látky jsou uvedeny v tabulkách 6 a 7.

Nejzastoupenější složkou byl linalool (64,27 %), patřící mezi alkoholy, známý také svými antimikrobiálními vlastnostmi [187]. Významný podíl tvořil také β -damascenon (10,48 %), keton, který je považován za jeden z klíčových aroma komponentů esenciálního oleje tužebníku jilmového [186]. Dále byl přítomen α -terpineol (6,62 %), benzylalkohol (3,79 %) a fenylethylalkohol (3,21 %). Mezi další zjištěné látky patřily fenyl- β -D-glukosid, isopropyl-myristát a hexahydrofarnesyl-aceton. Přítomnost těchto sloučenin potvrzuje, že extrakt z tužebníku jilmového významně ovlivňuje nejen aromatické, ale i potenciálně bioaktivní vlastnosti finálního produktu [186].

Počet identifikovaných aromaticky aktivních látek (AAL) je zobrazen v grafech na obrázcích 15 a 17. Grafy na obrázcích 16 a 18 srovnávají složení identifikovaných AAL ve vzorcích z hlediska jejich obsahu.

Ve vzorku se nacházelo větší množství těkavých látek, což potvrzuje i hodnocení antioxidační aktivity (viz kapitola 4.1). Těkavé látky byly viditelné i v chromatogramu, ale jejich píky nebylo možné kvantitativně vyhodnotit, proto tyto látky nebyly v analýze zahrnuty.

4.4.2 Identifikované těkavé látky v cukrovinkách skladovaných v lednici

U cukrovinek skladovaných v lednici bylo celkem stanoveno 36 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých, jak je zmíněno výše.

U cukrovinek skladovaných 7 dní bylo identifikováno celkem 27 těkavých látek, z toho 8 alkoholů, 5 ketonů, 5 aldehydů, 4 karboxylové kyseliny, 3 estery a 2 terpeny. Tyto identifikované těkavé látky jsou zobrazeny v tabulce 6.

Po sedmi dnech skladování cukrovinek v lednici bylo zaznamenáno první znatelné snížení intenzity těkavých aromatických látek, především linaloolu (43,73 %), jehož zastoupení se výrazně snížilo oproti čerstvému stavu. Kromě toho se ve vzorcích objevily nové sloučeniny, jako například kyselina nonanová (8,35 %), D-limonen (5,44 %) methylsalicylát (3,99 %) a mentol (2,94 %).

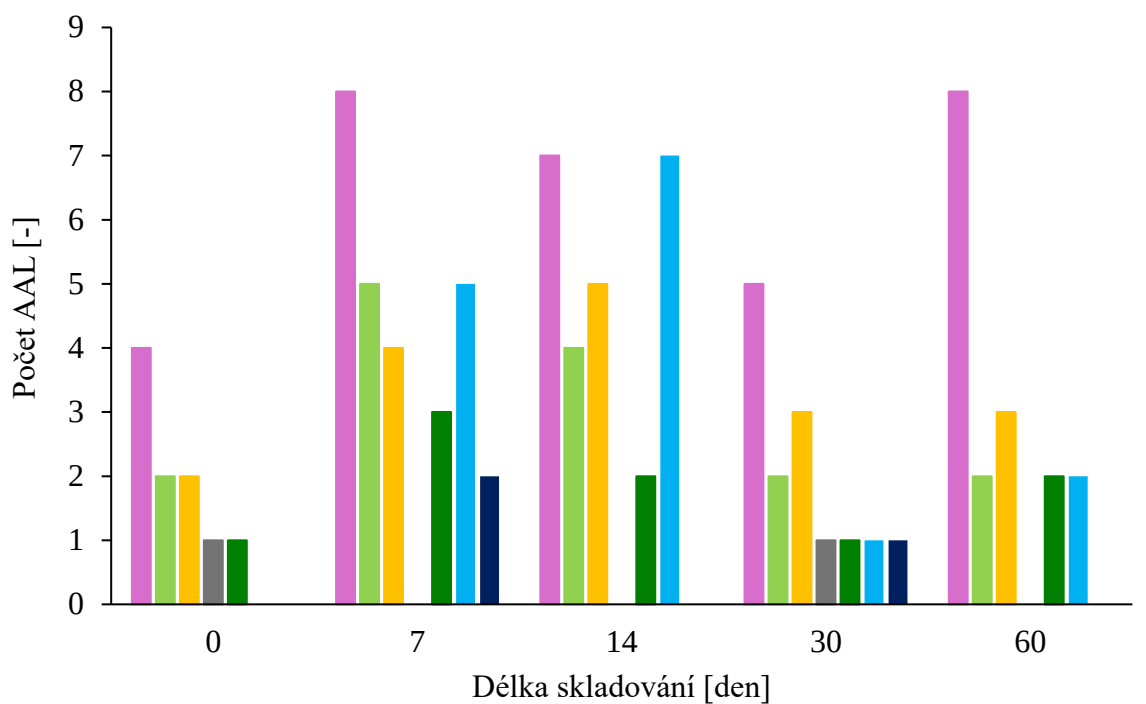
Po dvou týdnech skladování bylo identifikováno celkem 25 těkavých látek, z toho 7 alkoholů, 7 aldehydů, 5 karboxylových kyselin 4 ketony a 2 estery. Ve vzorcích se nově objevila například kyselina octová (2,39 %). Zároveň byly stále přítomny aromaticky aktivní látky jako α -terpineol (4,27 %) a kyselina nonanová (5,42 %), i když v nižších koncentracích.

Po 1 měsíci skladování bylo identifikováno celkem 14 těkavých látek, z toho 5 alkoholů, 3 karboxylové kyseliny, 2 ketony, 1 ester 1 terpen, 1 glykosid a 2 aldehydy. Ve vzorku byl například identifikován linalool (56,24 %), furfural (7,17 %) a geraniol (5,01 %).

Po 2 měsících skladování bylo ve vzorku identifikováno celkem 17 těkavých látek, 8 alkoholů, 3 karboxylové kyseliny, 2 ketony, 2 estery a 2 aldehydy. Nejvíce zastoupen ve v zorku byl linalool (33,06 %), furfural (10,58 %), α -terpineol (8,75 %) nebo také 2-heptanol (8,83 %) a kyselina hexanová (9,42 %).

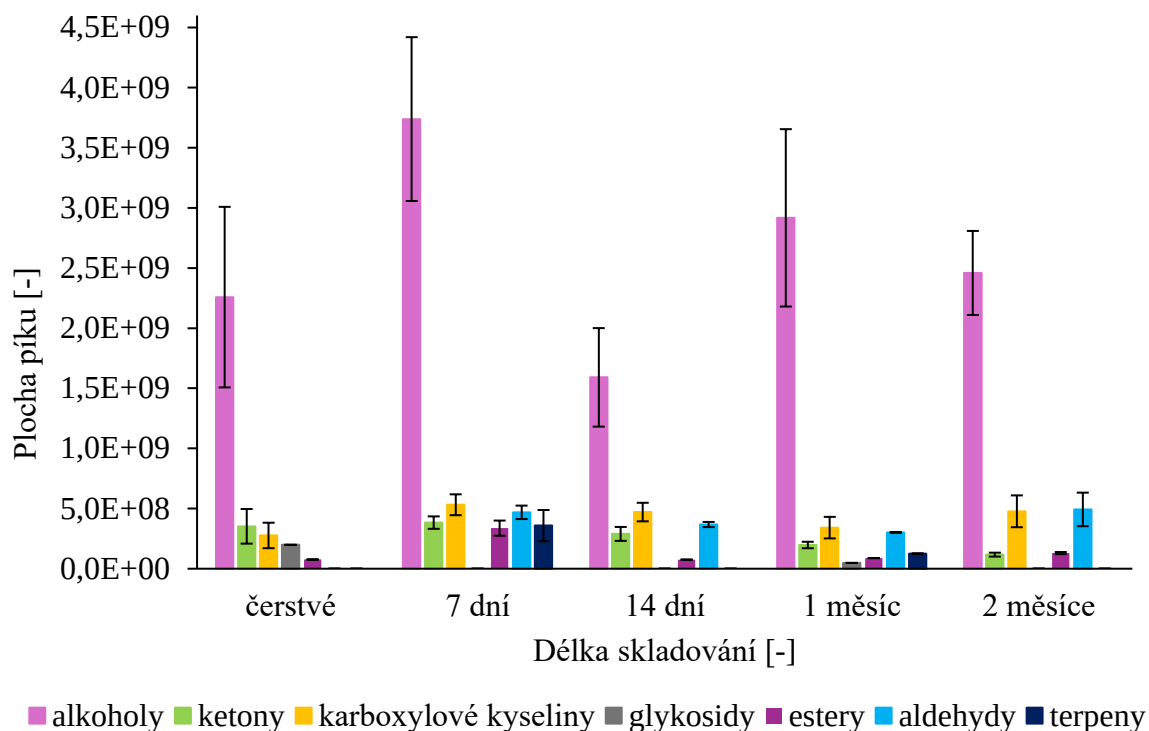
Změny během skladování ukazují, že dochází ke ztrátě těkavých, sensoricky výrazných složek a současně k hromadění méně těkavých, stabilnějších komponent, což má za následek snížení celkové aromatické intenzity cukrovinek [187].

Počet identifikovaných aromaticky aktivních látek je zobrazen v grafu na obrázku 15. Graf na obrázku 16 srovnává složení identifikovaných AAL ve vzorcích z hlediska jejich obsahu.



■ alkoholy ■ ketony ■ karboxylové kyseliny ■ glykosidy ■ estery ■ aldehydy ■ terpeny

Obrázek 15: Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek v závislosti na délce skladování (skladování v lednici)



Obrázek 16: Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek v závislosti na délce skladování (skladování v lednici)

4.4.3 Identifikované těkavé látky v cukrovinkách skladovaných za laboratorních podmínek

U cukrovinek skladovaných za laboratorních podmínek bylo celkem stanoveno 31 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých, jak je zmíněno výše. Tyto identifikované těkavé látky jsou zobrazeny v tabulce 7.

U cukrovinek skladovaných 7 dní bylo identifikováno celkem 15 těkavých látek, z toho 5 alkoholů, 4 aldehydy, 3 karboxylové kyseliny, 1 terpen, 1 keton a 1 ester. Již po 7 dnech byl ve vzorcích detekován např. linalool (35,98 %), methylsalicylát (28,94 %), α -terpineol (25,75 %), salicylaldehyd (22,71 %) nebo D-limonen (10,70 %), což svědčí o výrazné přítomnosti aromaticky aktivních sloučenin přirozeně se vyskytujících v extraktu.

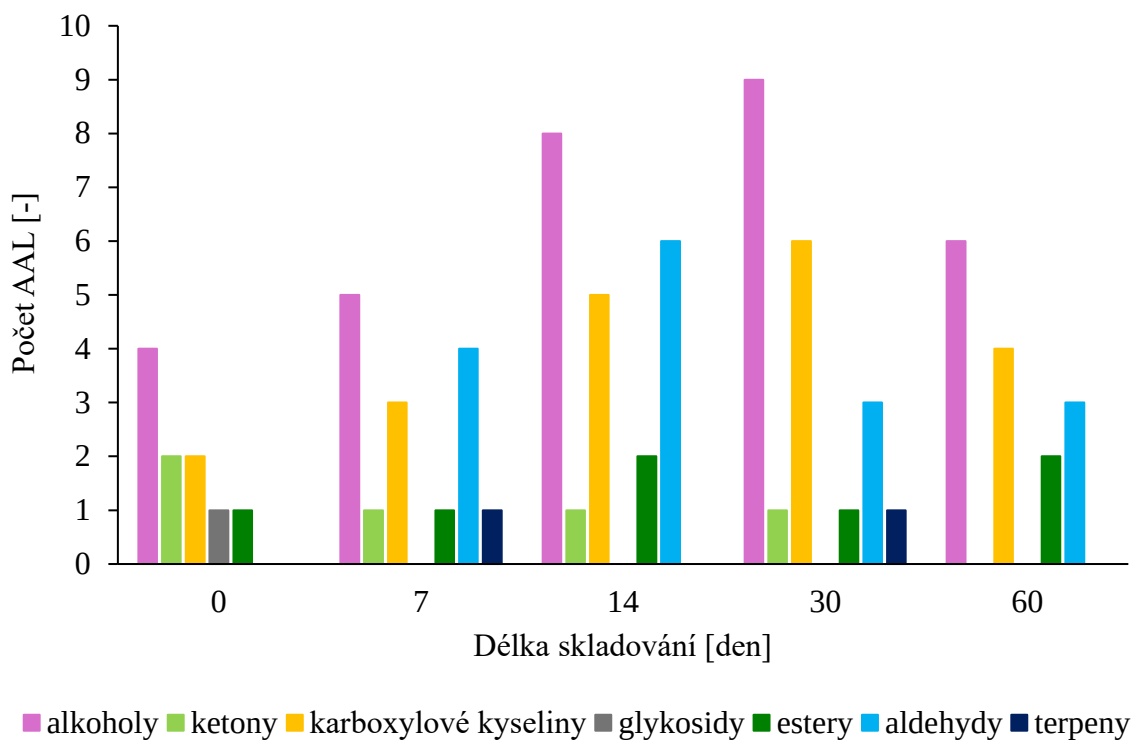
Po 14 dnech skladování bylo identifikováno celkem 22 těkavých látek, z toho 8 alkoholů, 6 aldehydů, 5 karboxylových kyselin, 2 estery a 1 keton. Ve vzorku byl identifikován mentol (17,98 %), nonanal (7,38 %) nebo kyselina octová (4,10 %).

Po 1 měsíci skladování bylo identifikováno celkem 21 těkavých látek, 9 alkoholů, 6 karboxylových kyselin, 3 aldehydy, 1 terpen, 1 keton a 1 ester. Došlo k nárůstu méně těkavých komponent, jako je kyselina nonanová (7,90 %), kyselina hexanová (5,70 %) nebo 1-nonanol (2,62 %). Profil byl stále poměrně bohatý, ale již se začínaly projevovat známky úbytku těkavých, sensoricky významných složek [186].

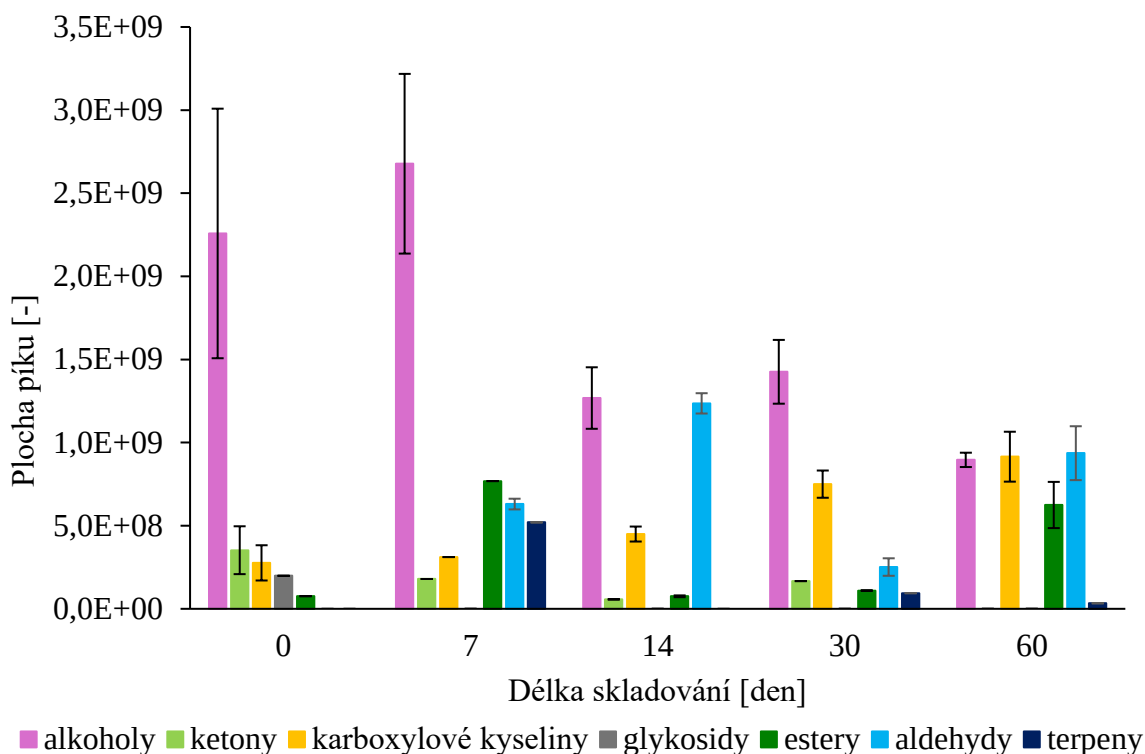
Po 2 měsících skladování bylo celkově ve vzorcích stanoveno 16 těkavých látek, z toho 6 alkoholů, 4 karboxylové kyseliny, 3 aldehydy, 2 estery a 1 terpen. Ve vzorcích byly přítomny především méně těkavé nebo stabilnější látky – například kyselina hexanová (19,30 %),

methylsalicylát (18,66 %), nonanal (13,84 %) nebo dekanal (10,28 %). Výrazný úbytek linaloolu (7,25 %) a úplná absence α -terpineolu a dalších alkoholů ukazuje na volatilizaci a rozklad těchto složek během delšího skladování [187].

Počet identifikovaných aromaticky aktivních látek je zobrazen v grafu na obrázku 17. Graf na obrázku 18 srovnává složení identifikovaných AAL ve vzorcích z hlediska jejich obsahu.



Obrázek 17: Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek v závislosti na délce skladování (skladování v laboratoři)



Obrázek 18: Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek v závislosti na délce skladování (skladování v laboratoři)

4.4.4 Srovnání vlivu skladovacích podmínek na obsah těkavých látek v cukrovinkách

U čerstvých vzorků cukrovinek s extraktem z tužebníku jilmového dominovaly výrazné aromatické alkoholy, především linalool (64,27 %), doprovázený α -terpineolem (6,62 %). Dále byla v čerstvém vzorku stanovena kyselina hexanová (8,43 %) nebo fenyl- β -D-glukosid (7,23 %).

Ve vzorcích skladovaných 7 dní v lednici došlo ke zjevnému úbytku linaloolu (43,73 %) a současně k nárůstu aldehydů jako furfural (4,26 %) nebo (E)-2-oktenal (3,2 %). V laboratorních podmínkách se tyto změny projeví ještě výrazněji – objevuje se vysoký podíl methylsalicylátu (28,94 %), salicylaldehydu (22,71 %) nebo D-limonenu (10,70 %).

Po 14 dnech skladování pokračoval pokles alkoholu linaloolu v laboratorních podmínkách na 14,22 %. Laboratorní podmínky navíc vedly ke zvýšení koncentrací aldehydů ((E)-2-nonenal (4,22 %), (E)-2-undecenal (8,89 %)).

V průběhu dlouhodobého skladování byly rozdíly mezi podmínkami ještě zřetelnější. Zatímco ve vzorcích z lednice si některé složky (např. benzylalkohol (2,65 %) nebo methylsalicylát (2,43 %)) stále udržely znatelné koncentrace, ve vzorcích skladovaných při laboratorní teplotě převládaly těkavé sloučeniny sekundárního původu jako kyselina hexanová (19,30 %), kyselina oktanová (10,72 %) a dekanal (10,28 %).

Spolu s grafickým porovnáním vzorků byly vzorky porovnány i statisticky. V případě počtu AAL nelze určit jednoznačný trend, který by rozdíly mezi různě skladovanými vzorky charakterizoval. U vzorků skladovaných po dobu 7 dní a jednoho měsíce byly sice zjištěny statisticky významné rozdíly ($p=0,000745$; $p<\alpha$ pro 7 dní a $p=0,036055$; $p<\alpha$ pro 1 měsíc),

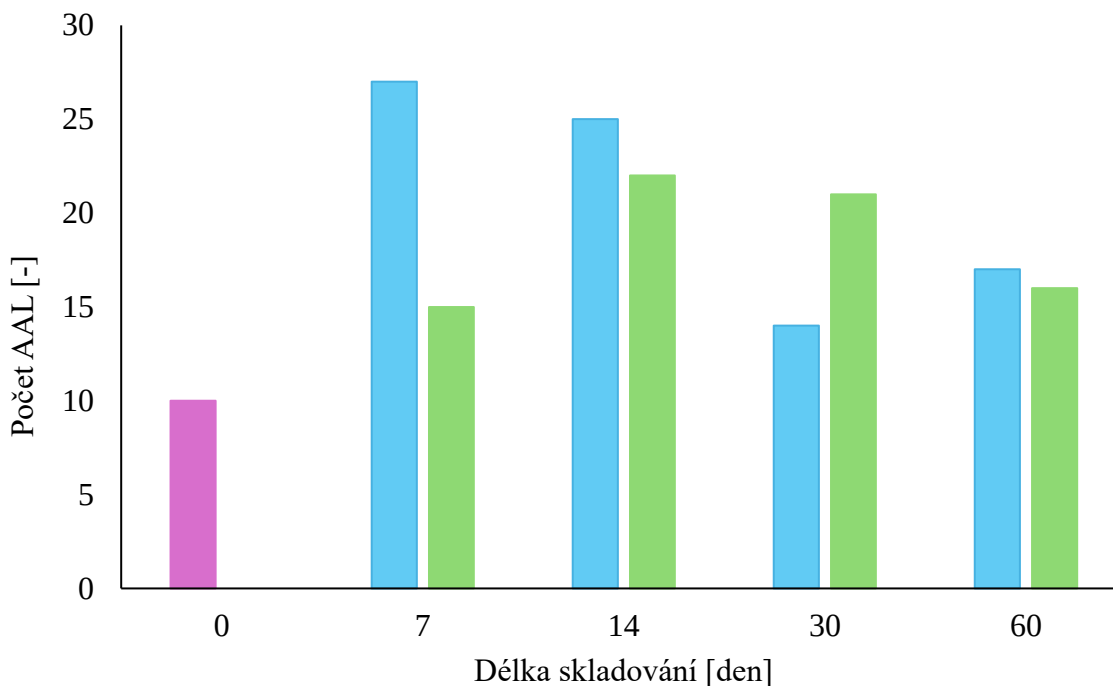
ovšem v případě 7denních vzorků výsledky hovořily ve prospěch vzorků skladovaných v lednici, u vzorků skladovaných jeden měsíc bylo nalezeno statisticky významně více látek ve vzorcích skladovaných v laboratoři. V případě vzorků skladovaných 14 dní a dva měsíce nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly z hlediska obsahu AAL ($p=0,196261$; $p>\alpha$, respektive $p=0,689570$; $p>\alpha$).

V případě porovnání obou skupin vzorků z hlediska celkového obsahu AAL, jsou výsledky podobné jako v případě srovnání z hlediska počtu AAL. Vzorky skladované 14 dní a dva měsíce opět nevykazovaly statisticky významné rozdíly ($p=0,201649$; $p>\alpha$, respektive $p=0,229566$; $p>\alpha$). V případě vzorků skladovaných 7 dní a jeden měsíc byly pozorovány statisticky významné rozdíly mezi různými způsoby skladování, kdy jako výhodnější se v obou případech jeví skladování v lednici. P-hodnoty v těchto případech nabývaly hodnot $p=0,000864$; $p<\alpha$ v případě 7denních vzorků a $p=0,000116$; $p<\alpha$ v případě měsíčních vzorků.

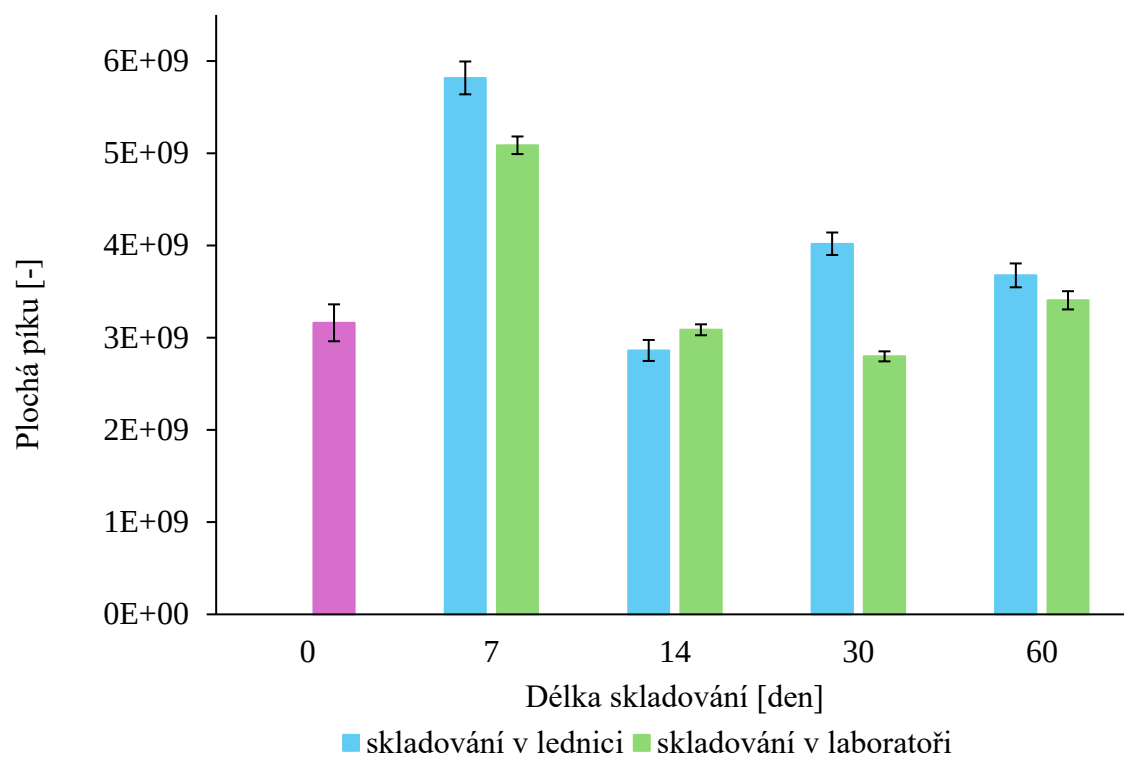
Srovnáním s čerstvými vzorky je tedy zřejmé, že obě skladovací podmínky vedly ke značné změně těkavého profilu, nicméně rychlost a míra těchto změn byla výrazně vyšší při laboratorní teplotě.

Z výše uvedeného vyplývá, že chlazené skladování je z hlediska zachování žádoucích aromatických vlastností vhodnější. Dochází při něm k menší ztrátě klíčových alkoholů a pomalejšímu vzniku sekundárních produktů s potenciálně negativním vlivem na senzorickou kvalitu.

Srovnání počtu identifikovaných aromaticky aktivních látek v závislosti na délce a podmínkách skladování je zobrazeno v grafu na obrázku 19. Graf na obrázku 20 srovnává složení identifikovaných AAL ve vzorcích z hlediska jejich obsahu v závislosti na délce a podmínkách skladování.



Obrázek 19: Srovnání počtu identifikovaných aromaticky aktivních látek ve vzorcích v závislosti na délce a podmínkách skladování



Obrázek 20: Srovnání složení identifikovaných aromaticky aktivních látek ve vzorcích z hlediska jejich obsahu v závislosti na délce a podmínkách skladování

Tabulka 6: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem tužebnikového extraktu (skladování v lednici)

Sloučenina	R _t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		0 dní	7 dní	14 dní	30 dní	60 dní	
D-limonen	8,69	-	5,44 ± 4,15	-	2,98 ± 0,35	-	terpen
ethylhexanoát	9,65	-	3,15 ± 0,40	-	-	-	ester
oktanal	10,98	-	-	0,80 ± 0,10	-	-	aldehyd
1-hepten-3-on	11,45	-	0,95 ± 0,12	-	-	-	keton
2-heptanol	11,90	-	-	-	-	8,83 ± 0,04	alkohol
(cis)-hept-2-enal	11,96	-	-	1,80 ± 0,22	-	-	aldehyd
6-methyl-5-hepten-2-on	12,34	-	2,4 ± 0,30	4,25 ± 0,50	-	-	keton
1-hexanol	12,85	-	1,38 ± 0,15	-	-	-	alkohol
nonanal	13,74	-	0,79 ± 0,10	1,78 ± 0,21	-	-	aldehyd
cis-2,6-dimethyl-2,6-oktadien	14,20	-	1,62 ± 0,20	-	-	-	terpen
(E)-2-oktenal	14,67	-	3,2 ± 0,30	3,27 ± 0,35	-	-	aldehyd
furfural	15,58	-	4,26 ± 0,33	1,76 ± 0,20	7,17 ± 0,00	10,58 ± 0,15	aldehyd
kyselina octová	15,71	-	-	2,39 ± 0,28	-	-	karboxylová kyselina
2-ethylhexanol	16,21	-	1,91 ± 0,49	1,81 ± 0,21	5,16 ± 0,84	4,82 ± 0,08	alkohol
furfurylacetát	17,42	-	1,47 ± 0,18	-	-	-	ester
linalool	17,58	64,27 ± 1,28	43,73 ± 4,54	49,48 ± 5,15	56,24 ± 3,64	33,06 ± 1,17	alkohol
6-methyl-3,5-heptadien-2-on	18,77	-	1,53 ± 0,18	-	-	-	keton
hotrienol	19,10	-	-	0,93 ± 0,12	-	-	alkohol
mentol	19,91	-	2,94 ± 0,35	3,60 ± 0,42	4,73 ± 0,58	3,41 ± 0,22	alkohol
levomentol	20,20	-	2,40 ± 0,28	-	-	-	alkohol
salicylaldehyd	20,85	-	1,98 ± 0,25	1,91 ± 0,20	-	2,84 ± 0,33	aldehyd
α-terpineol	21,26	6,62 ± 0,24	17,90 ± 1,15	4,27 ± 0,07	8,96 ± 0,02	8,75 ± 0,15	alkohol
karvon	22,23	-	-	0,44 ± 0,05	-	-	keton

Tabulka 6: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem tužebnickového extraktu (skladování v lednici) - pokračování

Sloučenina	R _t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		0 dní	7 dní	14 dní	30 dní	60 dní	
(E)-2-undecenal	22,55	-	1,50 ± 0,29	1,91 ± 0,45	-	-	aldehyd
methylsalicylát	23,30	-	3,99 ± 1,49	1,58 ± 0,5	2,43 ± 0,30	2,43 ± 0,48	ester
β-damascenon	24,75	10,48 ± 1,20	5,55 ± 0,85	6,47 ± 0,96	3,45 ± 0,30	2,50 ± 0,40	keton
geraniol	25,71	-	2,85 ± 0,34	0,63 ± 0,08	5,01 ± 0,39	4,23 ± 0,05	alkohol
kyselina hexanová	26,31	8,43 ± 0,26	6,26 ± 3,49	9,83 ± 0,43	5,66 ± 0,76	9,42 ± 0,71	karboxylová kyselina
benzylalkohol	26,94	3,79 ± 0,10	2,00 ± 0,25	2,86 ± 0,07	-	2,65 ± 0,06	alkohol
fenethylalkohol	28,42	3,21 ± 0,21	-	-	-	2,32 ± 0,04	alkohol
kyselina heptanová	31,65	-	1,64 ± 0,22	1,13 ± 0,14	-	-	kyselina
fenyl-β-D-glukosid	33,04	7,23 ± 0,85	-	-	1,53 ± 0,18	-	glykosid
isopropyl-myristát	34,02	2,62 ± 0,11	-	1,36 ± 0,09	-	1,53 ± 0,23	ester
kyselina oktanová	36,15	1,21 ± 0,01	1,66 ± 1,18	2,85 ± 0,92	0,73 ± 0,12	1,25 ± 0,14	karboxylová kyselina
hexahydrofarnesyl aceton	37,18	1,52 ± 0,38	1,20 ± 0,14	1,06 ± 0,19	2,32 ± 0,48	1,56 ± 0,34	keton
kyselina nonanová	39,90	-	8,35 ± 0,37	5,42 ± 1,56	4,53 ± 0,21	2,38 ± 0,06	karboxylová kyselina

R_t – retenční čas, průměr ze tří měření, rel. obsah sloučenin je uveden jako průměr ze tří měření ± směrodatná odchylka

Tabulka 7: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem tužebnikového extraktu (skladování v laboratoři)

Sloučenina	R _t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		0 dní	7 dní	14 dní	30 dní	60 dní	
D-limonen	8,64	-	10,70 ± 1,25	-	3,59 ± 0,26	0,89 ± 0,11	terpen
oktanal	11,10	-	-	-	-	4,13 ± 0,99	aldehyd
(cis)-hept-2-enal	11,99	-	-	4,84 ± 0,55	-	-	aldehyd
nonanal	13,70	-	-	7,38 ± 0,39	-	13,84 ± 1,75	aldehyd
(E)-2-oktenal	14,67	-	3,56 ± 0,40	10,50 ± 1,80	2,69 ± 0,06	-	aldehyd
1-okten-3-ol	15,19	-	-	2,05 ± 0,12	-	-	alkohol
furfural	15,52	-	4,23 ± 0,48	-	0,97 ± 0,12	-	aldehyd
kyselina octová	15,70	-	-	4,10 ± 0,57	10,32 ± 0,22	-	karboxylová kyselina
2-ethylhexanol	16,20	-	2,18 ± 0,26	1,37 ± 0,02	2,68 ± 0,05	2,84 ± 0,44	alkohol
dekanal	16,37	-	-	-	-	10,28 ± 2,12	aldehyd
(E)-2-nonenal	17,35	-	-	4,22 ± 0,50	-	-	aldehyd
linalool	17,57	64,27 ± 1,28	35,98 ± 4,83	14,22 ± 2,49	25,50 ± 1,93	7,25 ± 0,50	alkohol
hotrienol	19,70	-	-	-	1,85 ± 0,22	-	alkohol
mentol	19,93	-	-	17,98 ± 0,30	7,37 ± 0,03	3,73 ± 0,12	alkohol
1-nonanol	20,33	-	2,35 ± 0,01	2,05 ± 0,06	2,62 ± 0,13	5,30 ± 0,21	alkohol
salicylaldehyd	20,76	-	22,71 ± 2,71	-	-	-	aldehyd
kyselina 3-methylbutanová	20,95	-	-	-	1,62 ± 0,20	-	karboxylová kyselina
α-terpineol	21,25	6,62 ± 0,24	25,75 ± 5,44	2,25 ± 0,06	9,89 ± 0,50	-	alkohol
(E)-2-undecenal	22,51	-	3,49 ± 0,41	8,89 ± 0,05	5,52 ± 0,65	-	aldehyd
methylsalicylát	23,28	-	28,94 ± 2,52	1,46 ± 0,11	4,24 ± 0,43	18,66 ± 1,47	ester
β-damascenon	24,76	10,48 ± 1,20	-	-	-	-	keton
geraniol	25,61		1,79 ± 0,46	1,40 ± 0,17	1,84 ± 0,23	-	alkohol
kyselina hexanová	26,29	8,43 ± 0,26	4,48 ± 0,74	4,77 ± 0,10	5,70 ± 0,73	19,30 ± 1,20	karboxylová kyselina

Tabulka 7: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek s přidavkem tužebnikového extraktu (skladování v laboratoři) - pokračování

Sloučenina	R _t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		0 dní	7 dní	14 dní	30 dní	60 dní	
benzylalkohol	26,87	3,79 ± 0,10	-	1,65 ± 0,01	1,40 ± 0,10	7,08 ± 0,73	alkohol
fenethylalkohol	28,40	3,21 ± 0,21	-	-	1,80 ± 0,10	5,07 ± 1,32	alkohol
kyselina heptanová	31,56	-	-	0,84 ± 0,05	2,19 ± 0,36	1,66 ± 0,10	kyselina
fenyl-β-D-glukosid	33,08	7,23 ± 0,50	-	-	-	-	glykosid
isopropyl-myristát	34,02	2,62 ± 0,11	-	1,10 ± 0,08	-	6,78 ± 2,58	ester
kyselina oktanová	36,12	1,21 ± 0,01	0,90 ± 0,06	1,93 ± 0,18	2,05 ± 0,15	10,72 ± 2,05	karboxylová kyselina
hexahydrofarnesyl aceton	37,15	1,52 ± 0,38	4,09 ± 0,59	-	6,43 ± 0,50	-	keton
kyselina nonanová	39,86	-	2,10 ± 0,20	4,20 ± 1,41	7,90 ± 0,20	4,39 ± 0,30	karboxylová kyselina

R_t – retenční čas, průměr ze tří měření, rel. obsah sloučenin je uveden jako průměr ze tří měření ± směrodatná odchylka

4.5 Senzorická analýza cukrovinek

V rámci senzorické analýzy byly k hodnocení předloženy 3 vzorky s extraktem z tužebníku jilmového. Jednalo se o čerstvý vzorek a poté o vzorky měsíc skladované, jeden uchovávaný v lednici a druhý za laboratorních podmínek. U vzorků skladovaných 2 měsíce došlo k výrazným negativním senzorickým změnám z hlediska textury, proto byly pro potřeby senzorické analýzy využity vzorky po 1 měsíci skladování.

Data, která byla při senzorické analýze získána jsou uvedena v tabulkách 8 a 9, výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm.

V první části senzorické analýzy byla hodnocena příjemnost barvy, tuhost, intenzita vůně a příjemnost chuti. Na základě senzorického hodnocení je zřejmé, že měsíční skladování mělo výrazný vliv na vzhled, strukturu i celkový vjem z cukrovinek s extraktem z tužebníku jilmového. Největší změna nastala v příjemnosti barvy, kde byla nejvyšší hodnota u čerstvých cukrovinek, a to $8,3 \pm 1,4$. Naopak nejhůře hodnocený byl vzorek měsíc skladovaný v lednici s hodnotou $3,5 \pm 2,0$.

Textura cukrovinek se také znatelně proměnila. Tuhost čerstvých vzorků byla hodnocena na $4,4 \pm 1,5$, zatímco po měsíci vzrostla na $6,4 \pm 1,4$ u vzorků skladovaných v lednici a na $6,3 \pm 1,7$ u vzorků skladovaných při laboratorní teplotě. Tužší konzistence může negativně ovlivnit celkový senzorický dojem, zvláště u produktů, které jsou určené ke konzumaci.

Při hodnocení intenzity vůně byla hodnota nejvyšší u vzorků měsíc skladovaných v lednici, a to $5,3 \pm 1,8$. Čerstvé vzorky měly intenzitu vůně s hodnotou $4,9 \pm 2,8$, zatímco u vzorků skladovaných v laboratorních podmínkách hodnota klesla na $3,7 \pm 2,2$.

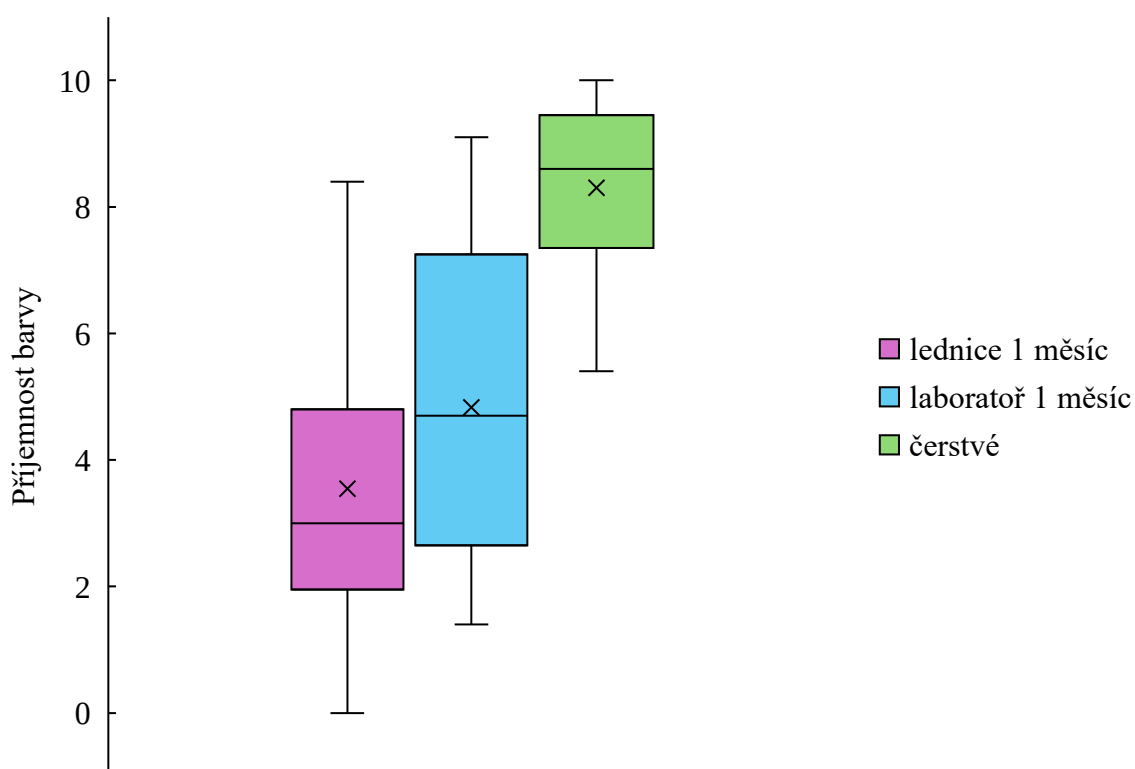
Celková příjemnost chuti se s časem také snížila. Čerstvé vzorky dosáhly hodnoty $7,4 \pm 2,0$, což naznačuje vysokou senzorickou kvalitu. Po měsíci skladování ale hodnocení kleslo, v lednici na $5,4 \pm 2,2$ a v laboratorních podmínkách na $6,2 \pm 2,2$.

Statistickým zpracováním výsledků senzorické analýzy byly zjištěny následující výsledky. Z hlediska příjemnosti barvy byly mezi porovnávanými vzorky statisticky významné rozdíly ($p=0,0000$; $p<\alpha$), zároveň nám statistické testování ukázalo, že čerstvé vzorky byly statisticky významně přijatelnější než vzorky skladované po dobu jednoho měsíce (bez ohledu na způsob jejich skladování). Zcela stejný trend byl pozorován i v případě porovnání tuhosti jednotlivých vzorků, opět mezi vzorky byly statisticky významné rozdíly ($p=0,0013$; $p<\alpha$) a čerstvé vzorky se opět lišily od zbývajících dvou a byly tedy statisticky významně méně tuhé než vzorky skladované. V případě porovnání z hlediska příjemnosti chuti byly opět nalezeny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vzorky ($p=0,0309$; $p<\alpha$). V tomto případě byly opět nalezeny statisticky významné rozdíly mezi čerstvými vzorky a vzorky skladovanými v lednici, které byly hodnoceny jako méně příjemné ($p=0,025219$; $p<\alpha$), ale v případě porovnání čerstvých vzorků se vzorky skladovanými v laboratoři nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly ($p=0,602240$; $p>\alpha$). V případě intenzity vůně nebyly mezi vzorky nalezeny statisticky významné rozdíly ($p=0,1430$; $p>\alpha$).

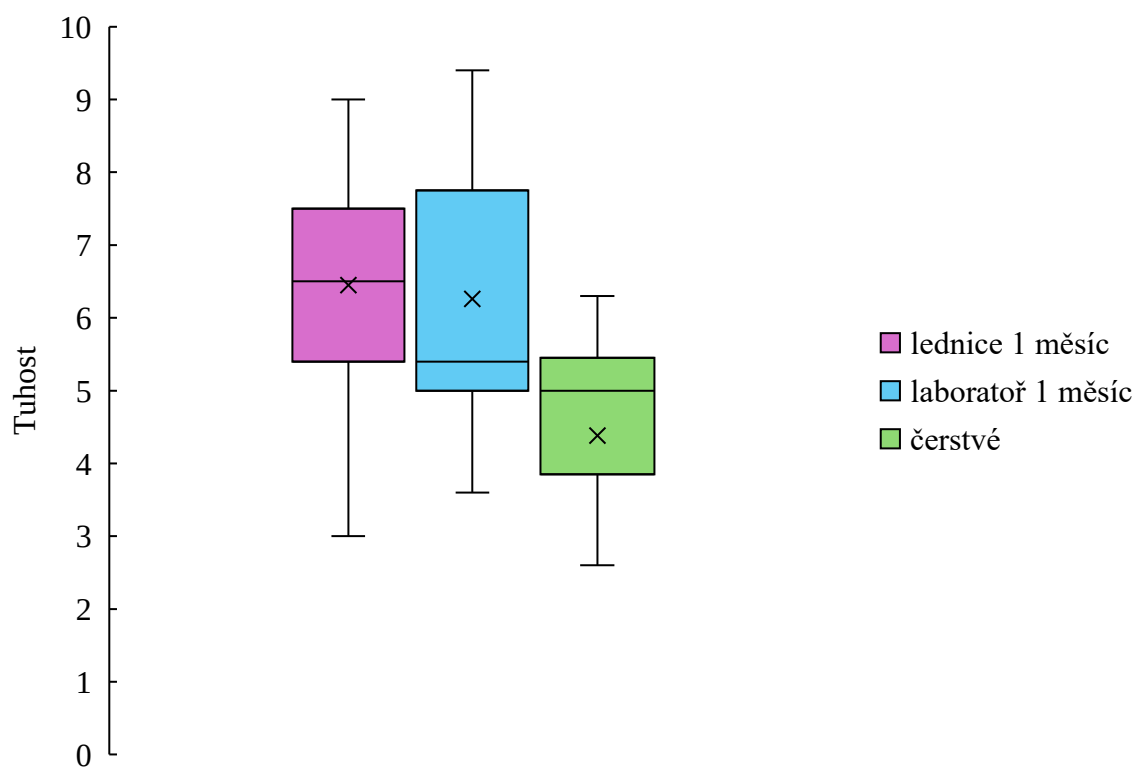
Tabulka 8: Senzorické hodnocení želé cukrovinek s přidavkem extraktu z tužebníku jilmového (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm)

Délka skladování [den]	Místo skladování	Příjemnost barvy	Tuhost	Intenzita vůně	Příjemnost chuti
30	lednice	$3,5 \pm 2,0$	$6,4 \pm 1,4$	$5,3 \pm 1,8$	$5,4 \pm 2,2$
	laboratoř	$4,8 \pm 2,3$	$6,3 \pm 1,7$	$3,7 \pm 2,2$	$6,2 \pm 2,2$
0		$8,3 \pm 1,4$	$4,4 \pm 1,5$	$4,9 \pm 2,8$	$7,4 \pm 2,0$

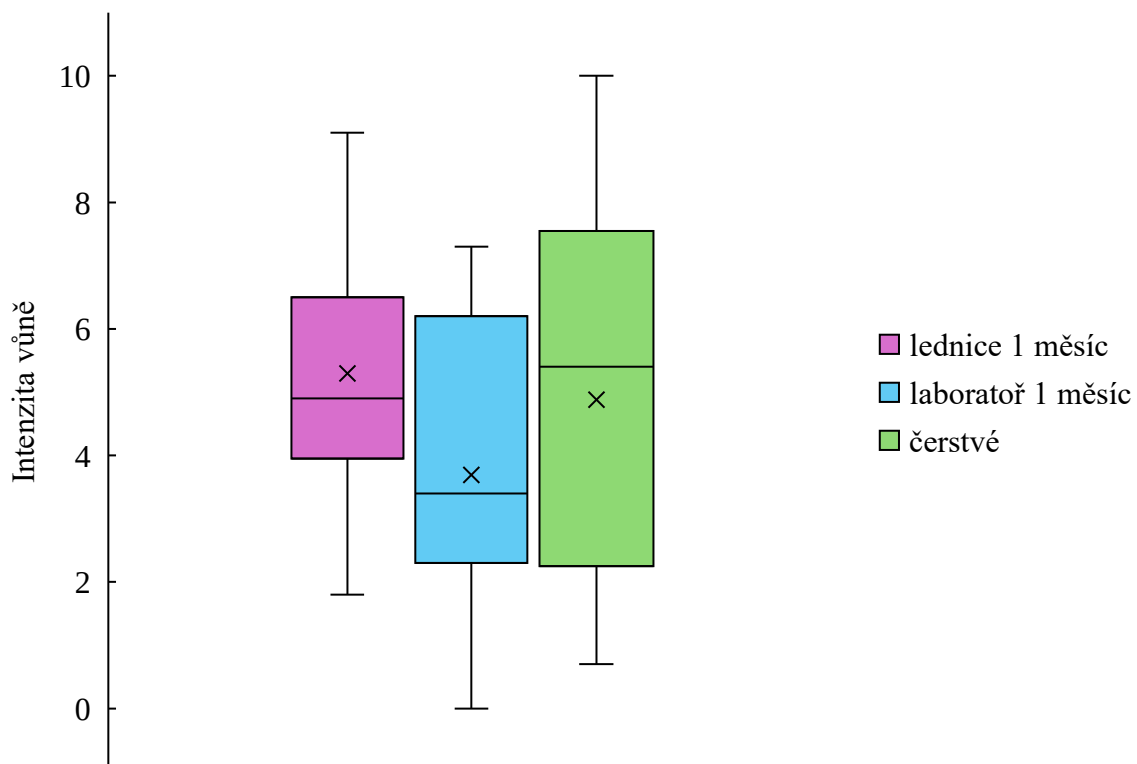
Hodnoty stanovené při senzorické analýze jsou znázorněny na obrázcích 21 až 24.



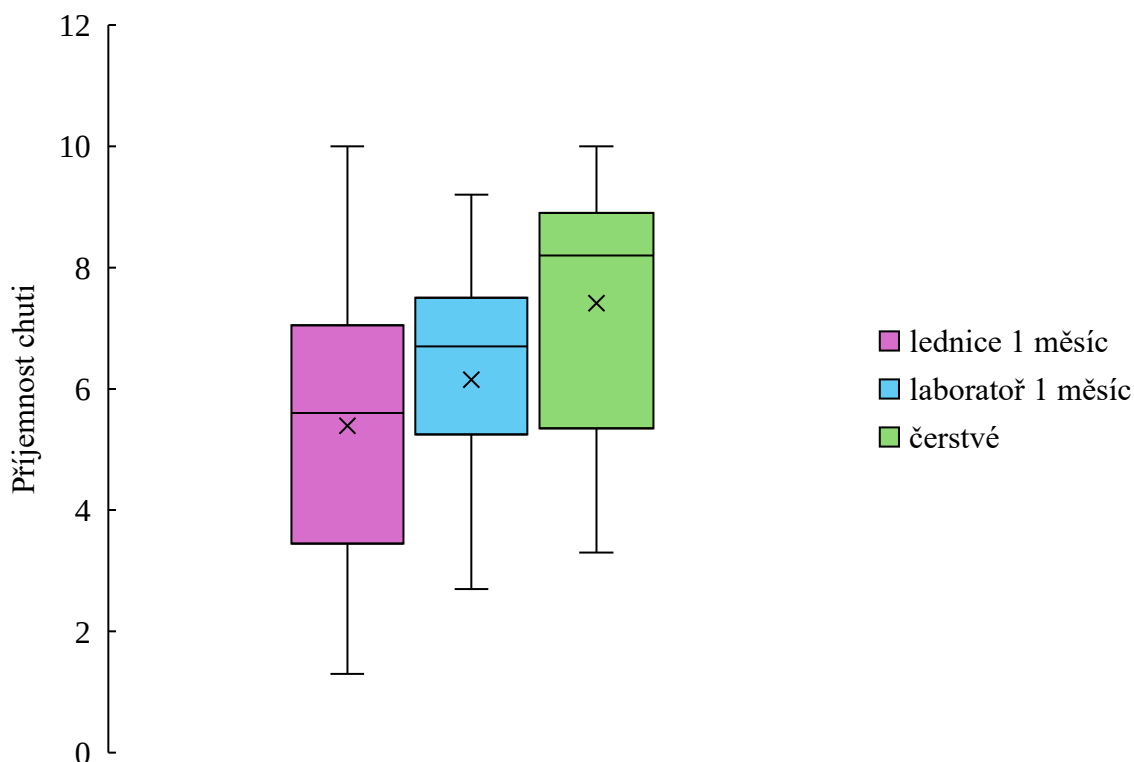
Obrázek 21: Vliv skladovacích podmínek na příjemnost barvy



Obrázek 22: Vliv skladovacích podmínek na tuhost



Obrázek 23: Vliv skladovacích podmínek na intenzitu vůně



Obrázek 24: Vliv skladovacích podmínek na příjemnost chuti

Ve druhé části senzorické analýzy byl proveden profilový test vybraných chutí (kyselé, sladká, hořká). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9.

Nejvýraznější změnu lze pozorovat u sladké chuti, která po měsíčním skladování poklesla u obou vzorků, nejvýrazněji však u vzorku uchovávaného v chladu. Z původní hodnoty $6,2 \pm 2,5$ u čerstvých cukrovinek klesla sladkost na $5,4 \pm 2,5$ u vzorku skladovaného při laboratorní teplotě a až na $4,2 \pm 2,0$ u vzorku skladovaného v lednici. Tento pokles mohla ovlivnit změna poměru ostatních chuťových vjemů, které sladkost překrývají.

U hořké chuti byl pozorován mírný nárůst intenzity po skladování, přičemž nárůst byl znatelnější u vzorku skladovaného při laboratorní teplotě. Hodnota čerstvého vzorku byla $1,0 \pm 1,3$ a hodnota u vzorku měsíc skladovaného při laboratorních podmínkách byla $1,9 \pm 2,7$.

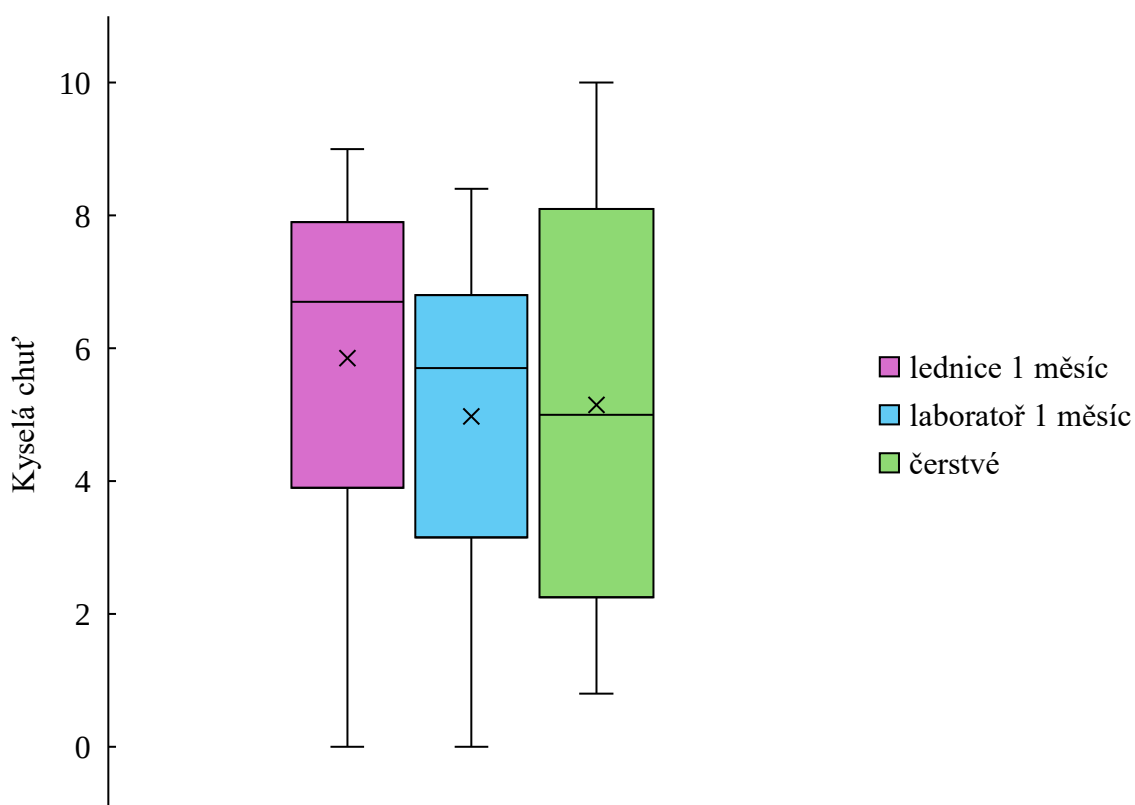
Změna v intenzitě kyselé chuti byla méně výrazná. Jako nejvíce kyselý byl hodnocen vzorek skladovaný měsíc v lednici s hodnotou $5,9 \pm 2,5$. Zatímco vzorek skladovaný měsíc při laboratorních podmínkách dosáhl hodnoty $5,0 \pm 2,3$, což je srovnatelné s čerstvým vzorkem ($5,1 \pm 2,9$). Tento výsledek mohl být ovlivněn nižší sladkostí, která vnímání kyselosti subjektivně zvýraznila.

V případě profilového testu pak nebyly ani pro jednu ze sledovaných chutí pozorovány statisticky významné rozdíly mezi vzorky ($p=0,0585$; $p>\alpha$ pro sladkou, $p=0,4717$; $p>\alpha$ pro kyselou a $p=0,9609$; $p>\alpha$ pro hořkou chuť).

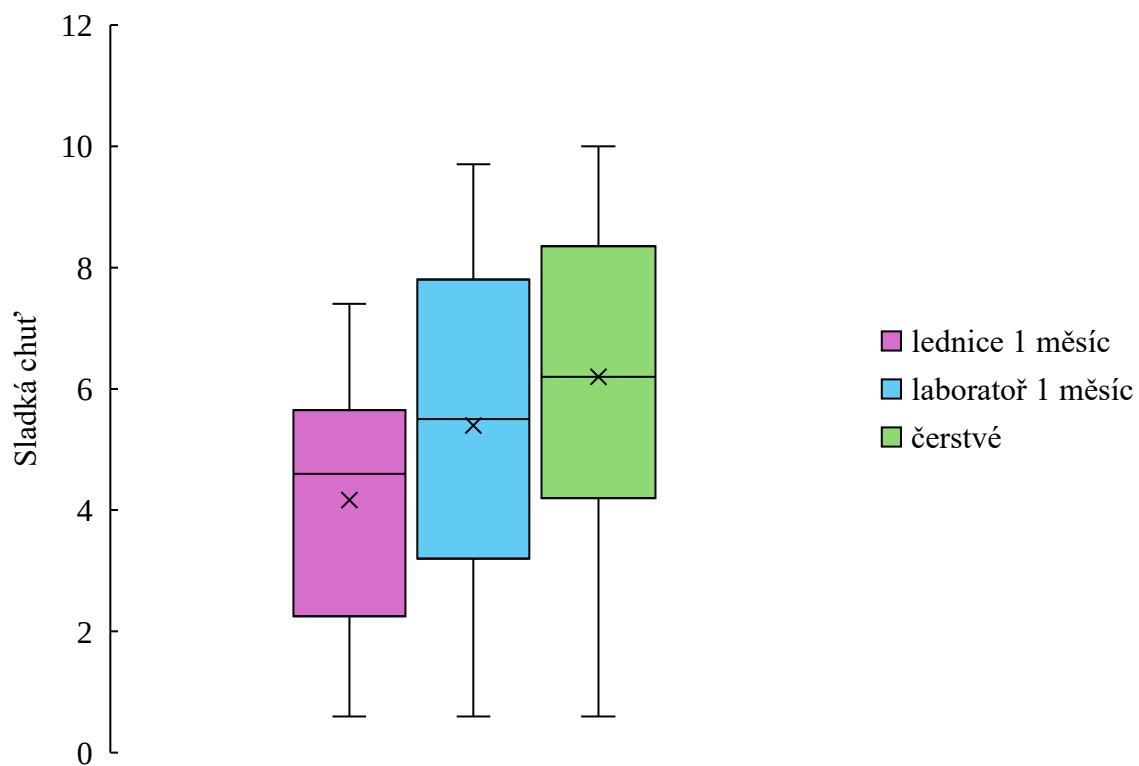
Tabulka 9: Profilový test vybraných chutí želé cukrovinek s přidavkem extraktu z tužebníku jilmového (výsledky z grafických stupnic jsou uvedeny v cm)

Délka skladování [den]	Místo skladování	Profilový test chutí		
		Kyselá	Sladká	Hořká
30	lednice	5,9 ± 2,5	4,2 ± 2,0	1,4 ± 2,3
	laboratoř	5,0 ± 2,3	5,4 ± 2,5	1,9 ± 2,7
0		5,1 ± 2,9	6,2 ± 2,5	1,0 ± 1,3

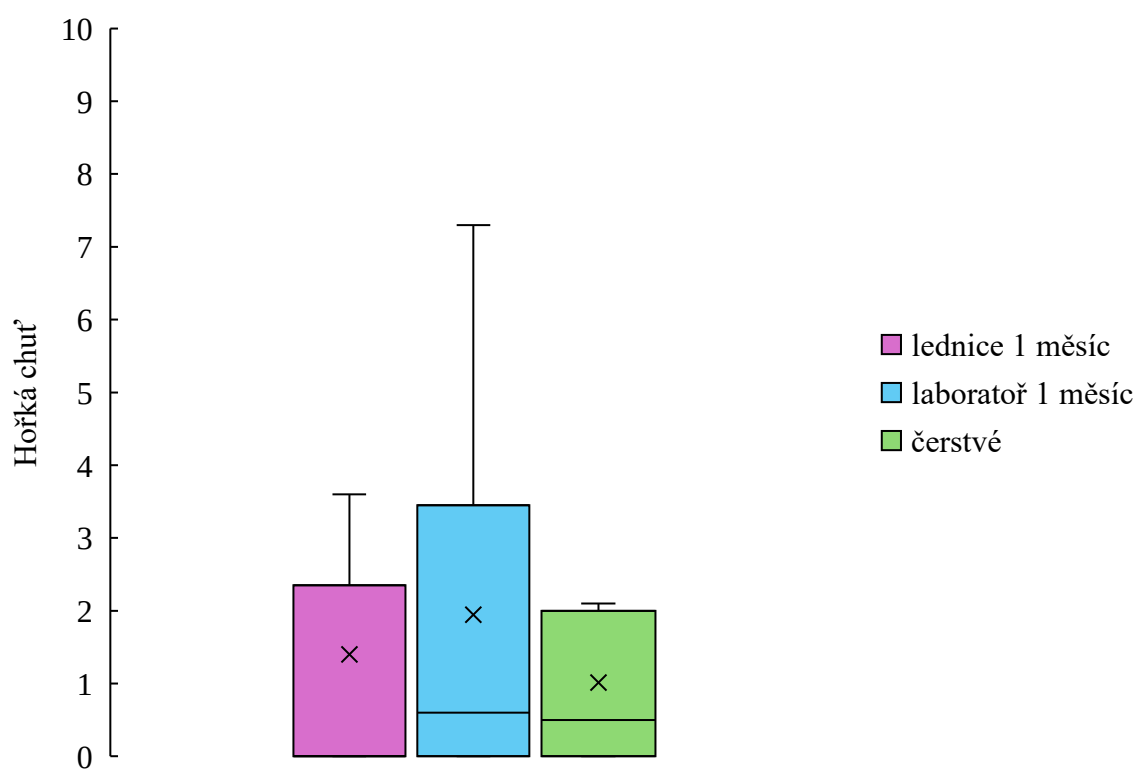
Hodnoty stanovené ve druhé části senzoričké analýze jsou znázorněny na obrázcích 25 až 27.



Obrázek 25: Vliv skladovacích podmínek na vnímání kyselé chuti

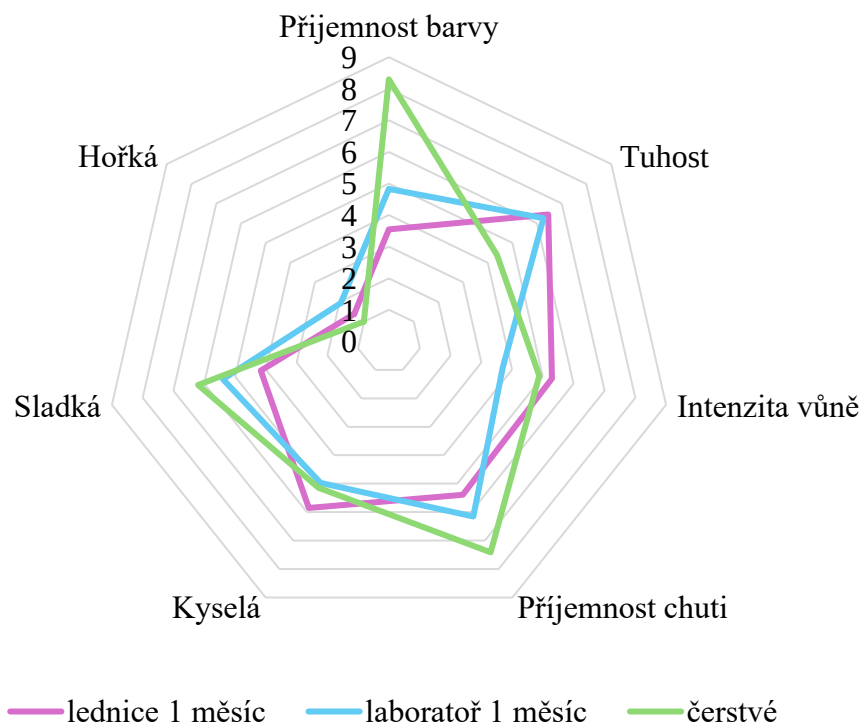


Obrázek 26: Vliv skladovacích podmínek na vnímání sladké chuti



Obrázek 27: Vliv skladovacích podmínek na vnímání hořké chuti

V grafu na obrázku 28 je graficky znázorněno hodnocení vzorků z hlediska všech hodnocených parametrů.



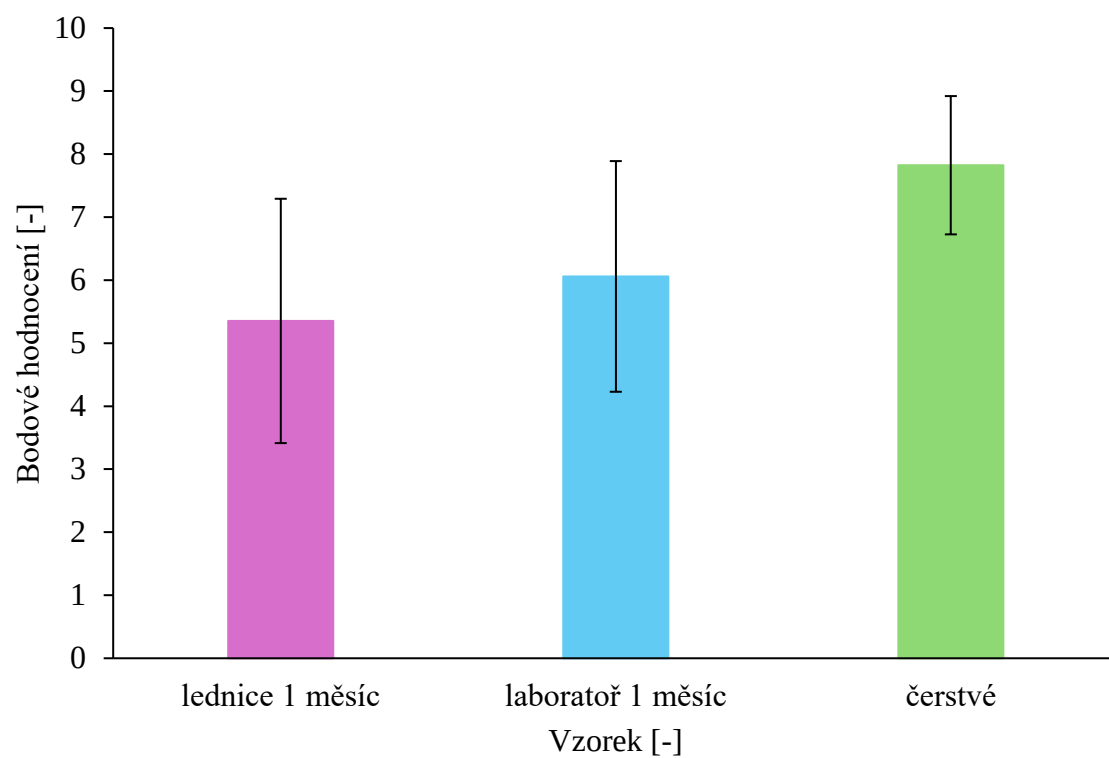
Obrázek 28: Hodnocení vzorků s extraktem z tužebníku jilmového z hlediska všech parametrů

4.5.1 Srovnání vyrobených vzorků želé cukrovinek z hlediska jejich celkové přijatelnosti

V poslední části senzorické analýzy bylo provedeno hodnocení celkové přijatelnosti vzorků. Celková přijatelnost všech vzorků je znázorněna v grafu na obrázku 29. Nejnižší bodové hodnocení měl vzorek skladovaný měsíc v lednici a nejlépe byl vyhodnocen čerstvý vzorek.

Z grafu je patrné, že nejvíce celkově přijatelný je čerstvý vzorek. Dále je také z grafu vidět, že vzorky s dlouhodobým skladováním dosáhly horšího hodnocení, což naznačuje jejich nižší senzorickou kvalitu a přijatelnost.

Při závěrečném porovnání vzorků z hlediska jejich celkové přijatelnosti hodnotitelé určili, že mezi vzorky opět existují statisticky významné rozdíly ($p=0,0000$; $p<\alpha$) a že čerstvé vzorky jsou statisticky významně přijatelnější ($p=0,000063$; $p<\alpha$ v případě porovnání se vzorky skladovanými v lednici a $p=0,001757$; $p<\alpha$ při porovnání se vzorky z laboratoře).



Obrázek 29: Hodnocení vzorků z hlediska jejich celkové přijatelnosti

5 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo vyhodnotit vliv skladovacích podmínek na nečokoládové cukrovinky s přidavkem extraktu z tužebníku jilmového.

Všechny vzorky byly podrobeny řadě analýz pro stanovení antioxidační aktivity, obsahu fenolických látek, antimikrobiální účinnosti, obsahu těkavých (aromaticky aktivních) látek a senzorické analýze.

Při stanovení antioxidační aktivity byla nejvyšší hodnota naměřena u čerstvě připravených vzorků, kde hodnota činila $4,26 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. U vzorků skladovaných v lednici byl pokles antioxidační aktivity jen mírný. Naopak u vzorků skladovaných při laboratorní teplotě byl pokles antioxidační aktivity výraznější. Hodnota antioxidační aktivity po 2 měsících skladování klesla na $2,67 \pm 0,24 \text{ mg}_{\text{TEAC}} \cdot \text{g}^{-1}$. Míra zhášení DPPH radikálů se v průběhu dvou měsíců pohybovala v rozmezí přibližně 43–72 %. Tento pokles byl výraznější u vzorků skladovaných při pokojové teplotě, zatímco vzorky uchovávané v chladu si zachovaly vyšší účinnost po delší dobu.

U stanovení fenolických látek byl nejvyšší obsah stanoven podle očekávání v čerstvě připravených cukrovinkách na $14,26 \pm 0,99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$. V průběhu skladování docházelo k postupnému poklesu této hodnoty, přičemž výraznější úbytek bylo možné pozorovat u vzorků skladovaných při laboratorní teplotě. Nejvýraznější pokles bylo možné vidět hned po 7 dnech, kdy hodnota klesla na $9,23 \pm 0,04 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných v lednici. Velmi výrazný pokles také nastal u cukrovinek skladovaných za laboratorní teploty, kdy obsah fenolických látek klesl na $8,82 \pm 0,14 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$. Po dvou měsících byl poté sledován další pokles koncentrace fenolických látek na $6,55 \pm 0,99 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných v lednici a na $3,54 \pm 0,20 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ u cukrovinek skladovaných za laboratorních podmínek.

Dále byla testována antimikrobiální aktivita vzorků pomocí difúzní jamkové metody proti kmenům *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* a *Candida vini*. Připravené vzorky vykazovaly antimikrobiální účinnost vůči všem testovaným mikroorganismům. Nejvyšší účinnost vykazovaly čerstvé vzorky a dále se účinnost s časem snižovala. Antimikrobiální účinnost byla pozorována i po 2 měsících skladování.

Pro stanovení těkavých látek byla využita metoda HS-SPME-GC-MS. Ve vzorcích skladovaných v lednici bylo identifikováno celkem 36 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých. U vzorků skladovaných za laboratorních podmínek bylo identifikováno celkem 31 těkavých látek, z toho některé i u cukrovinek čerstvých. Při srovnání čerstvých vzorků a vzorků skladovaných v lednici a za laboratorních podmínek je zřejmé, že obě skladovací podmínky vedly ke značné změně těkavého profilu, nicméně rychlost a míra těchto změn byla výrazně vyšší při laboratorní teplotě. Chlazené skladování je z hlediska zachování žádoucích aromatických vlastností vhodnější. Dochází při něm k menší ztrátě klíčových alkoholů a pomalejšímu vzniku sekundárních produktů s potenciálně negativním vlivem na senzorickou kvalitu.

Při sledování senzorické kvality byly hodnoceny čerstvé vzorky a vzorky po měsíci skladování. U vzorků skladovaných 2 měsíce došlo k výrazným negativním senzorickým změnám z hlediska textury, proto byly pro potřeby senzorické analýzy využity pouze vzorky po 1 měsíci skladování. Výsledky senzorické analýzy naznačují, že cukrovinky podléhají

během skladování změnám, které se projevují jak na úrovni chemických a fyzikálních vlastností, tak ve smyslovém hodnocení. Výraznější ztráty na kvalitě byly překvapivě zaznamenány u vzorků skladovaných v chladu, a to zejména v parametrech barvy a chuti. Senzorická analýza také ukázala, že skladovací podmínky mají znatelný vliv na vnímání jednotlivých chuťových složek v cukrovinkách. Největší změny byly zaznamenány u sladké chuti, jejíž intenzita po měsíčním skladování poklesla, přičemž pokles byl výraznější u vzorků uchovávaných v chladu. Tento jev může souviset se změnami ve vnímání ostatních chutí, které sladkost částečně překrývají. Z hlediska celkové přijatelnosti byl nejlépe hodnocen čerstvý vzorek, naopak nejnižší přijatelnost byla zaznamenána u vzorku skladovaného po dobu jednoho měsíce v chladu. Z výsledků vyplývá, že senzorická kvalita vzorků se s délkou skladování snižuje, a to bez ohledu na typ skladovacích podmínek.

Pro zlepšení stability by bylo rovněž užitečné zvážit použití ochranných balicích materiálů a voskového potahu, které by minimalizovalo přístup vzduchu, čímž by se předešlo synerezi výrobků při delším skladování. Případně by byl možný přídavek látek působících jako humektanty, například glycerolu.

Výsledky této práce naznačují, že správné skladovací podmínky jsou klíčové pro zachování nutričních a sensorických vlastností cukrovinek s přídavkem rostlinného extraktu. Vzhledem k rostoucí poptávce po zdravějších alternativách potravin mohou výsledky této práce přispět k vývoji nových, nutričně hodnotných produktů, které budou odpovídat aktuálním trendům v oblasti zdravé výživy.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] SKOUPIL, Jan. *Suroviny a polotovary pro cukrářskou výrobu*. Brno: Společenstvo cukrářů České republiky, 2005. ISBN 80-239-6061-X.
- [2] MORA, Margaux R. a Robin DANDO. The sensory properties and metabolic impact of natural and synthetic sweeteners. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2021, **20**(2), 1554–1583. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12703
- [3] GREMBECKA, Małgorzata. Natural sweeteners in a human diet. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*. 2015, **66**(3), 195–202. ISSN 0035-7715.
- [4] GOYAL, S. K., Samsher a R. K. AND GOYAL. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* [online]. 2010, **61**(1), 1–10. ISSN 0963-7486. Dostupné z: doi:10.3109/09637480903193049
- [5] ANTON, Stephen D., Corby K. MARTIN, Hongmei HAN, Sandra COULON, William T. CEFALU, Paula GEISELMAN a Donald A. WILLIAMSON. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* [online]. 2010, **55**(1), 37–43. ISSN 0195-6663. Dostupné z: doi:10.1016/j.appet.2010.03.009
- [6] O'DONNELL, Kay a Malcolm W. KEARSLEY, ed. *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology* [online]. 1. vyd. B.m.: Wiley, 2012 [vid. 2025-04-19]. ISBN 978-0-470-65968-7. Dostupné z: doi:10.1002/9781118373941
- [7] TANDEL, Kirtida R. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* [online]. 2011, **2**(4), 236–243. ISSN 0976-500X. Dostupné z: doi:10.4103/0976-500X.85936
- [8] O'BRIEN-NABORS, Lyn, ed. *Alternative Sweeteners* [online]. 4. vyd. B.m.: CRC Press, 2016 [vid. 2025-04-19]. ISBN 978-0-429-10908-9. Dostupné z: doi:10.1201/b11242
- [9] BANERJEE, Soumya a Suvendu BHATTACHARYA. Food Gels: Gelling Process and New Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2012, **52**(4), 334–346. ISSN 1040-8398, 1549-7852. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2010.500234
- [10] CHEN, Xiaodan, Xiaoting FU, Luqiang HUANG, Jiachao XU a Xin GAO. Agar oligosaccharides: A review of preparation, structures, bioactivities and application. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2021, **265**, 118076. ISSN 1879-1344. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.118076
- [11] MOSTAFAVI, Fatemeh Sadat a Davood ZAEIM. Agar-based edible films for food packaging applications - A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **159**, 1165–1176. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.123
- [12] AHMAD, Muhammad Ijaz, Yonghui LI, Jinfeng PAN, Fei LIU, Hongjie DAI, Yu FU, Tao HUANG, Shahzad FAROOQ a Hui ZHANG. Collagen and gelatin: Structure, properties, and applications in food industry. *International Journal of Biological Macromolecules*

- [online]. 2024, **254**(Pt 3), 128037. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.128037
- [13] SAID, M. I. Role and function of gelatin in the development of the food and non-food industry: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [online]. 2020, **492**(1), 012086. ISSN 1755-1315. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/492/1/012086
- [14] JUNEJA, Rinka a Manjeet KAUR. Overview on Pectin and its Pharmaceutical uses. *International Journal of Innovative Research in Engineering & Management* [online]. 2022, 353–356. ISSN 23500557. Dostupné z: doi:10.55524/ijirem.2022.9.1.72
- [15] GAWKOWSKA, Diana, Justyna CYBULSKA a Artur ZDUNEK. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. *Polymers* [online]. 2018, **10**(7), 762. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym10070762
- [16] POURNAKI, Shirin Kazemzadeh, Ricardo Santos ALEMAN, Mehrdad HASANI-AZHDARI, Jhuniar MARCIA, Ajitesh YADAV a Marvin MONCADA. Current Review: Alginate in the Food Applications. *J* [online]. 2024, **7**(3), 281–301. ISSN 2571-8800. Dostupné z: doi:10.3390/j7030016
- [17] CAMPO, Vanessa Leiria, Daniel Fábio KAWANO, Dílson Braz da SILVA a Ivone CARVALHO. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2009, **77**(2), 167–180. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.020
- [18] PATEL, Seema a Arun GOYAL. Applications of Natural Polymer Gum Arabic: A Review. *International Journal of Food Properties* [online]. 2015, **18**(5), 986–998. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2013.809541
- [19] BARAK, Sheweta, Deepak MUDGIL a Shelly TANEJA. Exudate gums: chemistry, properties and food applications - a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2020, **100**(7), 2828–2835. ISSN 1097-0010. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.10302
- [20] SHELLHAMMER, Thomas H. a John M. KROCHTA. Edible Coatings and Film Barriers. In: *Lipid Technologies and Applications*. B.m.: Routledge, 1997. ISBN 978-0-203-74884-8.
- [21] PASHOVA, Sabka. Application of Plant Waxes in Edible Coatings. *Coatings* [online]. 2023, **13**(5), 911. ISSN 2079-6412. Dostupné z: doi:10.3390/coatings13050911
- [22] SIGURDSON, Gregory T., Peipei TANG a M. Mónica GIUSTI. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology* [online]. 2017, **8**(Volume 8, 2017), 261–280. ISSN 1941-1413, 1941-1421. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-food-030216-025923
- [23] AUTHORITY (EFSA), European Food Safety. Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA Journal* [online]. 2008, **6**(3), 660. ISSN 1831-4732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2008.660

- [24] BARCIELA, P., A. PEREZ-VAZQUEZ a M. A. PRIETO. Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2023, **178**, 113935. ISSN 0278-6915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2023.113935
- [25] RAY, Subhajit. Sensory Properties of Foods and Their Measurement Methods. In: Mohidus Samad KHAN a Mohammad SHAFIUR RAHMAN, ed. *Techniques to Measure Food Safety and Quality* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2021 [vid. 2025-04-19], s. 345–381. ISBN 978-3-030-68635-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-68636-9_15
- [26] HARTEL, Richard W. a AnnaKate HARTEL. *Candy Bites: The Science of Sweets* [online]. New York, NY: Springer New York, 2014 [vid. 2025-04-19]. ISBN 978-1-4614-9382-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-9383-9
- [27] Food Additives. In: *Food Chemistry* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009 [vid. 2025-04-19], s. 429–466. ISBN 978-3-540-69933-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-540-69934-7_9
- [28] BUREY, P., B.R. BHANDARI, R.P.G. RUTGERS, P.J. HALLEY a P.J. TORLEY. Confectionery Gels: A Review on Formulation, Rheological and Structural Aspects. *International Journal of Food Properties* [online]. 2009, **12**(1), 176–210. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942910802223404
- [29] EDWARDS, W. P. (Bill). 7 - Caramels, fondants and jellies as centres and fillings. In: Geoff TALBOT, ed. *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products* [online]. B.m.: Woodhead Publishing, 2009 [vid. 2024-12-30], Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, s. 123–151. ISBN 978-1-84569-390-9. Dostupné z: doi:10.1533/9781845696436.1.123
- [30] BRECHSCHNEIDER, Rudolf a Jana ČOPÍKOVÁ. *Technologie cukrovarnictví – technologie cukrovinek*. B.m.: Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1984.
- [31] RIEDEL, Romy, Birgit BÖHME a Harald ROHM. Development of formulations for reduced-sugar and sugar-free agar-based fruit jellies. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2015, **50**(6), 1338–1344. ISSN 1365-2621. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.12787
- [32] DALABASMAZ, Sevim, Mehmet Erhan MELAYIM a Nevzat KONAR. Effects of gelatin concentration, adding temperature and mixing rate on texture and quality characteristics of model gels. *Journal of Texture Studies* [online]. 2023. ISSN 1745-4603. Dostupné z: doi:10.1111/jtxs.12800
- [33] WANG, Ruican a Richard W. HARTEL. Citric acid and heating on gelatin hydrolysis and gelation in confectionery gels. *Food Hydrocolloids* [online]. 2022, **129**, 107642. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107642
- [34] KASTNER, H., K. KERN, R. WILDE, A. BERTHOLD, U. EINHORN-STOLL a S. DRUSCH. Structure formation in sugar containing pectin gels - influence of tartaric acid content (pH) and cooling rate on the gelation of high-methoxylated pectin. *Food*

- Chemistry* [online]. 2014, **144**, 44–49. ISSN 1873-7072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.127
- [35] HENGLEIN, von F. A. a I. KROHN. Die quellung von pektinen und pektinhaltigen stoffen. *Die Makromolekulare Chemie* [online]. 1950, **4**(3), 308–315. ISSN 0025-116X. Dostupné z: doi:10.1002/macp.1950.020040308
- [36] ELLIS, H. S. a S. G. RING. A study of some factors influencing amylose gelation. *Carbohydrate Polymers* [online]. 1985, **5**(3), 201–213. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/0144-8617(85)90022-0
- [37] EFE, Nilgun a Paul DAWSON. A Review: Sugar-Based Confectionery and the Importance of Ingredients. *European Journal of Agriculture and Food Sciences* [online]. 2022, **4**(5), 1–8. ISSN 2684-1827. Dostupné z: doi:10.24018/ejfood.2022.4.5.552
- [38] PALABIYIK, Ibrahim, Tuba GÜLERI, Recep GUNES, Barış ÖNER, Omer Said TOKER a Nevzat KONAR. A fundamental optimization study on chewing gum textural and sensorial properties: The effect of ingredients. *Food Structure* [online]. 2020, **26**, 100155. ISSN 2213-3291. Dostupné z: doi:10.1016/j.foostr.2020.100155
- [39] KONAR, Nevzat, Ibrahim PALABIYIK, Omer Said TOKER a Osman SAGDIC. Chewing gum: Production, quality parameters and opportunities for delivering bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016, **55**, 29–38. ISSN 0924-2244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.07.003
- [40] ŠMÍDOVÁ, I., J. ČOPÍKOVÁ, M. MARYŠKA a M. A. COIMBRA. Crystals in hard candies. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2003, **21**(5), 185–191. ISSN 12121800, 18059317. Dostupné z: doi:10.17221/3497-CJFS
- [41] OZEL, Baris, Sena KUZU, Mehmet Ali MARANGOZ, Sarper DOGDU, Robert H. MORRIS a Mecit H. OZTOP. Hard Candy Production and Quality Parameters: A review. *Open Research Europe* [online]. 2024, **4**, 60. ISSN 2732-5121. Dostupné z: doi:10.12688/openreseurope.16792.1
- [42] BARRA, Giuseppina a John R. MITCHELL. The Rheology of Caramel. *Current Nutrition & Food Science* [online]. nedatováno, **9**(1), 15–25. Dostupné z: doi:10.2174/1573401311309010005
- [43] GOLON, Agnieszka a Nikolai KUHNERT. Unraveling the chemical composition of caramel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, **60**(12), 3266–3274. ISSN 1520-5118. Dostupné z: doi:10.1021/jf204807z
- [44] AN, Duck Soon, Ji Hye LEE a Dong Sun LEE. Water vapor and oxygen barrier estimation in designing a single-serve package of powdered infant formula for required shelf life. *Journal of Food Process Engineering* [online]. 2018, **41**(1), e12592. ISSN 0145-8876, 1745-4530. Dostupné z: doi:10.1111/jfpe.12592
- [45] MATULYTE, Inga, Akvile MATARAITE, Saule VELZIENE a Jurga BERNATONIENE. The Effect of Myristica fragrans on Texture Properties and Shelf-Life of Innovative Chewable Gel Tablets. *Pharmaceutics* [online]. 2021, **13**(2), 238. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics13020238

- [46] WAHBA, Eman A., T. A. EL-ADAWY, Amal A. ATEF a A. E. EL-BELTAGY. UTILIZATION OF SOME PLANT MATERIAL EXTRACTS TO EXTEND THE SHELF LIFE OF CUPCAKES DURING STORAGE. *Menoufia Journal of Food and Dairy Sciences* [online]. 2021, **6**(3), 21–31. ISSN 2357-0792. Dostupné z: doi:10.21608/mjfds.2021.202633
- [47] ALI, Aameena, Chien Hwa CHONG, Siau Hui MAH, Luqman Chuah ABDULLAH, Thomas Shean Yaw CHOONG a Bee Lin CHUA. Impact of Storage Conditions on the Stability of Predominant Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of Dried Piper betle Extracts. *Molecules* [online]. 2018, **23**(2), 484. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23020484
- [48] PRIYA, S. a N. PRAKASH. Studies on Shelf-Life Evaluation of Reduced Sugar Jelly Confection. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* [online]. 2017, **6**(7), 2399–2404. ISSN 2319-7706. Dostupné z: doi:10.20546/ijcmas.2017.607.283
- [49] NIKOLAEVA, M.A. a T.S. TANANAEVA. Conditions and terms of storage of confectionery products. *Tovaroved prodovolstvennykh tovarov (Commodity specialist of food products)* [online]. 2020, (12), 64–71. Dostupné z: doi:10.33920/igt-01-2012-11
- [50] MARTIN, Ethan. Effects of Packaging Materials on Food Quality and Shelf Life in Australia. *International Journal of Food Sciences* [online]. 2024, **7**(1), 29–41. ISSN 2789-7680. Dostupné z: doi:10.47604/ijf.2537
- [51] VOJVODIĆ CEBIN, Aleksandra, Magdalena BUNIĆ, Ana MANDURA JARIĆ, Danijela ŠEREMET a Draženka KOMES. Physicochemical and Sensory Stability Evaluation of Gummy Candies Fortified with Mountain Germander Extract and Prebiotics. *Polymers* [online]. 2024, **16**(2), 259. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym16020259
- [52] RADTKE, R. Über das Lagerverhalten von Kartoffelchips bei Belichtung und im Dunkeln I Analyse der durch Licht ausgelösten Veränderungen des Röstöls. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* [online]. 1974, **76**(12), 540–547. ISSN 1521-4133. Dostupné z: doi:10.1002/lipi.19740761206
- [53] CHURIN, A. A., N. V. MASNAIA, E. Iu SHERSTOBOEV a I. V. SHILOVA. Effect of Filipendula ulmaria extract on immune system of CBA/Calac and C57Bl/6 mice. *Ekspierimental'naia I Klinicheskaia Farmakologija*. 2008, **71**(5), 32–36. ISSN 0869-2092.
- [54] JANEWAY, Charles, ed. *Immunobiology 5: the immune system in health and disease*. 5th ed. New York: Garland Pub, 2001. ISBN 978-0-8153-3642-6.
- [55] SAMARDŽIĆ, Stevan, Maja TOMIĆ, Uroš PECIKOZA, Radica STEPANOVIĆ-PETROVIĆ a Zoran MAKSIMOVIĆ. Antihyperalgesic activity of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. and *Filipendula vulgaris* Moench in a rat model of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 2016, **193**, 652–656. ISSN 0378-8741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2016.10.024
- [56] KATANIĆ, Jelena, Tatjana BOROJA, Vladimir MIHAILOVIĆ, Stefanie NIKLES, San-Po PAN, Gvozden ROSIĆ, Dragica SELAKOVIĆ, Jovana JOKSIMOVIĆ, Slobodanka MITROVIĆ a Rudolf BAUER. In vitro and in vivo assessment of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) as anti-inflammatory agent. *Journal of Ethnopharmacology*

- [online]. 2016, **193**, 627–636. ISSN 0378-8741. Dostupné z: doi:10.1016/j.jep.2016.10.015
- [57] PANIAGUA-ZAMBRANA, Narel Y., Rainer W. BUSSMANN a Zaal KIKVIDZE. *Filipendula ulmaria* L. *Filipendula vulgaris* Moench Rosaceae. In: Rainer W. BUSSMANN, Narel Y. PANIAGUA-ZAMBRANA a Zaal KIKVIDZE, ed. *Ethnobotany of the Mountain Regions of Eastern Europe: Carpathians* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2024 [vid. 2025-02-08], s. 1–6. ISBN 978-3-030-98744-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-98744-2_126-1
- [58] PANNAKAL, Steve Thomas, Joan EILSTEIN, Jane HUBERT, Alexis KOTLAND, Arpita PRASAD, Amelie GUEGUINIAT-PREVOT, Franck JUCHAUX, Floriane BEAUMARD, Ganapaty SERU, Sherluck JOHN a Dhimoy ROY. Rapid Chemical Profiling of *Filipendula ulmaria* Using CPC Fractionation, 2-D Mapping of ¹³C NMR Data, and High-Resolution LC–MS. *Molecules* [online]. 2023, **28**(17), 6349. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28176349
- [59] YILDIRIM, Arzu Birinci, Ayca CIMEN, Yavuz BABA a Arzu TURKER. Natural- and in vitro-grown *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim: evaluation of pharmaceutical potential (antibacterial, antioxidant and toxicity) and phenolic profiles. *Prospects in Pharmaceutical Sciences* [online]. 2024, **22**(1), 1–10. ISSN 2957-0468. Dostupné z: doi:10.56782/pp.171
- [60] ANDONOVA, Tsvetelina, Yordan MUHOVSKI, Elena APOSTOLOVA, Samir NAIMOV, Silviya MLADENOVA, Iliya SLAVOV, Ivayla DINCHEVA, Vasil GEORGIEV, Atanas PAVLOV a Ivanka DIMITROVA-DYULGEROVA. DNA-Protective, Antioxidant and Anti-Carcinogenic Potential of Meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) Dry Tincture. *Antioxidants* [online]. 2024, **13**(10), 1200. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox13101200
- [61] LEE, Jongsung a Chang-Gu HYUN. Natural Products for Cosmetic Applications. *Molecules* [online]. 2023, **28**(2), 534. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28020534
- [62] GARCIA-OLIVEIRA, P., M. FRAGA-CORRAL, A. G. PEREIRA, C. LOURENÇO-LOPES, C. JIMENEZ-LOPEZ, M. A. PRIETO a J. SIMAL-GANDARA. Scientific basis for the industrialization of traditionally used plants of the *Rosaceae* family. *Food Chemistry* [online]. 2020, **330**, 127197. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127197
- [63] HARBOURNE, Niamh, Jean Christophe JACQUIER a Dolores O'RIORDAN. Optimisation of the aqueous extraction conditions of phenols from meadowsweet (*Filipendula ulmaria* L.) for incorporation into beverages. *Food Chemistry*. 2009, **116**(3), 722–727. ISSN 0308-8146.
- [64] KATANIĆ, Jelena, Tatjana BOROJA, Nevena STANKOVIĆ, Vladimir MIHAILOVIĆ, Milan MLADENOVIC, Samo KREFT a Miroslav M. VRVIĆ. Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Food & Function* [online]. 2015, **6**(4), 1164–1175. ISSN 2042-650X. Dostupné z: doi:10.1039/C4FO01208A

- [65] MÄRZ, R. W. a F. KEMPER. Weidenrindenextrakt – Wirkungen und Wirksamkeit. Erkenntnisstand zu Pharmakologie, Toxikologie und Klinik. *Wiener Medizinische Wochenschrift* [online]. 2002, **152**(15–16), 354–359. ISSN 1563-258X. Dostupné z: doi:10.1046/j.1563-258X.2002.02053.x
- [66] RANDJELOVIĆ, Pavle, Slavimir VELJKOVIĆ, Nenad STOJILJKOVIĆ, Dušan SOKOLOVIĆ, Ivan ILIĆ, Darko LAKETIĆ, Dušica RANDJELOVIĆ a Nebojša RANDJELOVIĆ. The Beneficial Biological Properties of Salicylic Acid. *Acta Facultatis Medicae Naissensis* [online]. 2015, **32**(4), 259–265. ISSN 2217-2521. Dostupné z: doi:10.1515/afmnai-2015-0026
- [67] WOJTUNIK-KULESZA, Karolina A., Kamila KASPRZAK, Tomasz ONISZCZUK a Anna ONISZCZUK. Natural Monoterpenes: Much More than Only a Scent. *Chemistry & Biodiversity* [online]. 2019, **16**(12), e1900434. ISSN 1612-1880. Dostupné z: doi:10.1002/cbdv.201900434
- [68] S BENDRE, Ratnamala a Jamatsing D RAJPUT. Outlooks on Medicinal Properties of Eugenol and its Synthetic Derivatives. *Natural Products Chemistry & Research* [online]. 2016, **04**(03) [vid. 2025-02-08]. ISSN 23296836. Dostupné z: doi:10.4172/2329-6836.1000212
- [69] *Filipendula ulmaria* ETHANOLIC-AQUEOUS EXTRACT AS A POTENTIAL NATURAL FOOD PRESERVATIVE: ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES – DOI UBKG [online]. [vid. 2025-02-08]. Dostupné z: <https://doi.ub.kg.ac.rs/doi/10-46793-pd1ta/>
- [70] CHEN, Wei, Zhenquan JIA, Min-Hsiung PAN a Pon Velayutham ANANDH BABU. Natural Products for the Prevention of Oxidative Stress-Related Diseases: Mechanisms and Strategies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2016, **2016**(1), 4628502. ISSN 1942-0994. Dostupné z: doi:10.1155/2016/4628502
- [71] DEGÁSPARI, Cláudia Helena a Nina WASZCZYNSKYJ. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DE COMPOSTOS FENÓLICOS. *Visão Acadêmica* [online]. 2004 [vid. 2025-02-08]. ISSN 1518-8361. Dostupné z: doi:10.5380/acd.v5i1.540
- [72] ĐELIĆ, Gorica, Milica PAVLOVIĆ, Marina M. STANKOVIĆ, Nevena ĐUKIĆ, Stefan M. MARKOVIĆ a Olgica D. STEFANOVIĆ. Phytochemical analysis and antibacterial activity of different extracts of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Acta Botanica Brasilica* [online]. 2024, **38**, e20230175. ISSN 0102-3306, 1677-941X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/1677-941X-ABB-2023-0175>
- [73] RAUHA, J. P., S. REMES, M. HEINONEN, A. HOPIA, M. KÄHKÖNEN, T. KUJALA, K. PIHLAJA, H. VUORELA a P. VUORELA. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2000, **56**(1), 3–12. ISSN 0168-1605. Dostupné z: doi:10.1016/s0168-1605(00)00218-x
- [74] WOODS-PANZARU, Simon, David NELSON, Graham MCCOLLUM, Linda M BALLARD, B Cherie MILLAR, Yasunori MAEDA, Colin E GOLDSMITH, Paul J ROONEY, Anne LOUGHREY, Juluri R RAO a John E MOORE. An examination of

- antibacterial and antifungal properties of constituents described in traditional Ulster cures and remedies. *The Ulster Medical Journal*. 2009, **78**(1), 13–15. ISSN 0041-6193.
- [75] SAVINA, Tamara, Valery LISUN, Pavel FEDURAEV a Liubov SKRYPNIK. Variation in Phenolic Compounds, Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts from Different Plant Organs of Meadowsweet (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.). *Molecules* [online]. 2023, **28**(8), 3512. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28083512
- [76] KRSTIC, Milos, Nemanja JOVICIC, Dragica SELAKOVIC, Bojana KRSTIC, Natalija ARSENIJEVIC, Milica VASILJEVIC, Pavle MILANOVIC, Jovana MILANOVIC, Dragan MILOVANOVIC, Marko SIMIC, Jelena S. KATANIC STANKOVIC a Gvozden ROSIC. Simultaneous Administration of Hyperbaric Oxygen Therapy and Antioxidant Supplementation with *Filipendula ulmaria* Extract in the Treatment of Thermal Skin Injuries Alters Nociceptive Signalling and Wound Healing. *Medicina* [online]. 2023, **59**(9), 1676. ISSN 1648-9144. Dostupné z: doi:10.3390/medicina59091676
- [77] YARNELL, Eric. CHAPTER 11 - Plant Chemistry in Veterinary Medicine: Medicinal Constituents and Their Mechanisms of Action. In: Susan G. WYNN a Barbara J. FOUGÈRE, ed. *Veterinary Herbal Medicine* [online]. Saint Louis: Mosby, 2007 [vid. 2025-02-10], s. 159–182. ISBN 978-0-323-02998-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-02998-8.50015-9
- [78] LOSSEVA, Irina. EVALUATION OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF FILIPENDULA VULGARIS MOENCH AND FILIPENDULA ULMARIA (L.) MAXIM EXTRACTS OBTAINED BY ULTRASONIC METHOD. *FARMACIA* [online]. 2025, **73**(1), 103–111. ISSN 00148237. Dostupné z: doi:10.31925/farmacia.2025.1.11
- [79] WAWOCZNY, Agata a Danuta GILLNER. The Most Potent Natural Pharmaceuticals, Cosmetics, and Food Ingredients Isolated from Plants with Deep Eutectic Solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2023, **71**(29), 10877–10900. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.3c01656
- [80] HEILMANN, Jörg. Wirkstoffe auf Basis biologisch aktiver Naturstoffe. *Chemie in unserer Zeit* [online]. 2007, **41**(5), 376–389. ISSN 1521-3781. Dostupné z: doi:10.1002/ciuz.200700427
- [81] CHUO, Sing Chuong, Hasmda Mohd NASIR, Siti Hamidah MOHD-SETAPAR, Sarajul Fikri MOHAMED, Akil AHMAD, Waseem A. WANI, Mohd. MUDDASSIR a Abdullah ALARIFI. A Glimpse into the Extraction Methods of Active Compounds from Plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2022, **52**(4), 667–696. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2020.1820851
- [82] RASUL, Mohammed Golam. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. 2018, **2**(6).
- [83] USMAN, Ifrah, Muzzamal HUSSAIN, Ali IMRAN, Muhammad AFZAAL, Farhan SAEED, Mehak JAVED, Atka AFZAL, Iqra ASHFAQ, Entessar AL JBAWI a Shamaail A. SAEWAN. Traditional and innovative approaches for the extraction of bioactive compounds. *International Journal of Food Properties* [online]. 2022, **25**(1), 1215–1233. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2022.2074030

- [84] BELOKUROV, S. S., I. A. NARKEVICH, E. V. FLISYUK, I. E. KAUKHOVA a M. V. AROYAN. Modern Extraction Methods for Medicinal Plant Raw Material (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal* [online]. 2019, **53**(6), 559–563. ISSN 1573-9031. Dostupné z: doi:10.1007/s11094-019-02037-5
- [85] BELWAL, Tarun, Farid CHEMAT, Petras Rimantas VENSKUTONIS, Giancarlo CRAVOTTO, Durgesh Kumar JAISWAL, Indra Dutt BHATT, Hari Prasad DEVKOTA a Zisheng LUO. Recent advances in scaling-up of non-conventional extraction techniques: Learning from successes and failures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2020, **127**, 115895. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2020.115895
- [86] Techniques Adopted for Extraction of Natural Products Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science* [online]. 2019, **6**(4) [vid. 2025-02-10]. ISSN 23490403. Dostupné z: doi:10.20431/2349-0403.0604001
- [87] ĐUROVIĆ, Saša, Rubén DOMÍNGUEZ, Mirian PATEIRO, Nemanja TESLIĆ, José M. LORENZO a Branimir PAVLIĆ. Chapter 9 - Industrial hemp nutraceutical processing and technology. In: Milica POJIC a Brijesh K. TIWARI, ed. *Industrial Hemp* [online]. B.m.: Academic Press, 2022 [vid. 2025-02-10], s. 191–218. ISBN 978-0-323-90910-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-90910-5.00008-7
- [88] SHARMA, Basista Rabina, Vikas KUMAR, Yogesh GAT, Naveen KUMAR, Aarya PARASHAR a Dave Jaydeep PINAKIN. Microbial maceration: a sustainable approach for phytochemical extraction. *3 Biotech* [online]. 2018, **8**(9), 401. ISSN 2190-5738. Dostupné z: doi:10.1007/s13205-018-1423-8
- [89] GORI, Anthonin, Benjamin BOUCHERLE, Aurélien REY, Maxime ROME, Nicola FUZZATI a Marine PEUCHMAUR. Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia* [online]. 2021, **148**, 104798. ISSN 0367-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.fitote.2020.104798
- [90] WILSON, Jason, Travis SIMPSON a Kevin SPELMAN. Total cannabidiol (CBD) concentrations and yields from traditional extraction methods: Percolation vs. maceration. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2022, **13** [vid. 2025-02-10]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2022.886993
- [91] BLICHARSKI, Tomasz a Anna ONISZCZUK. Extraction Methods for the Isolation of Isoflavonoids from Plant Material. *Open Chemistry* [online]. 2017, **15**(1), 34–45. ISSN 2391-5420. Dostupné z: doi:10.1515/chem-2017-0005
- [92] EL MAAIDEN, Ezzouhra, Sarah BOUZROUD, Boubker NASSER, Khadija MOUSTAID, Ayoub EL MOUTTAQI, Mohamed IBOURKI, Hassan BOUKCIM, Abdelaziz HIRICH, Lamfeddal KOUISNI a Youssef EL KHARRASSI. A Comparative Study between Conventional and Advanced Extraction Techniques: Pharmaceutical and Cosmetic Properties of Plant Extracts. *Molecules* [online]. 2022, **27**(7), 2074. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27072074
- [93] ADEEYO, A. O., J. A. OYETADE, M. A. ALABI, R. O. ADEEYO, A. SAMIE a R. MAKUNGO. Tuning water chemistry for the recovery of greener products: pragmatic and

- sustainable approaches. *RSC Advances* [online]. 2023, **13**(10), 6808–6826. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D2RA06596G
- [94] TĂBĂRAȘU, Ana-Maria, Iuliana GĂGEANU, Nicolae-Valentin VLĂDUȚ, Mihai-Gabriel MATACHE a Dragoș-Nicolae ANGHELACHE. EXPERIMENTAL RESEARCH ON THE EXTRACTION OF POLYPHENOLS FROM NETTLE, LAVENDER AND SAGE USING THE PERCOLATION METHOD. *INMATEH Agricultural Engineering* [online]. 2024, 678–687. ISSN 20682239, 20684215. Dostupné z: doi:10.35633/inmateh-73-58
- [95] SANDER, Lane C. Soxhlet Extractions. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* [online]. 2017, **122**, 4. ISSN 2165-7254. Dostupné z: doi:10.6028/jres.122.004
- [96] TOAPANTA GUANÍN, Silvia, Alejandro DELGADO ARAUJO, Jorge SANTAMARÍA CARRERA, Edison GARCÍA NARVÁEZ a Rita DELGADO ARAUJO. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SOXHLET DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) USANDO CRITERIOS DE DISEÑO DE EXPERIMENTOS BOX-BEHNKEN. *Perfiles* [online]. 2022, **1**(28), 102–110. ISSN 2477-9105. Dostupné z: doi:10.47187/perf.v1i28.190
- [97] WEBSTER, G.R. Barrie. Soxhlet and Ultrasonic Extraction of Organics in Solids. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd, 2006 [vid. 2025-02-10]. ISBN 978-0-470-02731-8. Dostupné z: doi:10.1002/9780470027318.a0864
- [98] SOUZA, Rafaella Ribeiro, Pabline Silva GASPAROTI a Joelma Abadia Marciano DE PAULA. OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS: UMA REVISÃO DE ESCOPO DOS MÉTODOS EXTRATIVOS MODERNOS EM COMPARAÇÃO AO MÉTODO CLÁSSICO POR SOXHLET. *Movimenta (ISSN 1984-4298)* [online]. 2022, **15**(1), e20220013. ISSN 1984-4298. Dostupné z: doi:10.31668/movimenta.v15i1.12870
- [99] LUQUE DE CASTRO, M. D. a F. PRIEGO-CAPOTE. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography. A* [online]. 2010, **1217**(16), 2383–2389. ISSN 1873-3778. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2009.11.027
- [100] *Using Soxhlet Ethanol Extraction to Produce and Test Plant Material (Essential Oils) for Their Antimicrobial Properties | Journal of Microbiology & Biology Education* [online]. [vid. 2025-04-19]. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jmbe.v15i1.656>
- [101] MACHADO, Carlos Alberto, Fabricia Oliveira OLIVEIRA, Matheus Antônio DE ANDRADE, Katharine Valéria Saraiva HODEL, Herman LEPIKSON a Bruna Aparecida Souza MACHADO. Steam Distillation for Essential Oil Extraction: An Evaluation of Technological Advances Based on an Analysis of Patent Documents. *Sustainability* [online]. 2022, **14**(12), 7119. ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su14127119
- [102] ZHOU, Weiwei, Jun LI, Xuefeng WANG, Ling LIU, Yun LI, Rui SONG, Mengxue ZHANG a Xiumei LI. Research Progress on Extraction, Separation, and Purification

- Methods of Plant Essential Oils. *Separations* [online]. 2023, **10**(12), 596. ISSN 2297-8739. Dostupné z: doi:10.3390/separations10120596
- [103] ÖZEL, Mustafa Zafer a Fahrettin GÖĞÜŞ. Subcritical Water as a Green Solvent for Plant Extraction. In: Farid CHEMAT a Maryline Abert VIAN, ed. *Alternative Solvents for Natural Products Extraction* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014 [vid. 2025-02-10], Green Chemistry and Sustainable Technology, s. 73–89. ISBN 978-3-662-43627-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-662-43628-8_4
- [104] MAK, William Chi Keung a Sean WALSH. The Characterization of Steam Distillation as an Extraction Method to Extract Volatile Compounds from *Prunella vulgaris* and the Investigation of Their Anti-Tumorous Effect. *Journal of Biosciences and Medicines* [online]. 2021, **9**(8), 120–142. Dostupné z: doi:10.4236/jbm.2021.98011
- [105] LINDEMAN, A., P. JOUNELA ERIKSSON, M. LOUNASMAA, A. LINDEMAN, P. JOUNELA ERIKSSON a M. LOUNASMAA. The aroma composition of the flower of meadowsweet *filipendula ulmaria*. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*. 1982, **15**(5), 286–289. ISSN 0023-6438.
- [106] ELAPOV, A. A., N. N. KUZNETSOV a A. I. MARAKHOVA. The Use of Ultrasound in the Extraction of Biologically Active Compounds from Plant Raw Materials, Used or promising for Use in Medicine (Review). *Drug development & registration* [online]. 2021, **10**(4), 96–116. ISSN 2658-5049, 2305-2066. Dostupné z: doi:10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116
- [107] OJHA, K. Shikha, Ramón AZNAR, Colm O'DONNELL a Brijesh K. TIWARI. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2020, **122**, 115663. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.115663
- [108] WEN, Chaoting, Jixian ZHANG, Haihui ZHANG, Courage Sedem DZAH, Manyakara ZANDILE, Yuqing DUAN, Haile MA a Xiaoping LUO. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops - A review. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2018, **48**, 538–549. ISSN 1873-2828. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2018.07.018
- [109] CHEMAT, Farid, Natacha ROMBAUT, Anne-Gaëlle SICAIRE, Alice MEULLEMIESTRE, Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER a Maryline ABERT-VIAN. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2017, **34**, 540–560. ISSN 13504177. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2016.06.035
- [110] SHEN, Lipeng, Shuixiu PANG, Mingming ZHONG, Yufan SUN, Abdul QAYUM, Yuxuan LIU, Arif RASHID, Baoguo XU, Qiufang LIANG, Haile MA a Xiaofeng REN. A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2023, **101**, 106646. ISSN 13504177. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2023.106646
- [111] CHMELOVÁ, Daniela, Dominika ŠKULCOVÁ, Barbora LEGERSKÁ, Miroslav HORNÍK a Miroslav ONDREJOVIČ. Ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and

- antioxidants from *Picea abies* bark. *Journal of Biotechnology* [online]. 2020, **314–315**, 25–33. ISSN 1873-4863. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiotec.2020.04.003
- [112] CASTRO-PUYANA, M., M. HERRERO, J.A. MENDIOLA a E. IBÁÑEZ. Subcritical water extraction of bioactive components from algae. In: *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals* [online]. B.m.: Elsevier, 2013 [vid. 2025-02-10], s. 534–560. ISBN 978-0-85709-512-1. Dostupné z: doi:10.1533/9780857098689.3.534
- [113] CHENG, Yan, Fumin XUE, Shuai YU, Shichao DU a Yu YANG. Subcritical Water Extraction of Natural Products. *Molecules* [online]. 2021, **26**(13), 4004. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26134004
- [114] LIANG, Xiaoxia a Qiaojia FAN. Application of Sub-Critical Water Extraction in Pharmaceutical Industry. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering* [online]. 2013, **01**(05), 1–6. ISSN 2327-6045, 2327-6053. Dostupné z: doi:10.4236/msce.2013.15001
- [115] IBÁÑEZ, Elena, Alena KUBÁTOVÁ, F. Javier SEÑORÁNS, Sofia CAVERO, Guillermo REGLERO a Steven B. HAWTHORNE. Subcritical Water Extraction of Antioxidant Compounds from Rosemary Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2003, **51**(2), 375–382. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf025878j
- [116] KHAW, Kooi-Yeong, Marie-Odile PARAT, Paul Nicholas SHAW a James Robert FALCONER. Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review. *Molecules* [online]. 2017, **22**(7), 1186. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22071186
- [117] HERZYK, Filip, Dorota PIŁAKOWSKA-PIETRAS a Małgorzata KORZENIOWSKA. Supercritical Extraction Techniques for Obtaining Biologically Active Substances from a Variety of Plant Byproducts. *Foods* [online]. 2024, **13**(11), 1713. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods13111713
- [118] MENSHTUTINA, Natalya V., Artem I. ARTEMIEV, Illarion I. KHUDEEV, Ilya V. KAZEEV a Olga A. BOCHAROVA. APPLICATION OF SUPERCRITICAL EXTRACTION FOR ISOLATION OF CHEMICAL COMPOUNDS. *IZVESTIYA VYSSHIKH UCHEBNYKH ZAVEDENII KHIMIYA KHIMICHESKAYA TEKHOLOGIYA* [online]. 2021, **64**(6), 4–19. ISSN 2500-3070, 0579-2991. Dostupné z: doi:10.6060/ivkkt.20216406.6405
- [119] LI, Lei, Minyi CHEN, Yun ZENG a Gang LIU. Application and Perspectives of Supercritical Fluid Technology in the Nutraceutical Industry. *Advanced Sustainable Systems* [online]. 2022, **6**(7), 2200055. ISSN 2366-7486, 2366-7486. Dostupné z: doi:10.1002/adsu.202200055
- [120] ABBAS, Ali, Farooq ANWAR, Safar M. ALQAHTANI, Naveed AHMAD, Samiah H. AL-MIJALLI, Muhammad SHAHID a Munawar IQBAL. Hydro-Distilled and Supercritical Fluid Extraction of *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oil: Characterization of Bioactives Along With Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activities. *Dose-Response* [online]. 2022, **20**(3), 15593258221125477. ISSN 1559-3258. Dostupné z: doi:10.1177/15593258221125477

- [121] ZUORRO A., MAFFEI G., a LAVECCHIA R. Effect of solvent type and extraction conditions on the recovery of phenolic compounds from artichoke waste. *Chemical Engineering Transactions* [online]. 2014, **39**, 463–468. Dostupné z: doi:10.3303/CET1439078
- [122] KAVAK, Dilek Demirbucker. Optimization of extraction time, temperature and solvent concentration for the antioxidant activity and total phenolic content of the *Cydonia oblonga* Mill. leaves. 2017, **11**(6), AMERICAN-EURASIAN JOURNAL OF SUSTAINABLE AGRICULTURE, 1–6. ISSN 1995-0748.
- [123] S., Norshazila, Koy C.N., Rashidi O., Ho L.H., Azrina I., Nurul Zaizuliana R.A. a Zarinah Z. The Effect of Time, Temperature and Solid to Solvent Ratio on Pumpkin Carotenoids Extracted Using Food Grade Solvents. *Sains Malaysiana* [online]. 2017, **46**(02), 231–237. ISSN 01266039. Dostupné z: doi:10.17576/jsm-2017-4602-07
- [124] CHEMAT, Farid, Maryline Abert VIAN a Giancarlo CRAVOTTO. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2012, **13**(7), 8615–8627. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms13078615
- [125] GAFNER, Stefan a Chantal BERGERON. The Challenges of Chemical Stability Testing of Herbal Extracts in Finished Products Using State-of-the-Art Analytical Methodologies. *Current Pharmaceutical Analysis* [online]. nedatováno, **1**(2), 203–215. Dostupné z: doi:10.2174/1573412054022734
- [126] NISHAD, Jyoti. Chapter 5 - Stability of plant extracts. In: Shabir Ahmad MIR, Annamalai MANICKAVASAGAN a Manzoor Ahmad SHAH, ed. *Plant Extracts: Applications in the Food Industry* [online]. B.m.: Academic Press, 2022 [vid. 2025-03-03], s. 89–126. ISBN 978-0-12-822475-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-822475-5.00007-7
- [127] YILDIRIM, Aslı, Mustafa DURAN a Mehmet KOÇ. SU AKTİVİTESİNİN VE FARKLI KURUTMA SİSTEMLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN STABİLİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ. *Gıda* [online]. 2018, **43**(3), 512–522. ISSN 1300-3070, 1309-6273. Dostupné z: doi:10.15237/gida.GD18023
- [128] BENDINI, Alessandra, Lorenzo CERRETANI, Samuele VECCHI, Alegria CARRASCO-PANCORBO a Giovanni LERCKER. Protective Effects of Extra Virgin Olive Oil Phenolics on Oxidative Stability in the Presence or Absence of Copper Ions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, **54**(13), 4880–4887. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf060481r
- [129] VOLF, Irina, Ioana IGNAT, Mariana NEAMTU a Valentin POPA. Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. *Chemical Papers* [online]. 2014, **68**(1), 121–129. ISSN 1336-9075. Dostupné z: doi:10.2478/s11696-013-0417-6
- [130] PASQUET, P. L., D. JULIEN-DAVID, M. ZHAO, M. VILLAIN-GAMBIER a D. TRÉBOUET. Stability and preservation of phenolic compounds and related antioxidant capacity from agro-food matrix: Effect of pH and atmosphere. *Food Bioscience* [online]. 2024, **57**, 103586. ISSN 2212-4292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2024.103586

- [131] RYTEL, Elżbieta, Agnieszka TAJNER-CZOPEK, Agnieszka KITA, Anna SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA, Alicja Z. KUCHARSKA a Wiesław WOJCIECHOWSKI. Effect of temperature and PH value on the stability of bioactive compounds and antioxidative activity of juice from colour-fleshed potatoes. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2020, **55**(6), 2335–2343. ISSN 1365-2621. Dostępne z: doi:10.1111/ijfs.14374
- [132] MUDRIĆ, Jelena, Svetlana IBRIĆ a Jelena ĐURIŠ. Microencapsulation methods for plants biologically active compounds: A review. *Lekovite sirovine* [online]. 2018, (38), 62–67. ISSN 0455-6224, 2560-3965. Dostępne z: doi:10.5937/leksiir1838062M
- [133] MALINOWSKA, Paulina, Anna GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO a Henryk SZYMUSIAK. Protective effect of commercial acerola, willow, and rose extracts against oxidation of cosmetic emulsions containing wheat germ oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2014, **116**(11), 1553–1562. ISSN 1438-9312. Dostępne z: doi:10.1002/ejlt.201300514
- [134] NOORE, Shaba, Navin Kumar RASTOGI, Colm O'DONNELL a Brijesh TIWARI. Novel Bioactive Extraction and Nano-Encapsulation. *Encyclopedia* [online]. 2021, **1**(3), 632–664. ISSN 2673-8392. Dostępne z: doi:10.3390/encyclopedia1030052
- [135] TAMANG, Nirmala, Pooja SHRESTHA, Binita KHADKA, Monohar Hossain MONDAL, Bidyut SAHA a Ajaya BHATTARAI. A Review of Biopolymers' Utility as Emulsion Stabilizers. *Polymers* [online]. 2022, **14**(1), 127. ISSN 2073-4360. Dostępne z: doi:10.3390/polym14010127
- [136] LI, Wenfeng, Jing ZHANG, Si TAN, Qiaoran ZHENG, Xin ZHAO, Xiaoxv GAO a Yalong LU. Citric acid-enhanced dissolution of polyphenols during soaking of different teas. *Journal of Food Biochemistry* [online]. 2019, **43**(12), e13046. ISSN 1745-4514. Dostępne z: doi:10.1111/jfbc.13046
- [137] DE MONTIJO-PRIETO, Soumi, María del Carmen RAZOLA-DÍAZ, Federica BARBIERI, Giulia TABANELLI, Fausto GARDINI, Maria JIMÉNEZ-VALERA, Alfonso RUIZ-BRAVO, Vito VERARDO a Ana M^a GÓMEZ-CARAVACA. Impact of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Avocado Leaf Extracts. *Antioxidants* [online]. 2023, **12**(2), 298. ISSN 2076-3921. Dostępne z: doi:10.3390/antiox12020298
- [138] PATRAS, Antoanela. Stability and colour evaluation of red cabbage waste hydroethanolic extract in presence of different food additives or ingredients. *Food Chemistry* [online]. 2019, **275**, 539–548. ISSN 0308-8146. Dostępne z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.09.100
- [139] ARMENDÁRIZ-BARRAGÁN, Brenda, Nadiah ZAFAR, Waisudin BADRI, Sergio Arturo GALINDO-RODRÍGUEZ, Dounia KABBAJ, Hatem FESSI a Abdelhamid ELAISSARI. Plant extracts: from encapsulation to application. *Expert Opinion on Drug Delivery* [online]. 2016, **13**(8), 1165–1175. ISSN 1742-5247. Dostępne z: doi:10.1080/17425247.2016.1182487
- [140] JÍMÉNEZ-ARIAS, David, Sarai MORALES-SIERRA, Patrícia SILVA, Henrique CARRÊLO, Adriana GONÇALVES, José Filipe Teixeira GANANÇA, Nuno NUNES,

- Carla S. S. GOUVEIA, Sónia ALVES, João Paulo BORGES a Miguel Â A. PINHEIRO DE CARVALHO. Encapsulation with Natural Polymers to Improve the Properties of Biostimulants in Agriculture. *Plants* [online]. 2023, **12**(1), 55. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants12010055
- [141] REZVANKHAH, Amir, Zahra EMAM-DJOMEH a Gholamreza ASKARI. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology* [online]. 2020, **38**(1–2), 235–258. ISSN 0737-3937. Dostupné z: doi:10.1080/07373937.2019.1653906
- [142] PANAHI, Yunes, Masoud FARSHBAF, Majid MOHAMMADHOSSEINI, Mozhdeh MIRAHADI, Rovshan KHALILOV, Siamak SAGHFI a Abolfazl AKBARZADEH. Recent advances on liposomal nanoparticles: synthesis, characterization and biomedical applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* [online]. 2017, **45**(4), 788–799. ISSN 2169-1401. Dostupné z: doi:10.1080/21691401.2017.1282496
- [143] REDDY, Chagam Koteswara, Ravindra Kumar AGARWAL, Manzoor Ahmad SHAH a M. SURIYA. Chapter 4 - Encapsulation techniques for plant extracts. In: Shabir Ahmad MIR, Annamalai MANICKAVASAGAN a Manzoor Ahmad SHAH, ed. *Plant Extracts: Applications in the Food Industry* [online]. B.m.: Academic Press, 2022 [vid. 2025-03-11], s. 75–88. ISBN 978-0-12-822475-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-822475-5.00008-9
- [144] MOHAN, Meera, Jayashree E, Alfiya PV a Anees K. Encapsulation technologies for the delivery of spice extractives: An overview. *International Journal of Advanced Biochemistry Research* [online]. 2024, **8**(3), 39–51. ISSN 2617-4707. Dostupné z: doi:10.33545/26174693.2024.v8.i3a.673
- [145] РУДАКОВ, Ярослав Олегович, Владимир Федорович СЕЛЕМЕНЕВ, Людмила Васильевна РУДАКОВА a Олег Борисович РУДАКОВ. Chromatographic approaches to food quality control by chemical composition. *Сорбционные и хроматографические процессы* [online]. 2024, **24**(2), 197–208. ISSN 1680-0613. Dostupné z: doi:10.17308/sorpchrom.2024.24/12125
- [146] STAROWICZ, Małgorzata. Analysis of Volatiles in Food Products. *Separations* [online]. 2021, **8**(9), 157. ISSN 2297-8739. Dostupné z: doi:10.3390/separations8090157
- [147] PAWLISZYN, Janusz. Solid Phase Microextraction. In: Russell L. ROUSEFF a Keith R. CADWALLADER, ed. *Headspace Analysis of Foods and Flavors: Theory and Practice* [online]. Boston, MA: Springer US, 2001 [vid. 2025-03-14], s. 73–87. ISBN 978-1-4615-1247-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-1247-9_6
- [148] WARREN, Valerie. *Gas Chromatography*. Hauppauge: Nova Science Publishers, Incorporated, 2017. Biochemistry Research Trends. ISBN 978-1-5361-1990-9.
- [149] MÜLLER, L., T. GÓRECKI a J. PAWLISZYN. Solid-Phase Microextraction in Analysis of Pollutants in the Field. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry* [online]. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd, 2006 [vid. 2025-03-14]. ISBN 978-0-470-02731-8. Dostupné z: doi:10.1002/9780470027318.a0922

- [150] ZHANG, Zhouyao. a Janusz. PAWLISZYN. Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry* [online]. 1993, **65**(14), 1843–1852. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac00062a008
- [151] VAS, György a Károly VÉKEY. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* [online]. 2004, **39**(3), 233–254. ISSN 1096-9888. Dostupné z: doi:10.1002/jms.606
- [152] DA SILVA, Aline Priscilla Gomes, Poliana Cristina SPRICIGO, Eduardo PURGATTO, Severino Matias DE ALENCAR a Angelo Pedro JACOMINO. Volatile Compounds Determined by SPME-GC, Bioactive Compounds, In Vitro Antioxidant Capacity and Physicochemical Characteristics of Four Native Fruits from South America. *Plant Foods for Human Nutrition* [online]. 2019, **74**(3), 358–363. ISSN 1573-9104. Dostupné z: doi:10.1007/s11130-019-00745-7
- [153] NONGONIERMA, Alice, Andrée VOILLEY, Philippe CAYOT, Jean-Luc LE QUÉRÉ a Mark SPRINGETT. Mechanisms of Extraction of Aroma Compounds from Foods, Using Adsorbents. Effect of Various Parameters. *Food Reviews International* [online]. 2006, **22**(1), 51–94. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559120500379951
- [154] LANCIONI, Carlina, Cecilia CASTELLS, Roberto CANDAL a Marcos TASCÓN. Headspace solid-phase microextraction: Fundamentals and recent advances. *Advances in Sample Preparation* [online]. 2022, **3**, 100035. ISSN 2772-5820. Dostupné z: doi:10.1016/j.sampre.2022.100035
- [155] PRAVALLIKA, S. Gas Chromatography: A Mini Review. *Research & Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. 2016, **5**(2) [vid. 2025-03-14]. ISSN e-2320-0812. Dostupné z: <https://www.rroij.com/peer-reviewed/gas-chromatography-a-mini-review-79472.html>
- [156] AL-RUBAYE, Abeer Fauzi, Imad Hadi HAMEED a Mohanad Jawad KADHIM. A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *INTERNATIONAL JOURNAL OF TOXICOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL RESEARCH* [online]. 2017, **9**(01) [vid. 2025-03-14]. ISSN 0975-5160. Dostupné z: doi:10.25258/ijtp.v9i01.9042
- [157] ARRUDA, Tarsila Rodrigues, Bruno Ricardo de Castro LEITE JUNIOR, Clara Suprani MARQUES, Patrícia Campos BERNARDES, Cássia Gonçalves MAGALHÃES a Patrícia Fontes PINHEIRO. Chapter 2 - Emerging techniques for extraction and characterization of natural compounds. In: Bhanu PRAKASH a Jackline Freitas BRILHANTE DE SÃO JOSÉ, ed. *Green Products in Food Safety* [online]. B.m.: Academic Press, 2023 [vid. 2025-03-14], s. 29–79. ISBN 978-0-323-95590-4. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-95590-4.00009-6
- [158] KAAL, Erwin a Hans-Gerd JANSSEN. Extending the molecular application range of gas chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 2008, **1184**(1), 50 Years Journal of Chromatography, 43–60. ISSN 0021-9673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2007.11.114
- [159] HAKKARAINEN, Minna a Sigbritt KARLSSON. Gas Chromatography in Analysis of Polymers and Rubbers. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry* [online]. B.m.: John

- Wiley & Sons, Ltd, 2021 [vid. 2025-03-14], s. 1–16. ISBN 978-0-470-02731-8. Dostupné z: doi:10.1002/9780470027318.a2010.pub2
- [160] MERRITT JR., C. The Combination of Gas Chromatography With Mass Spectrometry. *Applied Spectroscopy Reviews* [online]. 1970, **3**(1), 263–325. ISSN 0570-4928. Dostupné z: doi:10.1080/05704927008081692
- [161] BUBLI, Saniya Yesmin, Farah HAQUE a Mohidus Samad KHAN. Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS) Technique for Food Analysis. In: Mohidus Samad KHAN a Mohammad SHAFIUR RAHMAN, ed. *Techniques to Measure Food Safety and Quality* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2021 [vid. 2025-03-14], s. 195–217. ISBN 978-3-030-68635-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-68636-9_9
- [162] BOUCHOUX, Guy a Michel SABLIER. Spectrométrie de masse - Principe et appareillage. *Techniques d'analyse* [online]. 2005 [vid. 2025-03-14]. Dostupné z: doi:10.51257/a-v1-p2645
- [163] KIRÁLY, Márton, Borbála DALMADINÉ KISS, Károly VÉKEY, István ANTAL a Krisztina LUDÁNYI. Mass spectrometry: past and present. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 2016, **86**(1), 3–11. ISSN 0001-6659.
- [164] LECLERCQ, P. A., H. M. J. SNIJDERS, C. A. CRAMERS, K. H. MAURER a U. RAPP. Rapid and ultra-sensitive GC/MS analyses with a microchannel plate array detector Part I: Possibilities of simultaneous ion detection in narrow-bore GC/MS. *Journal of High Resolution Chromatography* [online]. 1989, **12**(10), 652–656. ISSN 1521-4168. Dostupné z: doi:10.1002/jhrc.1240121004
- [165] SPITELLER, G. GC/MS A Practical User's Guide. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* [online]. 1999, **213**(2), 217–217. ISSN 2196-7156, 0942-9352. Dostupné z: doi:10.1524/zpch.1999.213.Part_2.217
- [166] PAPP, Ildikó, Béla SIMÁNDI, Balázs BLAZICS, Ágnes ALBERTI, Éva HÉTHELYI, Éva SZŐKE a Ágnes KÉRY. Monitoring Volatile and Non-Volatile Salicylates in *Filipendula ulmaria* by Different Chromatographic Techniques. *Chromatographia* [online]. 2008, **68**(1), 125–129. ISSN 1612-1112. Dostupné z: doi:10.1365/s10337-008-0749-5
- [167] PINELA, José, Maria Inês DIAS, Carla PEREIRA a José Ignacio ALONSO-ESTEBAN. Antioxidant Activity of Foods and Natural Products. *Molecules* [online]. 2024, **29**(8), 1814. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules29081814
- [168] Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology* [online]. 2014, **11**(1), 31–42. ISSN 1687-3920. Dostupné z: doi:10.12816/0025348
- [169] FRĄCKOWIAK-WOJTASEK, Bożena, Beata GĄSOWSKA-BAJGER, Damian TARASEK, Martyna MYTNIK a Hubert WOJTASEK. Oxidation of anti-thyroid drugs and their selenium analogs by ABTS radical cation. *Bioorganic Chemistry* [online]. 2023, **141**, 106891. ISSN 0045-2068. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioorg.2023.106891

- [170] MUNTEANU, Irina Georgiana a Constantin APETREI. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(7), 3380. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22073380
- [171] CRUZ, Richtier Gonçalves Da, Thais Maria Ferreira De Souza VIEIRA a Simone Possedente De LIRA. Potential antioxidant of brazilian coffee from the region of Cerrado. *Food Science and Technology* [online]. 2017, **38**(3), 447–453. ISSN 1678-457X, 0101-2061. Dostupné z: doi:10.1590/1678-457x.08017
- [172] *HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* [online]. [vid. 2024-12-10]. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/62/6/62_6_1201/_article
- [173] OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* [online]. 2015, **17**, 36–44. ISSN 1516-0572, 1983-084X. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_165
- [174] KUPINA, Steve, Chris FIELDS, Mark C. ROMAN a Sharon L. BRUNELLE. Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation, First Action 2017.13. *Journal of AOAC International* [online]. 2018, **101**(5), 1466–1472. ISSN 1944-7922. Dostupné z: doi:10.5740/jaoacint.18-0031
- [175] RAPOSO, Francisco, Rafael BORJA a Julio A. GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ. A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation. *Talanta* [online]. 2024, **272**, 125771. ISSN 1873-3573. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2024.125771
- [176] HOSSAIN, Tanim Jabid. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology* [online]. 2024, **14**(2), 97–115. ISSN 2062-509X, 2062-8633. Dostupné z: doi:10.1556/1886.2024.00035
- [177] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI a Saad Koraichi IBNSOUDA. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. 2016, **6**(2), 71–79. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- [178] MERCER, Derry K., Marcelo D. T. TORRES, Searle S. DUAY, Emma LOVIE, Laura SIMPSON, Maren VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE, Cesar DE LA FUENTE-NUNEZ, Deborah A. O'NEIL a Alfredo M. ANGELES-BOZA. Antimicrobial Susceptibility Testing of Antimicrobial Peptides to Better Predict Efficacy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2020, **10**, 326. ISSN 2235-2988. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2020.00326
- [179] WIEGAND, Irith, Kai HILPERT a Robert E. W. HANCOCK. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols* [online]. 2008, **3**(2), 163–175. ISSN 1750-2799. Dostupné z: doi:10.1038/nprot.2007.521
- [180] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI a Saad Koraichi IBNSOUDA. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*

- [online]. 2016, 6(2), 71–79. ISSN 2095-1779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- [181] KLANČNIK, Anja, Saša PISKERNIK, Barbara JERŠEK a Sonja Smole MOŽINA. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2010, 81(2), 121–126. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2010.02.004
- [182] ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2001, 48(suppl_1), 5–16. ISSN 1460-2091, 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5
- [183] CHIKEZIE, Ihebuzoaju Owuama. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African Journal of Microbiology Research* [online]. 2017, 11(23), 977–980. ISSN 1996-0808. Dostupné z: doi:10.5897/AJMR2017.8545
- [184] KAMENÍKOVÁ, Magda. *Výroba agarových cukrovinek s přidavkem rostlinného extraktu* [online]. Brno, 2024. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav chemie potravin a biotechnologií. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/247794>
- [185] ZIELINSKI, Acácio A.F., Charles W.I. HAMINIUK, Cleiton A. NUNES, Egon SCHNITZLER, Saskia M. VAN RUTH a Daniel GRANATO. Chemical Composition, Sensory Properties, Provenance, and Bioactivity of Fruit Juices as Assessed by Chemometrics: A Critical Review and Guideline. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2014, 13(3), 300–316. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12060
- [186] FARZANEH, Avishan, Abbas HADJIAKHOONDI, Mahnaz KHANAVI, Azadeh MANAYI, Roodabeh BAHRAM SOLTANI a Mahdiah KALKHORANI*. *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. (Meadowsweet): a Review of Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Research Journal of Pharmacognosy* [online]. 2022, 9(3) [vid. 2025-04-18]. Dostupné z: doi:10.22127/rjp.2021.302028.1781
- [187] HYLDGAARD, Morten, Tina MYGIND a Rikke Louise MEYER. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2012, 3, 12. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2012.00012

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAL	Aromaticky aktivní látky
ABTS	2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
BHT	Butylhydroxytoluen
CZE	Kapilární elektroforéza
DI-SPME	Mikroextrakce pevnou fází (Direct Immersion)
DPPH	1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
DPPH-H	Difenyl-pikrylhydrazin
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
FID	Plamenově ionizační detektor
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Potential
GAE	Ekvivalent kyseliny galové (Gallic Acid Equivalent)
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
HM	Vysokoesterifikované (High Methoxyl)
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-performance liquid chromatography)
HS-SPME	Mikroextrakce pevnou fází (headspace)
HS-SPME-GC-MS	Mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí
LC	Kapalinová chromatografie
LM	Nízkoesterifikované (Low Methoxyl)
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MS	Hmotnostní spektrometr (Mass spectrometer)/hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry)
NLC	Nanostrukturované lipidové nosiče
PA	Polyakrylát
PDMS	Polydimethylsiloxan
RSD	Relativní směrodatná odchylka
SLN	Tuhé lipidové nanočástice
SPME	Mikroextrakce pevnou fází (Solid Phase Micro Extraction)
TAA	Celková antioxidační aktivita (Total Antioxidant Activity)
TEAC	Ekvivalent antioxidační aktivity troloxu (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TLC	Tenkovrstvá chromatografie
UV	Ultrafialové (ultra violet)
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektrometrie

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1	Protokol pro senzorickou analýzu
Příloha 2	Ukázka chromatogramu těkavých látek identifikovaných v čerstvých cukrovinkách
Příloha 3	Ukázka chromatogramu těkavých látek identifikovaných v cukrovinkách po 2 měsících skladování v lednici
Příloha 4	Ukázka chromatogramu těkavých látek identifikovaných v cukrovinkách po 2 měsících skladování v laboratorních podmínkách

9 PŘÍLOHY

PŘÍLOHA 1: Protokol pro senzorickou analýzu

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želé cukrovinek.

Datum: _____

Čas: _____

Zdravotní stav:

kuřák/nekuřák

žena/muž

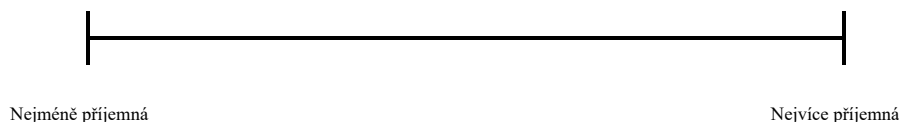
Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- želé cukrovinky mám velmi rád/a
- želé cukrovinky nemám příliš rád/a
- želé cukrovinky nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

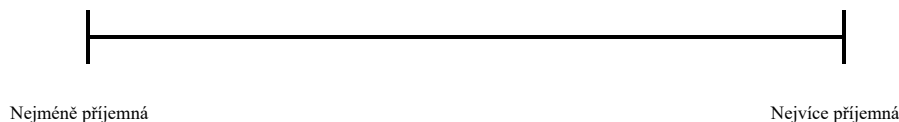
Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích podle uvedených instrukcí, použijte uvedené stupnice, svá hodnocení запиšte do uvedené tabulky.

- 1. Příjemnost barvy** – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost barvy vzorku (odstín, barevné skvrny, jiné výrazné vady, ...)

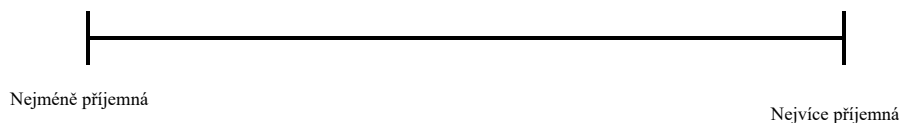
Kód vzorku:



Kód vzorku:

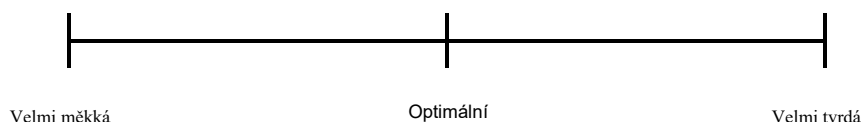


Kód vzorku:

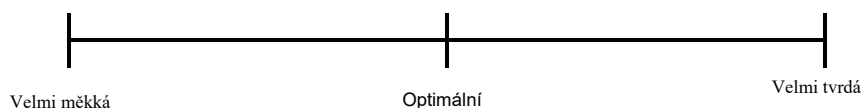


- 2. Tuhost** (hodnoťte zmáčknutím mezi prsty, potom v ústech při ukousnutí a žvýkání) – pomocí uvedené grafické stupnice určete tuhost vzorku

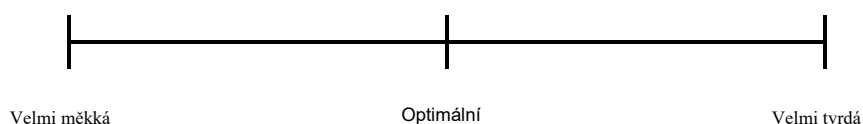
Kód vzorku:



Kód vzorku:

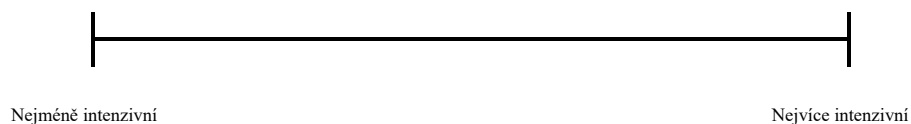


Kód vzorku:

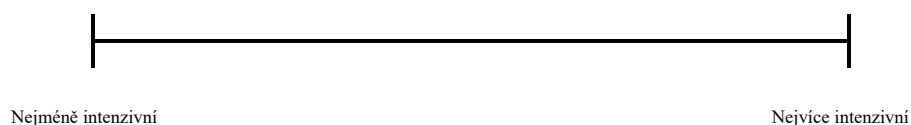


3. Intenzita vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu vůně vzorku

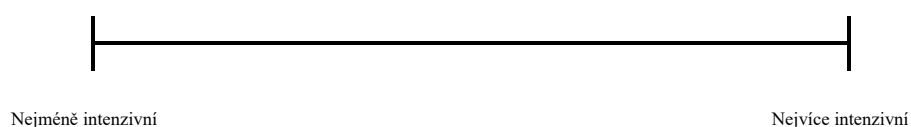
Kód vzorku:



Kód vzorku:

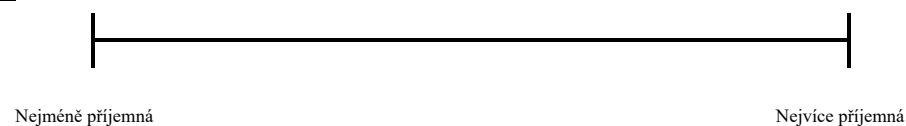


Kód vzorku:

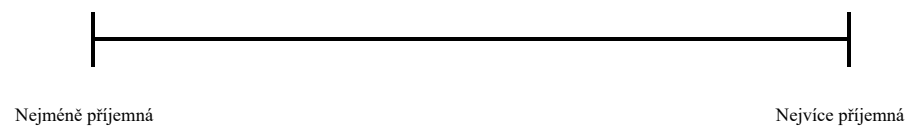


4. Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost chuti vzorku

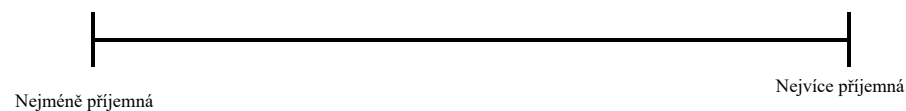
Kód vzorku:



Kód vzorku:



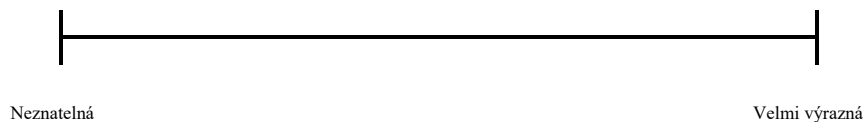
Kód vzorku:



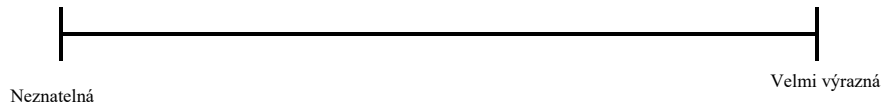
5. Profilový test vybraných chutí – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu uvedených dílčích chutí

Kód vzorku:

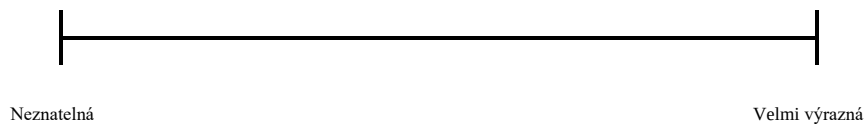
Kyselá



Sladká

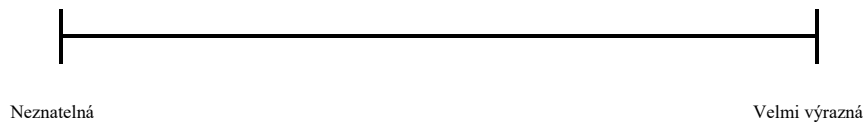


Hořká

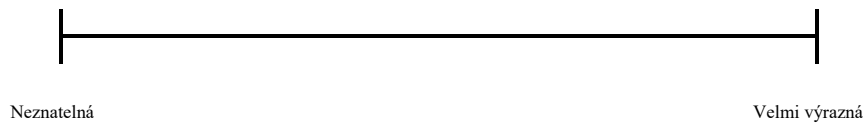


Kód vzorku:

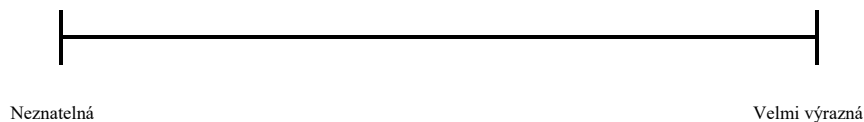
Kyselá



Sladká

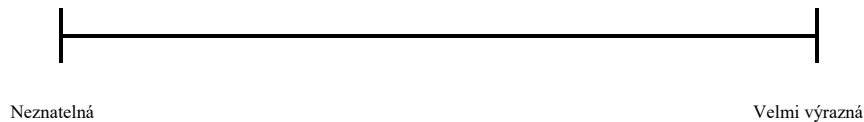


Hořká

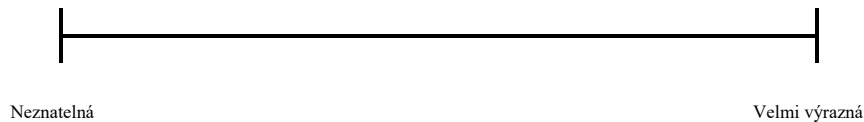


Kód vzorku:

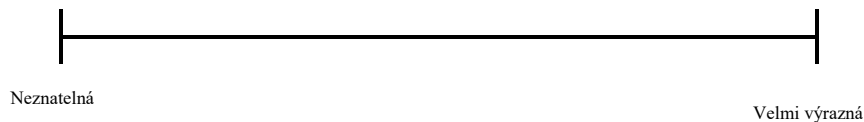
Kyselá



Sladká



Hořká



6. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Na číselné stupnici určete celkovou přijatelnost vzorku, berte v úvahu všechny výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejméně přijatelný, 10 – nejvíce přijatelný)

Kód vzorku:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

1

10

Kód vzorku:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

1

10

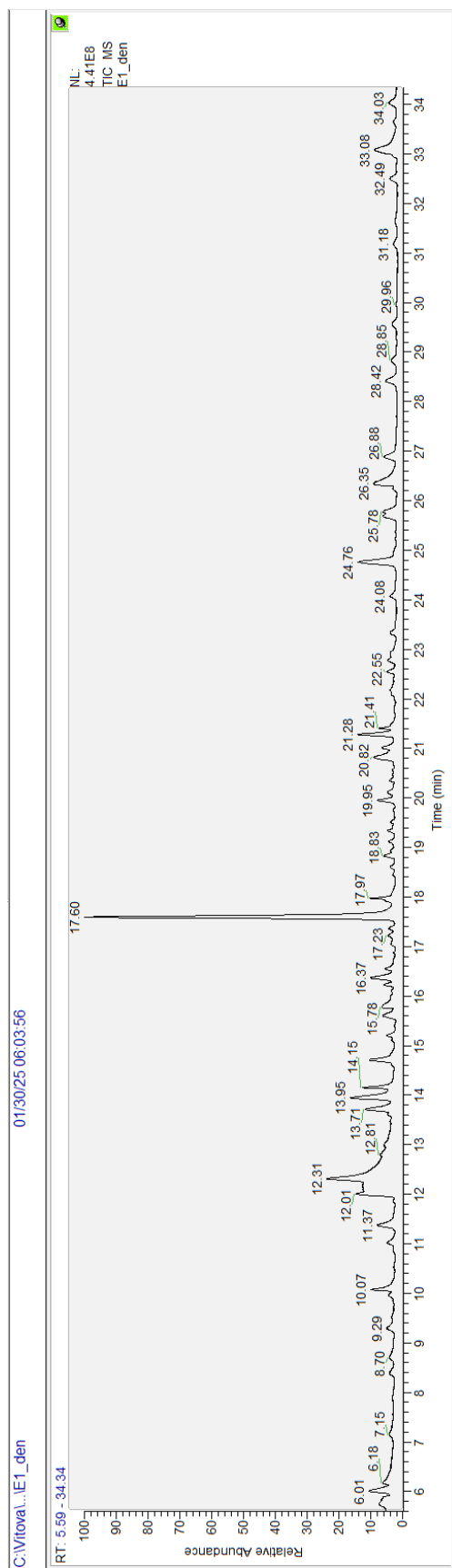
Kód vzorku:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

1

10

PŘÍLOHA 2: Ukázka chromatogramu těkavých látek identifikovaných v čerstvých cukrovinkách; identifikace sloučenin viz Tabulka 6, 7



PŘÍLOHY 3, 4: Ukázky chromatogramů těkavých látek identifikovaných v cukrovinkách po 2 měsících skladování (vlevo – lednice, vpravo – laboratorní podmínky); identifikace sloučenin viz Tabulka 6, 7

