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

CHARAKTERIZACE PRODUKTŮ Z PLODŮ TRNKY OBECNÉ (PRUNUS SPINOSA)
CHARACTERIZATION OF BLACKTHORN PRODUCTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Zuzana Červinková
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2021

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání bakalářské práce

Číslo práce:	FCH-BAK1683/2020	Akademický rok:	2020/21
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií		
Studentka:	**Zuzana Červinková**		
Studijní program:	Chemie a technologie potravin		
Studijní obor:	Potravinářská chemie		
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.**		

Název bakalářské práce:

Charakterizace produktů z plodů trnky obecné (Prunus spinosa)

Zadání bakalářské práce:

1. Literární rešerše na zadané téma (složení plodů trnky obecné, její účinky a využití v potravinářství a farmacii).
2. Příprava etanolových extraktů a produktů z plodů trnky obecné.
3. Charakterizace extraktů a produktů (obsah sacharidů, fenolických látek, vitaminu C, antioxidační vlastnosti).
4. Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

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

Zuzana Červinková student(ka)	doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D. vedoucí práce	prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou a následnou charakterizací ethanolových extraktů a produktů z plodů trnky obecné (*Prunus spinosa L.*). Teoretická část práce obsahuje charakterizaci trnky obecné a popis chemického složení plodů. Dále jsou v teoretické části diskutovány účinky a možné využití plodů *Prunus spinosa L.* v potravinářství, lidovém léčitelství a ve farmacii. V experimentální části je popsána příprava extraktů (40% ethanol) a produktů (tj. domácí trnkové víno a domácí trnkový likér). Ve vzorcích vína, likérů, šťávy a ethanolových extraktů byl kvantifikován obsah celkových redukujících sacharidů, polyfenolů a flavonoidů. Dále byla stanovena antioxidační aktivita jednotlivých vzorků. Pro stanovení redukujících sacharidů byly použity a srovnány dvě spektrofotometrické metody, a to metoda podle Somogyi-Nelsona (SN) a metoda s 3,5-dinitrosalicylovou kyselinou (DNS). DNS metoda poskytovala mírně nadhodnocené výsledky, zatímco výsledky z SN metody byly skutečnému obsahu redukujících cukrů bližší. Jak polyfenoly, tak flavonoidy jsou látky, které vykazují antioxidační vlastnosti. U analyzovaných vzorků byla pozorována silná korelace antioxidační aktivity s koncentrací flavonoidních látek.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the preparation and the chemical characterization of ethanolic extracts and products from the blackthorn (*Prunus spinosa L.*) fruit. The theoretical part of the work contains the characterization of the blackthorn and describes the chemical composition of the fruit. Furthermore, the theoretical part states possible effects and possible uses of the *Prunus spinosa L.* fruit in the food industry, folk medicine and pharmacy. The experimental part describes the preparation of the extracts (40% ethanol) and the products (i.e., homemade sloe wine and homemade blackthorn liqueur). The content of reducing sugars, polyphenols and flavonoids was quantified in samples of wine, liqueur, juice and ethanol extracts. Furthermore, the antioxidant activity of individual samples was determined. Two spectrophotometric methods for the determination of reducing sugars were used and compared, namely the Somogyi-Nelson (SN) assay and the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay. The DNS assay provided slightly overestimated results, while the results from the SN assay were closer to the actual content of reducing sugars. Polyphenols and flavonoids are substances that have antioxidant properties. A strong correlation was observed between antioxidant activity and the concentration of flavonoids.

KLÍČOVÁ SLOVA

Trnka obecná (*Prunus spinosa L.*), trnkové víno, trnkový likér, trnková šťáva, ethanolové extrakty, polyfenoly, flavonoidy, antioxidační aktivita, redukující sacharidy, Somogyi-Nelson, DNS

KEY WORDS

Blackthorn (*Prunus spinosa L.*), sloe wine, blackthorn liqueur, blackthorn juice, ethanol extracts, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, reducing saccharides, Somogyi-Nelson, DNS

ČERVINKOVÁ, Zuzana. *Charakterizace produktů z plodů trnky obecné (Prunus spinosa)*. Brno, 2021. Dostupné také z: https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/129937. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Adriána Kovalčík.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto formou poděkovala své vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Adriáně Kovalčík, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost, vstřícnost, pomoc a čas, který mi věnovala. Také bych ráda poděkovala Ing. Pavlu Vostrejšovi za pomoc, cenné rady a čas, který mi věnoval při realizaci experimentální části. Za pomoc s analýzou kyseliny askorbové pomocí HPLC děkuji Ing. Martinovi Szotkowskému Ph.D. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za podporu ve studiu a pomoc se sběrem plodů trnky obecné.

OBSAH

1 ÚVOD 7
2 TEORETICKÁ ČÁST 8
2.1 Trnka obecná 8
2.1.1 Taxonomické zařazení 8
2.1.2 Morfologie 8
2.1.3 Stanoviště, výskyt a ekologie 9
2.2 Chemické složení plodů trnky obecné 10
2.2.1 Voda 10
2.2.2 Sacharidy 10
2.2.2.1 Polysacharidy 11
2.2.2.1.1 Pektiny 11
2.2.3 Bílkoviny 12
2.2.4 Tuky 12
2.2.5 Vitaminy 14
2.2.5.1 Vitamin C 14
2.2.5.2 Vitamin E 15
2.2.6 Minerální látky 15
2.2.7 Organické kyseliny 16
2.2.8 Polyfenoly 17
2.2.8.1 Fenolové kyseliny 17
2.2.8.2 Flavonoidy 18
2.2.8.2.1 Anthokyany a anthokyanidiny 18
2.2.8.2.2 Tanniny 18
2.2.9 Karotenoidy 19
2.3 Využití plodů trnky obecné 19
2.3.1 Potravinářství 19
2.3.2 Lidové léčitelství a farmacie 20
2.3.2.1 Antioxidační aktivita 21
2.3.2.2 Antimikrobiální a antihemolytická aktivita 22
2.3.2.3 Antikarcinogenní aktivita 22
2.3.2.4 Antidiabetická aktivita 23
2.3.2.5 Inhibice tyrozinázy 23

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 24
3.1 Chemikálie 24
3.2 Přístroje a pomůcky 24
3.3 Vzorky 25
3.3.1 Domácí trnkové víno 25
3.3.2 Domácí trnkový likér 26
3.3.3 Ethanolové extrakty 26
3.4 Stanovení redukujících sacharidů podle Somogyi-Nelsona 27
3.5 Stanovení redukujících sacharidů pomocí 3,5-dinitrosalicylové kyseliny 28
3.6 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla 29
3.7 Stanovení celkových flavonoidů pomocí chloridu hlinitého 30
3.8 Stanovení kyseliny askorbové titračně 2,6-dichlorfenolindofenolem 30
3.9 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS 32
3.10 Statistická analýza dat 33
4 VÝSLEDKY A DISKUZE 34
4.1 Porovnání dvou spektrofotometrických metod pro stanovení redukujících sacharidů ve vzorcích produktů a extraktů z plodů trnky obecné 34
4.2 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla 36
4.3 Stanovení celkových flavonoidů pomocí chloridu hlinitého 39
4.4 Stanovení kyseliny askorbové 41
4.5 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS 42
5 ZÁVĚR 45
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ 47
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ 53
8 SEZNAM PŘÍLOH 54
9 PŘÍLOHY 55

1 ÚVOD

V posledním desetiletí jsou pozorovány rapidní změny, co se trendů stravování týče. Ve společnosti stále více roste zájem o tzv. zdravý životní styl, neboť si řada lidí uvědomuje důležitost péče o své tělo. Zvyšuje se zájem nejen o kvalitní a zdraví prospěšné potraviny včetně superpotravin, ale také o doplňky stravy na přírodní bázi. Rostlinné produkty jsou v dnešní době dosti vyhledávaným artiklem, jelikož jsou často zdrojem řady léčivých a na organismus blahodárně působících látek, jako jsou vitamíny, minerální látky, antioxidanty atd.

Plody trnky obecné (*Prunus spinosa L.*) jsou drobné, kulovité, modrofialové až modročerné peckovice významně podobné švestkám. Trnky jsou již od pradávna zpracovávány v domácnostech na marmelády, džemy, sirupy, víno, likéry apod. Tyto domácí produkty, které jsou známy především pro své léčivé vlastnosti, byly dříve hojně používány v lidovém léčitelství k léčbě nachlazení, žaludečních potíží, cukrovky, obezity atd. S příchodem moderní doby byly tyto divoce rostoucí plody dosti opomíjeny, avšak v posledních letech začínají být častým předmětem řady studií, a to nejen pro své rozsáhlé biologické účinky, jako je například antioxidační, protizánětlivý, antikarcinogenní či antidiabetický efekt, ale také pro své vyvážené bioaktivní a nutriční složení. Z dosavadních zjištění se jedná o surovinu s vysokým potenciálem stát se velmi užitečným materiálem pro potravinářský, nutraceutický, farmaceutický i kosmetický průmysl. Avšak i přes slibná zjištění se stále *Prunus spinosa L.* řadí mezi rostliny, které nebyly doposud z hlediska vědeckého výzkumu dostatečně prozkoumány.

Cílem této bakalářské práce bylo připravit a následně charakterizovat ethanolové extrakty a produkty z plodů *Prunus spinosa L.* (PsL). Analýze byly podrobeny celkem 3 produkty a 12 ethanolových extraktů. Dva z produktů (tj. domácí trnkový likér a domácí trnkové víno) byly připraveny dle tradičních receptů v domácích podmínkách a jeden z produktů (tj. trnková šťáva) byl zakoupen. Extrakty byly připraveny 1–4týdenní macerací usušených plodů PsL v 40% vodném roztoku ethanolu. Jednotlivé produkty i extrakty byly zvoleny na základě dosavadních zjištění prezentovaných v literatuře. U extraktů z plodů trnky obecné byla již dříve pozorována poměrně vysoká antioxidační aktivita. Jako nejúčinnější extrakční činidla se ukázaly alkoholové roztoky. Z pohledu toxicity jsou preferovány především roztoky ethanolu, kdy nejvyšší účinnost extrakce opakovaně vykázal 50% vodný roztok ethanolu [6,9,28,44–47]. S ohledem na tuto skutečnost byla při přípravě domácího trnkového likéru použita slivovice, jejíž obsah alkoholu činil přibližně 50 %. Jelikož bývá trnkový likér často připravován z méně koncentrovaného alkoholu (např. vodky), byl při přípravě ethanolových extraktů použit 40% roztok ethanolu. Záměrem bylo prověřit účinnost extrakce sloučenin s ohledem na změnu polarity rozpouštědla a odlišnou dobu extrakce. Údaje o charakterizaci trnkového vína, které je připraveno fermentací plodů PsL v literatuře prozatím chybí, přestože se jedná o jeden z nejznámějších produktů z tohoto divokého ovoce. Cílem bylo ve vzorku trnkového vína kvantifikovat obsah vybraných sloučenin a stanovit antioxidační aktivitu, která by mohla být přínosná pro zdraví konzumenta. Trnková šťáva byla zakoupena za účelem srovnání sloučeninového složení domácích a komerčně dostupných produktů z plodů PsL. Pomocí jednoduchých a rychlých, spektrofotometrických metod byly ve vzorcích kvantifikovány redukující sacharidy, polyfenoly a flavonoidy, dále byla stanovena celková antioxidační aktivita vzorků, a to pomocí metody s kation-radikálem ABTS. V neposlední řadě byl pomocí HPLC ve vzorcích identifikován vitamín C.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Trnka obecná

Trnka obecná (*Prunus spinosa L.*, blackthorn) nebo také slivoň trnitá je hustě rozvětvený, obvykle 1–3 m vysoký, listnatý keř s dlouhými ostrými trny (obrázek 1 A) [1,2]. Jedná se o velmi proměnlivý druh, jehož odlišnosti jsou pozorovatelné ve vzrůstu, tvaru a velikosti listů, tvaru, velikosti, ojínění a chuti plodů, trnitosti apod. [1]. Plody trnky se významně podobají švestkám, avšak dozrávají později. Původním stanovištěm trnky obecné je Evropa, západní Asie a severozápadní Afrika [2].

2.1.1 Taxonomické zařazení

Trnka obecná, oficiální nomenklaturou *Prunus spinosa L.*, je zařazena do říše rostliny (*Plantae*), kmenu cévnaté rostliny (*Tracheophyta*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), třídy nižší dvouděložné rostliny (*Magnoliopsida*), řádu růžotvaré (*Rosales*), čeledi růžovité (*Rosaceae*) a do rodu slivoň (*Prunus*) [3,4].

2.1.2 Morfologie

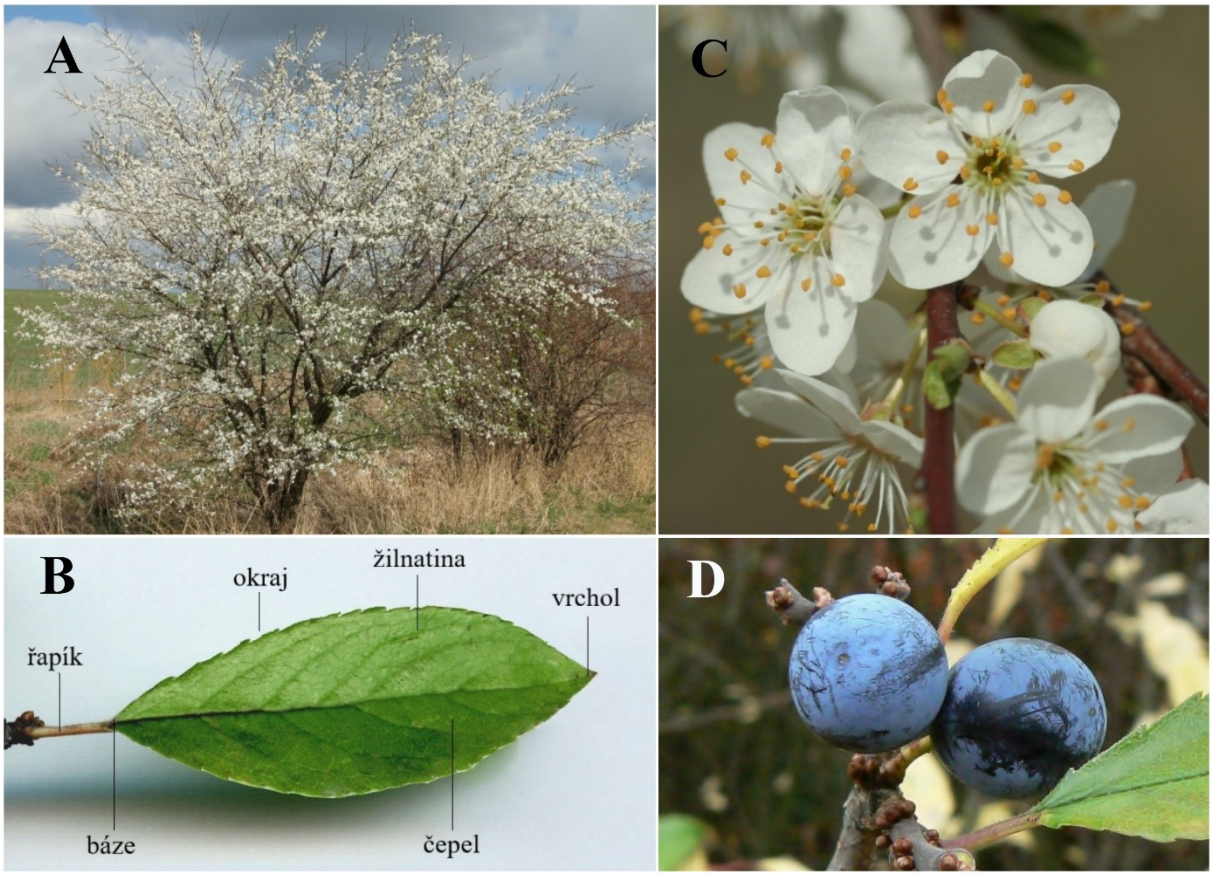
Prunus spinosa L. (PsL) je opakovaně kvetoucí, 1–3 m vysoký keř, který může ve výjimečném případě dosáhnout výšky až pěti metrů. Jedná se o rozložitou, zpravidla hustě větvenou dřevinu s četnými kořenovými výmladky [1,5,6].

Větve jsou často bohaté na trny (kolce), vzácněji jsou trnité málo nebo zcela bez kolců. U mladých rostlin jsou větve zpravidla zelené a chlupaté. Později houževnatí, tvrdnou, ztrácí ochlupení a získávají červenohnědé až tmavošedé zabarvení. Pupeny jsou malé, kulovitého tvaru, s hnědými až červenohnědými brvitými šupinkami [1,5].

Listy trnky obecné jsou na zimu opadavé, na větvi jsou uspořádány střídavě, nejsou žádným způsobem metamorfózovány a zpravidla raší až po odkvětu [5,7]. Jsou 1,5–5 cm dlouhé a 0,7–2 cm široké, tmavě zelené až šedavě zelené barvy. Tvar čepele je převážně obvejčitý až eliptický. Vrchol je tupý nebo špičatý, báze klínovitě zúžená a okraj pilovitě zubatý. Na povrchu jsou listy lysé až roztroušeně chlupaté, na rubu zejména na žilnatině až hustě chlupaté [1,5]. S větví jsou spojeny pomocí 2–10 mm dlouhých řapíků (obrázek 1 B). Palisty trnky jsou čárkovité, pilově zubaté, dlouhé přibližně 5 mm a taktéž opadavé [1].

Drobné čistě bílé květy *Prunus spinosa L.* mající výraznou vůni kvetou od března do května (obrázek 1 C). Teprve po jejich odkvětu začínají rašit listy [2,4]. Květy vyrůstají na tuhých a přímých květních stopkách jednotlivě, po dvou nebo v chudokvětých svazečcích. Skládají se z pěti obvejčitých korunních lístků a pěti kališních lístků trojúhelníkovitě vejčitého tvaru. Dále obsahují zpravidla 10–20 tyčinek se žlutými až načervenalými prašníky [1].

Plody trnky obecné jsou významně podobné švestkám (obrázek 1 D), avšak dozrávají podstatně později [2]. Jsou to kulovité modrofialové až modročerné, ojíněné dužnaté peckovice o velikosti přibližně 10–15 mm. Pecka ve středu trnky bývá 7–10 mm velká a zpravidla je těžko oddělitelná od tuhé nazelenalé dužiny [1]. Plody dozrávají v říjnu, jejich chuť je trpce kyselá, vzácněji sladká. Lepší senzorickou vlastnost plody získávají po přejití mrazem. Zpracovávají se v potravinářství a lidovém léčitelství [1,5,8,9].



Obrázek 1:Charakteristické fotografie Prunus spinosa L. (fotografie byly převzaty a upraveny):

A – Prunus spinosa L. v květu; lokalita: Vrchoslavice; autor: Dana Michalcová [10].

B – Stavba listu Prunus spinosa L.; lokalita: Brno-Obřany; autor: Pavel Veselý [11].

C – Květ Prunus spinosa L.; lokalita: Vrchoslavice; autor: Dana Michalcová [10].

D – Plod Prunus spinosa L.; lokalita: Brno-Židenice; autor: Dana Michalcová [10].

2.1.3 Stanoviště, výskyt a ekologie

Prunus spinosa L. je rozšířený druh, který se vyskytuje v mnoha zemích světa [3]. Roste převážně v mírném kontinentálním podnebí severní polokoule v nížinných až podhorských oblastech [4,12]. Výskyt v polohách nad 500 m nadmořské výšky je již ojedinělý. Osidluje téměř celé území Evropy s výjimkou střední a severní části Skandinávie, Finska, Islandu a severní poloviny evropské části Ruska. Na východ od Evropy je trnka obecná rozšířena až do severního Íránu a ke Kavkazu. Dalšími lokalitami výskytu je severozápadní Afrika, Malá Asie, Izrael a izolované lokality v okolí Balchašského jezera v Kazachstánu. V České republice roste na celém území roztroušeně až hojně [1]. Osidluje meze, křovinaté slunné stráně, kamenité či skalnaté svahy, lesní pláně, strže apod. Často roste v listnatých lesích, především výmladkového typu, vzácněji v okolí komunikací a neobdělávaných míst poblíž obcí [1,5]. Častokrát roste pospolitě a v kombinaci s dalšími keři vytváří rozmanitá společenstva patřící do řádu *Prunetalia spinosae* [5]. V teplejších oblastech mnohdy vznikají rozsáhlé homogenní porosty, které mohou rozrušovat a vytěsňovat teplomilná bylinná společenstva [1], nebo poskytovat úkryt zvěři, potravu a hnízdiště ptactvu [8]. Trnka obecná je schopna růstu na kyselých i zásaditých podkladech. Dobře odolává jak mrazu, tak suchu [1,3,8].

2.2 Chemické složení plodů trnky obecné

Základní živiny, jako je voda, sacharidy, bílkoviny či tuky, jsou obsaženy v každém ovoci, a to napříč rozmanitými druhy, které se vzájemně liší různou proporcí těchto základních látek. Toto rozdílné zastoupení živin se vyskytuje nejen napříč druhy, ale i v rámci jednoho druhu. Chemické složení ovoce je závislé jak na druhu a odrůdě, tak na stádiu zralosti, způsobu a délce skladování či podmínkách růstu (podnebí, nadmořská výška, hnojení aj.). Plody vedle základních látek často obsahují řadu vitamínů, minerálních látek, organických kyselin, aromatických látek či barviv [13,14]. Chemické složení plodů trnky obecné podmiňuje řadu jejích biologických vlastností, jako je antioxidační, antimikrobiální či protizánětlivý efekt [14].

Plody *Prunus spinosa L.* jsou významné pro své vyvážené bioaktivní a nutriční složení. Obsahují řadu užitečných látek, jako jsou například polyfenoly a karotenoidy. Z pohledu makronutričního složení jsou trnky ceněným zdrojem energie, neboť disponují vysokým obsahem sacharidů. Naopak na tuky jsou poměrně chudé. (Barros a kol., 2010) stanovili celkový energetický přínos 100 g suchých plodů PsL na 383,27 kcal [14]. Poněkud nižší hodnotu energetického přínosu zjistili (Marakoğlu a kol., 2005), kdy na 100 g suchých plodů PsL připadlo 249 kcal [15]. (Barros a kol., 2010) dále určili obsah popela na 6,65 % z celkové hmotnosti suchých plodů, zatímco (Marakoğlu a kol., 2005) popisují mnohokrát nižší hodnotu, a to 2,72 %. Poměrně velký rozdíl v prezentovaných hodnotách mohl být způsoben jak rozdílnými klimatickými podmínkami během růstu, tak odlišným způsobem zpracování či skladování plodů, kdy (Barros a kol., 2010) plody před uskladněním lyofilizovali, kdežto (Marakoğlu a kol., 2005) plody sušili při 105 °C [14,15].

2.2.1 Voda

Obsah vody v ovoci je značně nestálý, neboť je závislý na stádiu zralosti či délce a způsobu skladování. Aktivita vody v ovoci má zásadní vliv na jeho charakteristické organoleptické vlastnosti, jako je barva, vůně, chuť či textura. Dále ovlivňuje jeho údržnost a odolnost vůči mikrobiální kontaminaci, enzymovým i neenzymovým reakcím [16].

Obsah vody v plodech *Prunus spinosa L.* se blíží 70 % z celkové hmotnosti čerstvých plodů [15]. Jak již bylo uvedeno výše, obsah vody v ovoci není stálý a podléhá řadě faktorů, což je také patrné při srovnání experimentálně získaných hodnot [16]. Dle (Barros a kol., 2010) voda zaujímá přibližně 60,86 % z celkové hmotnosti čerstvých plodů [14]. Blízkou, avšak ne stejnou hodnotu, popisuje (Marakoğlu a kol., 2005), kteří obsah vody stanovili na 69,37 % [15].

2.2.2 Sacharidy

V ovoci jsou hojně zastoupeny monosacharidy, oligosacharidy i polysacharidy. Z monosacharidů jsou v relativně vysokém množství přítomny glukosa (0,5–32 %) a fruktosa (0,4–24 %). V menším množství ovoce obsahuje i další monosacharidy. Obsah a poměrné zastoupení jednotlivých monosacharidů značně závisí na druhu a odrůdě, podmínkách skladování a zpracování. Velmi významným faktorem je stupeň zralosti ovoce, neboť během zrání dochází k navyšováni obsahu monosacharidů. Glukosa a fruktosa jsou základem řady oligosacharidů a polysacharidů [13].

Ovoce je bohaté na volné i vázané oligosacharidy, které jsou tvořeny 2–10 monosacharidovými jednotkami, obvykle z řady D-izomerů glukosy, fruktosy, galaktosy a mannosy

spojenými glykosidovými vazbami. Mezi nejvýznamnější oligosacharidy ovoce se řadí glukooligosacharidy, jež jsou tvořeny D-glukosou, a fruktooligosacharidy jejichž podjednotkami jsou D-glukosa a D-fruktosa. Nejdůležitějším glukooligosacharidem je maltosa, která je produktem enzymové hydrolýzy škrobu. Eminentním fruktooligosacharidem je sacharosa, avšak její výskyt v ovoci není pravidlem [13].

Nejvíce zastoupenou makroživinou v plodech trnky obecné jsou právě sacharidy, které mnohdy tvoří až 88 % hmotnosti suchých plodů. Zastoupení glukosy, fruktosy a sacharosy, jakožto hlavních sacharidů v plodech PsL, bylo poprvé popsáno (Barros a kol., 2010), kteří uvedli, že z výše uvedených sacharidů byla nejvíce zastoupena glukosa, a to 29,84 g/100 g DW. Dále stanovili obsah fruktosy, který činil 6,95 g/100 g DW, a obsah sacharosy, jenž byl roven 0,27 g/100 g DW. V ovoci jsou přítomny i další sacharidy. Jedná se především o polysacharidy pektin, celulosa, škrob aj [13,14].

2.2.2.1 Polysacharidy

Polysacharidy neboli glykany jsou složeny z více než desíti monosacharidových jednotek navzájem spojených glykosidovými vazbami. S ohledem na monosacharidové jednotky se polysacharidy dělí na homopolysacharidy, resp. homoglykany, které jsou tvořeny výlučně identickými monomery, a heteropolysacharidy, resp. heteroglykany, které jsou sestaveny z více různých monomerů [13].

Přirozené polysacharidy rostlin mají velký význam ve výživě člověka, přispívají k formování textury potravin a ovlivňují jejich organoleptické vlastnosti. Nejvýznamnějšími jsou celulosa, hemicelulosa, pektin a škrob. V ovoci je dominantním sacharidem pektin, v menším množství se vyskytuje i celulosa a hemicelulosa. Škrob je možno nalézt v nezralém ovoci, avšak jeho obsah se snižuje během zrání a ve zralém ovoci již není téměř přítomen. Škroby jsou řazeny mezi tzv. využitelné polysacharidy, které jsou vyznaným zdrojem energie. Celulosa, hemicelulosa a pektin jsou řazeny mezi tzv. nevyužitelné polysacharidy, neboť nejsou snadno degradovatelné. Obecně se označují jako vláknina. Ta bývá obecně definována jako rostlinný polysacharid, který je rezistentní vůči hydrolýze trávicími šťávami. Dělí se na rozpustnou vlákninu (např. hemicelulosa, pektin a modifikovaná celulosa) a nerozpustnou vlákninu (např. celulosa a část hemicelulos). Nerozpustná vláknina je důležitou složkou potravy. Zvětšuje její objem, zlepšuje střevní peristaltiku a je protektivním materiálem při konstipaci (zácpě), vředech, hemoroidech či rakovině [13].

Plody trnky obecné obsahují až 32 g vlákniny/100 g DW [18]. (Marakoğlu a kol., 2005) prezentují hodnotu procentového zastoupení vlákniny v plodech PsL, a to 4,6 % [15].

2.2.2.1.1 Pektiny

Pektiny jsou polydisperzní polysacharidy nacházející se v pletivech vyšších rostlin. Struktura pektinu je tvořena lineárním řetězcem 25–100 jednotek D-galakturonové kyseliny spojených α (1→4) glykosidovými vazbami. Pektiny jsou rozpustné ve vodě, avšak jejich rozpustnost klesá se zvyšující se molekulovou hmotností a stupněm esterifikace [13].

Pektiny jsou zastoupeny přibližně 1 % ve všech druzích ovoce, kde se podílejí zejména na textuře. V nezralém ovoci jsou příčinou jeho tvrdosti a pevnosti. Podléhají enzymové i neenzymové degradaci během zrání, skladování a zpracovávání, což vede k nevratnému

měknutí ovoce a ztrátě jeho želírujících schopností. Tyto změny jsou nežádoucí pro některá technologická zpracování, jako je například výroba kompotů. Naopak při výrobě ovocných šťáv lisováním se užívá přídavku pektolytických enzymů ke zvýšení výtěžnosti a odstranění zákalů. Jelikož disperze pektinu jsou relativně málo viskózní, nepoužívá se jako zahušťovadlo. Viskozita vysokoesterifikovaných pektinů se zvyšuje s přídavkem sacharosy. U nízkoesterifikovyných pektinů je možné zvýšení viskozity dosáhnout přídavkem vápenatých iontů. Zvýšení viskozity pektinů může za určitých podmínek vést ke vzniků gelů [13].

2.2.3 Bílkoviny

Bílkoviny neboli proteiny jsou polymery složené z více než 100 aminokyselin vzájemně spojených peptidovými vazbami. Vedle peptidových vazeb se na tvorbě a stabilizaci struktury bílkovin podílí disulfidové, esterové a amidové vazby, dále pak nevazebné interakce, jako jsou vodíkové můstky, van der Waalsovy síly či elektrostatické interakce. Proces vzniku proteinů je označován jako proteosyntéza. Všechny známé bílkoviny jsou sestaveny z 20 základních aminokyselin, které jsou označovány jako kódované aminokyseliny. Aminokyseliny jsou substitučními deriváty karboxylových kyselin a dělí se na nepolární, polární neutrální (bez náboje), polární kyselé (záporně nabité) a polární bazické (kladně nabité). Bílkoviny zastávají řadu biologických funkcí, a tak jsou rozlišovány proteiny strukturní, katalytické, transportní, pohybové, obranné, regulační aj [13].

Lidské tělo proteiny získává z živočišné i rostlinné stravy. Obecně se proteiny ve výživě dělí do tří skupin, a to na plnohodnotné, téměř plnohodnotné a neplnohodnotné. Rostlinné bílkoviny jsou řazeny do neplnohodnotných proteinů, neboť nemají dostatečný obsah některých esenciálních aminokyselin, ale i tak se jedná o významný zdroj bílkovin. Rostlinné proteiny lze nalézt především v luštěninách, sóji, obilovinách, okopaninách, zelenině a v menší míře také v ovoci, ve kterém je však obsah proteinu jen nízký [13].

Je tomu tak i u plodů trnky obecné, kde bílkoviny tvoří přibližně 2,8–3,4 % z celkové hmotnosti suchých plodů [14,15].

2.2.4 Tuky

Tuky neboli lipidy jsou estery vyšších mastných (karboxylových) kyselin s trojsytným alkoholem glycerolem. Na základě jejich chemického složení se dělí do tří skupin, a to na homolipidy, heterolipidy a komplexní lipidy. Homolipidy jsou tvořeny pouze alkoholy a mastnými kyselinami. Heterolipidy vedle alkoholů a mastných kyselin obsahují také kovalentně vázané sloučeniny. Například fosfolipidy mají navázanou kyselinu fosforečnou. Komplexní lipidy jsou pak kombinací homolipidů a heterolipidů, navíc mají některé složky vázány fyzikálními vazbami, jako jsou vodíkové můstky či hydrofobní interakce [13].

Mezi homolipidy se řadí vosky a oleje**.** V kutikulárních voscích ovoce jsou nejčastěji esterově vázány nasycené mastné kyseliny palmitová a stearová a nenasycená mastná kyselina olejová. Vosky jsou tvrdé, nemastící se materiály s teplotou tání 60–110 °C. Ve vodě jsou nerozpustné a v organických rozpouštědlech jen špatně rozpustné. Vedle tuhých vosků existují také vosky kapalné. Ty jsou hydrofobní, dobře rozpustné v organických rozpouštědlech a

snadno tvoří emulze. V potravinářském průmyslu jsou vosky využívány jako aditivní látky k hydrofobizaci povrchů ovoce a dalších výrobků. Nejvýznamnějšími lipidy pro potravinářský průmysl jsou bezesporu oleje [13].

V potravě jsou tuky zastoupeny výhradně ve formě triacylglycerolů, v menší míře také ve formě fosfolipidů a přibližně 1 % tvoří doprovodné látky. Mezi doprovodné látky se řadí uhlovodíky, alkoholy, steroidy atd. Tuky se dle původu dělí na rostlinné, živočišné a jiné. V rostlinách jsou tuky obsaženy především v semenech, ale také v oplodí (perikarpu). Ovoce často obsahuje 0,2–0,7 % lipidů, v sušině 1,0–2,8 %. Fosfolipidy v sušině ovoce často tvoří 0,5–1,5 %. Složení tuku je dáno především zastoupením mastných kyselin [13].

Nejméně zastoupenou makroživinou v plodech trnky obecné je právě tuk, který tvoří přibližně 2 % z celkové hmotnosti suchých plodů [14,15]. (Barros a kol., 2010) poskytují informace nejen o celkových lipidech, ale také o zastoupení jednotlivých mastných kyselin. Identifikovali a kvantifikovali celkem 20 mastných kyselin, které jsou v plodech přítomny. Jejich přehled je uveden níže v tabulce 1. V plodech jsou nejvíce zastoupeny mononenasycené mastné kyseliny MUFA, které zahrnují nejhojněji se vyskytující mastnou kyselinu olejovou. Kyselina olejová v plodech tvoří 57,58 % z celkového obsahu mastných kyselin. Dále je patrná převaha polynenasycených mastných kyselin PUFA nad nasycenými mastnými kyselinami SAFA, které v plodech zastávají nejnižší podíl. Hlavní zjištěnou nasycenou mastnou kyselinou je kyselina palmitová. Z polynenasycených mastných kyselin byla nejvíce zastoupena kyselina linolová, která je zároveň druhou celkově nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou [14].

Tabulka 1: Složení mastných kyselin plodů Prunus spinosa L. [14,17].

název mastné kyseliny	**zkratka**	**skupina**	**obsah [%]**
kyselina kaprylová	C8:0	SAFA	0,01
kyselina kaprinová	C10:0	SAFA	0,02
kyselina laurová	C12:0	SAFA	0,10
kyselina myristová	C14:0	SAFA	0,09
kyselina myristoolejová	C14:1	MUFA	0,03
kyselina pentadecylová	C15:0	SAFA	0,03
kyselina palmitová	C16:0	SAFA	6,50
kyselina palmitoolejová	C16:1	MUFA	0,67
kyselina heptadecylová	C17:0	SAFA	0,11
kyselina heptadecenová	C17:1c	MUFA	0,10
kyselina stearová	C18:0	SAFA	2,51
kyselina olejová	C18:1n9c	MUFA	57,58
kyselina linolová	C18:2n6c	PUFA	23,57
kyselina a-linolenová	C18:3n3	PUFA	2,79
kyselina arachová	C20:0	SAFA	0,56
kyselina eikosenová	C20:1c	MUFA	0,06

název mastné kyseliny	zkratka	skupina	obsah [%]
kyselina (cis, cis, cis)-11,14,17-eikosatrienová + kyselina heneikosanová	C20:3n3+C21:0	PUFA	0,03
kyselina behenová	C22:0	SAFA	0,32
kyselina trikosanová	C23:0	SAFA	4,42
kyselina lignocerová	C24:0	SAFA	0,48
celkové nasycené mastné kyseliny		SAFA	15,16
celkové mononenasycené mastné kyseliny		MUFA	58,45
celkové polynenasycené mastné kyseliny		PUFA	26,40

2.2.5 Vitaminy

Vitaminy jsou organické nízkomolekulární sloučeniny, které jsou označovány jako exogenní esenciální biokatalyzátory. Jako exogenní a esenciální jsou označovány, neboť se jedná o látky, které si heterogenní organismus vesměs nedokáže syntetizovat, a tak je musí přijímat v potravě v určitém minimálním množství. Potravou jsou přijímány nejen vitamíny, ale také jejich prekurzory, které jsou označovány jako provitamíny. Jedná se o látky, z nichž si organismus dokáže daný vitamin syntetizovat. Jako biokatalyzátory jsou vitaminy označovány, protože se podílí na látkové přeměně a regulaci metabolismu často jako součást enzymových katalyzátorů biochemických reakcí [16].

Třídí se dle rozpustnosti na vitaminy rospustné v tucích (lipofilní), kterými jsou vitaminy A, D, E, K, a vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní), do kterých spadají vitaminy B-komplexu a vitamin C. Vitaminy rozpustné ve vodě se v organismu zpravidla neukládají a jejich přebytek je vylučován močí. Naopak vitamíny rozpustné v tucích jsou skladovány v játrech. Potřebný příjem vitaminů je poměrně nízký, ale i tak může docházet k hypovitaminose, což je nedostatečný příjem vitaminu. V krajním případě nastává avitaminosa, což je úplný nedostatek vitaminu, který se projevuje poruchou některé biochemické reakce. V případě nadměrného příjmu některého z lipofilních vitaminů nastává hypervitaminosa. V potravinách se vyskytují také tzv. antivitaminy neboli antagonisté vitaminů, což jsou látky vitaminy inhibující či znemožňující jejich využití [16].

Obsah vitaminů v potravinách rostlinného původu je značně ovlivněn stupněm zralosti, podnebnými podmínkami během růstu, hnojením, skladováním a zpracováním. Vitaminy obecně nepatří mezi stabilní látky. Často dochází k jejich ztrátám již během technologického zpracování či během kulinárních úprav [16].

Plody *Prunus spinosa L.* jsou zdrojem vitaminu C a E, přičemž obsah vitaminu C podstatně převažuje nad vitaminem E [14].

2.2.5.1 Vitamin C

Vitamin C neboli kyselina askorbová je základní biologicky aktivní sloučeninou vyskytující se ve čtyřech stereoizomerech. Nejbohatším zdrojem vitaminu C je ovoce a zelenina. Jeho obsah je značně závislý na odrůdě a vegetačních podmínkách. Jelikož kyselina askorbová patří k nejvíce nestálým vitamínům, dochází k jejím značným ztrátám již během skladování a

zpracování, nejčastěji v důsledku výluhu (např. při mytí, blanšírování, vaření) či oxidace. Povaha a rozsah ztrát závisí na pH, teplotě, zralosti, velikosti povrchu atd. Celkové ztráty bývají v rozmezí 20–80 %. V potravinách kyselina askorbová přispívá k prevenci nežádoucích změn aroma vyvolaných oxidací a zabraňuje reakci enzymového hnědnutí. Vitamin C vykazuje antioxidační vlastnosti. Podléhá reakci s reaktivními formami kyslíku či s volnými radikály. Doporučený denní příjem se pohybuje v rozmezí 60–200 mg, avšak existuje množství odchylek. Hypovitaminosa se projevuje řadou nespecifikovaných příznaků či únavou. Projevem avitaminosy jsou kurděje [16]. Obsah vitaminu C v plodech trnky obecné je přibližně 20–24 mg/100 g FW [18].

2.2.5.2 Vitamin E

Vitamin E se vyskytuje v osmi základních strukturně příbuzných derivátech, jejichž základem je tokol nebo tokotrienol. Jedná se o struktury obsahující chromanový cyklus s nasyceným nebo nenasyceným isoprenoidním postranním řetězcem o 16 atomech uhlíku. Rozdíly mezi tokoferoly a tokotrienoly jsou v poloze a počtu methylenových skupin v chromanovém cyklu. Výskyt vitaminu E je vyšší v potravinách rostlinného původu, kde se vyskytuje ve všech osmi biologicky aktivních formách. V ovoci se vyskytují především α-, β-, γ-, δ-tokoferoly, avšak jejich obsah zpravidla nepřesahuje 10 mg/kg. Mnohem vyšší obsah vitaminu E mají panenské rostlinné oleje. V nepřítomnosti kyslíku a oxidovaných lipidů se jedná o poměrně stabilní vitamin, který je stálý i při běžném skladování a zpracování. K jeho značným ztrátám dochází během zmrazování, a hlavně při sušení [16].

Plody trnky obecné vykazují relativně vysoké hodnoty obsahu vitaminu E, přestože se nejedná o potravinu s vysokým obsahem tuku, pro které je výskyt vitaminu E charakteristický. Celkový obsah tokoferolů v plodech trnky obecné je přibližně 9,25 mg/100 g DW. Vedle celkového obsahu tokoferolů (Barros a kol., 2010) identifikovali a kvantifikovali i jejich jednotlivé formy. Přehled tokoferolů je uveden níže v tabulce 2. Nejvíce zastoupený je α-tokoferol, který je v plodech PsL zastoupen 7,18 mg/100 g DW [14].

Tabulka 2: Zastoupení tokoferolů v plodech Prunus spinosa L. [14].

název	obsah [mg/100 g DW]
α-tokoferol	7,18
β-tokoferol	0,06
γ-tokoferol	1,91
δ-tokoferol	0,10
celkové tokoferoly	9,25

2.2.6 Minerální látky

Minerální látky jsou definovány jako prvky, které zůstávají ve vzorku po úplné oxidaci organického podílu. U většiny potravin minerální látky zaujímají 0,5–3 hm. %. Dle množství se minerální látky dělí na majoritní, minoritní a stopové prvky. Tohle rozdělení přibližně odpovídá zastoupení příslušných prvků v lidském organismu. Mezi majoritní prvky patří sodík, draslík, hořčík, vápník, chlor, fosfor a síra. Minoritními prvky jsou železo a zinek.

Do stopových prvků se řadí hliník, arsen, bor, kadmium, kobalt, měď, fluor, rtuť, jod, mangan, molybden, nikl, olovo, selen a cín. Dle fyziologického významu se minerální látky dělí na esenciální, neesenciální a toxické. Esenciální prvky musí být přijímány potravou, aby byly zajištěny nezbytné biologické funkce organismu. Patří mezi ně Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S, Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Cr, Se, I, F, B a Si. U neesenciální prvků není dosud zjištěn fyziologický význam ani nevykazují toxicitu. Jedná se o Li, Rb, Cs, Ti, Au, Sn, Bi, Te a Br. Toxické prvky jako je Pb, Cd, Hg a As vykazují toxické účinky, které nejčastěji spočívající v inhibici důležitých enzymů metabolismu. Obsah minerálních látek v potravinách rostlinného původu je značně závislý nejen na odrůdě, ale také na vlastnostech a prvkovém složení půdy, způsobu a míře hnojení, na klimatických podmínkách, stupni zralosti atd. Minerální látky potravin interagují s vodou, organickými látkami i vzájemně mezi sebou. Chemickou podobu prvku v potravině určuje hodnota pH, redoxní potenciál, možnost změny oxidačního stupně a mnoho dalších faktorů [16].

V plodech trnky obecné bylo identifikováno a kvantifikováno 16 minerálních látek. Jejich přehled a obsahy jsou uvedeny níže v tabulce 3. Nejvíce zastoupeným prvkem v plodech PsL je síra, jež zaujímá 500 025,97 mg/kg [15].

Tabulka 3: Minerální látky stanovené v plodech Prunus spinosa L. [15].

název	**značka**	**obsah [mg/kg]**
hliník	Al	26,33
bor	B	26,99
vápník	Ca	1 524,22
kadmium	Cd	0,279
chrom	Cr	2,28
železo	Fe	16,18
draslík	K	18 706,98
lithium	Li	6,24
hořčík	Mg	968,15
mangan	Mn	4,58
sodík	Na	530,11
nikl	Ni	1,22
fosfor	P	1 514,54
olovo	Pb	1,28
síra	S	500 025,97
vanad	V	3,01

2.2.7 Organické kyseliny

Organické kyseliny jsou důležitou součástí rostlinných produktů. Přítomnost kyselin má značný vliv na celkovou hodnotu pH ovoce, což má za následek ovlivnění enzymových i chemických reakcí. Kyseliny dále působí na mikrobiologickou stabilitu během skladování a zpracování, organoleptické i technologické vlastnosti. Řada organických kyselin určuje vonné a chuťové vlastnosti ovoce nebo jsou prekurzory řady dalších vonných a chuťových látek, jako jsou

estery a laktony. Potraviny obsahují alifatické, alicyklické, aromatické či heterocyklické karboxylové kyseliny. Nejvýznamnějšími nositeli kyselé chuti ovoce jsou alifatické polykarboxylové hydroxykyseliny. Z dikarboxylových hydroxykyselin se v ovoci hojně vyskytuje L-izomer kyseliny jablečné. Nejdůležitějším zástupcem trikarboxylových hydroxykyselin v ovoci je kyselina citronová. Jak kyselina jablečná, tak kyselina citronová se využívají v konzervárenství. Vedle těchto dvou hlavních kyselin se v ovoci často vyskytuje také kyselina jantarová a fumarová. Jantarová kyselina je vyšší nasycená alifatická dikarboxylová kyselina a kyselina fumarová je vyšší nenasycená alifatická dikarboxylová kyselina [16]. Během sklizně, skladování a analýzy dochází ke značným ztrátám organických kyselin. Tyto ztráty lze do jisté míry minimalizovat, avšak jim nelze zcela zabránit [20].

Plody trnky obecné obsahují kyselinu jablečnou, citronovou, jantarovou a fumarovou. Rozmezí hodnot obsahů jednotlivých kyselin jsou znázorněna v tabulce 4. Nejvíce je zastoupena kyselina jablečná, jež se v plodech vyskytuje v rozmezí 1,012–1,319 g/100 g FW. Plody disponují také poměrně vysokým obsahem kyseliny citronové, který se pohybuje v rozmezí 21,45–28,37 mg/100 g FW [20].

Tabulka 4: Organické kyseliny obsažené v plodech Prunus spinosa L. [20].

kyselina	obsah [mg/100 g FW]
kyselina jablečná	1 012–1 319
kyselina citronová	21,45–28,37
kyselina jantarová	2,515–3,212
kyselina fumarová	1,651–2,102

2.2.8 Polyfenoly

Polyfenoly tvoří velice rozsáhlou heterogenní skupinu sloučenin, které se vyskytují prakticky ve všech potravinách. Uplatňují se jako vonné i chuťové látky, přírodní barviva či antioxidanty [16]. Právě jejich antioxidační vlastnosti jsou často zkoumány v souvislosti s možnou prevencí nemocí spojených s oxidačním stresem, jako jsou kardiovaskulární, nádorová a neurodegenerativní onemocnění. Polyfenoly se dělí do čtyř skupin, a to na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany [21].

Obsah celkových polyfenolů v plodech PsL se pohybuje v širokém rozmezí, a to 400–620 mg GAE/100 g FW [18]. Polyfenoly vykazují širokou škálu biologických účinků, jako je antioxidační, antibakteriální, antialergický, protizánětlivý, hepatoprotektivní, antitrombotický, antikarcinogenní, antivirový či vazodilatační efekt [14].

2.2.8.1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou aromatické hydroxykyseliny odvozené od kyseliny benzoové a kyseliny skořicové. Deriváty kyseliny benzoové jsou kyselina vanillová, gallová, ellagová a další látky, které jsou součástí hydrolyzovatelných třísloviny. Deriváty kyseliny skořicové jsou kyselina p-kumarová, kávová, ferulová aj. Obsah fenolových kyselin se u různých druhů ovoce liší jak kvantitativně, tak kvalitativně a je značně závislý na stádiu zralosti a podmínkách růstu. Fenolové kyseliny i jejich deriváty vykazují blahodárné antioxidační účinky [16].

Plody PsL obsahují přibližně 56,50 mg hydroxyskořicových kyselin/100 g DW a 21,66 mg hydroxybenzoových kyselin/100 g DW [22].

2.2.8.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou velice rozsáhlá samostatná skupina rostlinných fenolů, které se svými vlastnostmi významně odlišují od ostatních fenolových pigmentů. Flavonoidy jsou odvozeny od tzv. flavanu, což je kyslíkatá heterocyklická sloučenina 2H-chromenu substituovaného v poloze C-2 fenylovou skupinou. Flavonoidy a jejich deriváty se vyskytují jako volné látky, častěji jsou však ve formě glykosidů případně polymerů. Podle stupně oxidace C_3 řetězce jsou rozeznávány základní struktury, a to flavonoly, flavony, flavanony, flavanonoly, anthokyanidiny, leukoanthokyanidiny a katechiny (flavanoly). Některé flavonoidy jsou důležitými rostlinnými pigmenty, jiné jsou významné pro svou trpkou a hořkou chuť nebo biologické účinky [19]. Jedním z významných biologických efektů je vynikající schopnost flavonoidů vychytávat většinu typů oxidujících molekul, a to včetně singletového kyslíku a volných radikálů. Právě tyto molekuly jsou velmi pravděpodobně zodpovědné za poškozování DNA a podporu vzniku nádorových onemocnění [14].

Flavonoidy jsou jak barevné, tak bezbarvé sloučeniny. Z flavonoidních pigmentů jsou nejvýznamnější především anthokyanidiny a anthokyany. Dalšími barevnými flavonoidními látkami jsou flavony a flavonoly, což jsou důležité žluté pigmenty. Bezbarvými flavonoidy jsou katechiny a leukoanthokyanidiny, z nichž v procesu enzymového hnědnutí vznikají hnědé pigmenty. Z bezbarvých leukoanthokyanidinů mohou v kyselém prostředí při zpracování vznikat barevné anthokyanidiny. Oligomery a polymery těchto bezbarvých flavonoidů jsou významné pro svou trpkou svíravou chuť a řadí se mezi kondenzované tanniny [19].

Obsah celkových flavonoidů v plodech trnky obecné vyjádřených na katechin je přibližně 8,68 mg CAE/g extraktu [14].

2.2.8.2.1 Anthokyany a anthokyanidiny

Anthokyany a anthokyanidiny jsou nejvíce rozšířenou skupinou rostlinných pigmentů. Rostlinným materiálům propůjčují atraktivní červenou, fialovou, modrou, vzácněji žlutou a oranžovou barvu. Základní strukturou všech anthokyanů a anthokyanidinů je flavyliový kation (2-fenylbenzopyryliový kation). Lze je nalézt v ovoci různých odrůd, především jsou zastoupeny v rostlinách čeledi révovité (*Vitaceae*) a růžovité (*Rosaceae*) [19]. Trnka obecná je čeledi růžovité a obsahuje přibližně 40–72 mg anthokyanů na 100 g čerstvých plodů [18].

2.2.8.2.2 Tanniny

Tanniny neboli třísloviny jsou fenolové sloučeniny, které denaturují proteiny slin a následně interagují s proteiny v dutině ústní, což se projeví trpkou a svíravou chutí dané potraviny. Dělí se na hydrolyzovatelné, kondenzované a komplexní třísloviny [16].

Hydrolyzovatelné třísloviny jsou označovány jako polygalloylestery, neboť mají esterově vázanou kyselinu gallovou na D-glukosu, vzácněji na jiné sacharidy. Podle produktů jejich hydrolýzy se dělí na gallotanniny, kdy hydrolýzou vzniká výhradně kyselina gallová, a na ellagotanniny, kdy vzniká kyselina ellagová (dimer kyseliny gallové), případně i kyselina gallová [16]. Kondenzované třísloviny neboli proanthokyanidiny jsou oligomery a polymery

vybraných flavonoidních látek se strukturou 3-hydroxyflavanu. Oligomery z 2–10 flavonových jednotek vykazují adstringentní a hořkou chuť. Polymery chuťové vlastnosti nevykazují, ale jsou významné pro tvorbu barvy, zákalů a sedimentů u nejrůznějších nápojů. Proanthokyanidiny disponují různými fyziologickými účinky, které souvisí s jejich reakcemi s volnými radikály. Mezi tyto účinky se řadí například protizánětlivý efekt či jejich blahodárné působení při vzniku ateroskleróz. Pro ovoce jsou typické 3-flavanoly, resp. katechiny [16]. Plody trnky obecné obsahují přibližně 30,10 mg flavanolů/100 g DW [22].

2.2.9 Karotenoidy

Karotenoidy jsou značně rozšířené lipofilní pigmenty žluté a oranžové, vzácněji žlutozelené a červené barvy. Obsahují osm izoprenových jednotek a řadí se tak mezi terpenoidy. Jejich barevnost je zajištěna řetězcem konjugovaných dvojných vazeb. Rostlinné karotenoidy jsou často asociovány s chlorofyly, kde se účastní fotosyntézy a fotoochrany. Karotenoidy se obecně dělí do dvou základních skupin, a to na karoteny a xanthofyly [14,19].

Nejjednodušším karotenem je acyklický polynenasycený uhlovodík zvaný lykopen. Další karoteny vznikají enzymově katalyzovanou cyklizací. Příkladem takto vzniklých karotenů je α-karoten či β-karoten. Xanthofyly jsou kyslíkaté sloučeniny (alkoholy, ketony aj.) vzniklé hydroxylací alicyklických karotenů [19].

Kvalitativní i kvantitativní složení karotenoidů je závislé na mnoha faktorech, a to na druhu a odrůdě rostliny, zralosti, sezóně, způsobu skladování, zpracování apod. Skupina karotenoidů, které jsou prekurzory vitaminu A (např. β-karoten), se nazývají retinoidy [19].

Trnky obsahují 0,22–0,78 mg β-karotenu/100 g DW. Karotenoidy jsou považovány za hlavní původce antioxidačních vlastností těchto divokých plodů a β-karoten je spojován s pozitivními účinky při rakovinovém onemocnění [14,18].

2.3 Využití plodů trnky obecné

Plody trnky obecné jsou konzumovány již od pradávna. V dřívějších dobách byly tyto divoké plody pojídány v průběhu pracovního dne na polích či loukách. Poskytovaly tělu důležité vedlejší živiny, jako jsou vitaminy, minerální látky a esenciální mastné kyseliny, které nebyly přítomny v každodenní stravě. Trnky jsou často označovány jako „léčivá potravina“, neboť jim je připisována řada preventivních a léčivých účinků [14].

Plody PsL nejsou obvykle konzumovány v syrovém stavu, a to kvůli jejich trpké a svíravé chuti. Bývají však zpracovávány na různé potravinářské výrobky, které jsou známy především pro své léčivé vlastnosti [22]. Čerstvé, zmražené a zpracované plody jsou využívány jak v potravinářství, tak v lidovém léčitelství i farmacii [9]. V posledních letech se *Prunus spinosa L.* stává předmětem řady studií, a to především pro svůj potenciál stát se velmi užitečným materiálem pro nutraceutický, potravinářský i farmaceutický průmysl [12].

2.3.1 Potravinářství

Plody *Prunus spinosa L.* nejsou pro svou trpkou a kyselou chuť zrovna lákavou potravinářskou surovinou. Na druhou stranu se jedná o surovinu bohatou na složky s významnými antioxidačními vlastnostmi. Pozornost je věnována především vysokým obsahům polyfenolů,

anthokyanidinů a vitaminu C [18]. Plody dále obsahují tanniny (třísloviny), které mají velký dietetický význam. Organoleptické vlastnosti trnek se výrazně zlepšují po přemrznutí [23]. (Sikora a kol., 2013) zjistili, že proces zmrazení ani zmražený stav nemá významný vliv na změnu obsahu živin a antioxidačních složek plodů. Během zmrazení dochází také jen k minimálnímu poklesu antioxidační aktivity. Skladování plodů trnky obecné zmrazením lze tedy považovat za vhodný způsob, jak tyto plody zpřístupnit ke zpracování a spotřebě i mimo sezónu [18].

Plody byly, zejména dříve, v domácnostech využívány k výrobě rozmanitých pochutin [23]. Často se trnky zpracovávají na víno, sirupy, likéry, marmelády, želé, kompoty apod. [1,23]. Trnkové víno je sytě červené barvy a pokud jsou použity správné kmeny kvasinek, má chuť velmi blízkou portskému. Zajímavostí je, že víno bývalo dříve připravováno pro oslavy keltského nového roku. Plody jsou též často sušeny, a to v tenkých vrstvách na stinných a vzdušných místech při teplotách do 40 °C. Dobře usušené plody jsou tvrdé s trpkou, svíravou a nakyslou chutí [23].

Charakteristické modrofialové až modročerné zabarvení plodů PsL je výsledkem vysokého obsahu anthokyanů v epikarpu ovoce [1,24]. V posledních letech se zvyšuje zájem o barvící schopnosti anthokyanů, jakožto barviv na přírodní bázi, a tak byl epikarp plodů trnky obecné podroben zkoumání. Již dříve byl identifikován komplexní profil anthokyanů, kde se kyanidin-3-rutinosid a peonidin-3-rutinosid ukázali jako majoritní a byla jim tak přisouzena barvící schopnost ovoce [24].

2.3.2 Lidové léčitelství a farmacie

Plody trnky obecné disponují řadou prospěšných účinků, jako je projímavý, stahující či močopudný (diuretický) efekt, a tak jsou tradičně používány v lidovém léčitelství k léčbě nachlazení, kašle, žaludečních potíží, cukrovky, obezity, respiračních a kardiovaskulárních poruch, chorob močových cest, jako jsou ledvinové kameny atd [9,23].

Většina biologických účinků plodů PsL je přisuzována polyfenolům a karotenoidům. Biologické vlastnosti polyfenolů jsou spojovány především s jejich antioxidační aktivitou a schopností vychytávat volné radikály [14]. Fenolové sloučeniny, jako jsou fenolové kyseliny, flavonoidy nebo anthokyanidiny, vykazují širokou škálu biologických účinků, a to antimikrobiální, antivirový, antifungální, protizánětlivý, antialergický, antidiabetický, hepatoprotektivní, antihemolytický, antitrombotický, spasmolytické, antikarcinogenní či vazodilatační efekt [9,10,14]. Mnohé studie poukazují na spojitost stravy bohaté na polyfenoly s možnou prevencí určitých forem rakoviny, cukrovky, osteoporózy, kardiovaskulárních či neurodegenerativních onemocnění [10,14,21].

Využitelnost biologických vlastností nejen polyfenolů, ale i dalších složek potravy, je značně závislá na jejich stabilitě během procesu trávení. Pouze látky, které nepodléhají rozkladu, mohou být přístupné absorpci do krevního oběhu, kde uplatňují svou biologickou funkci. (Pinacho a kol., 2015) zjistili, že bukální ani žaludeční trávení nemá značný účinek na žádnou z fenolických sloučenin. Poukázaly však na citlivost polyfenolů na mírné alkalické podmínky v tenkém střevě, kde byla značná část fenolických sloučenin během *in vitro* trávení transformována do jiných známých, neznámých nebo nezjištěných strukturních forem s velmi silnou antioxidační aktivitou [6].

Přibližně 40 % moderních léčiv na farmaceutickém trhu je přímo či nepřímo odvozeno od rostlin. Množství slibných biologických účinků plodů trnky obecné je jistě lákadlem pro farmaceutické firmy, avšak trnka obecná patří mezi rostliny, které nebyly doposud z hlediska vědeckého výzkumu dostatečně prozkoumány [2].

2.3.2.1 Antioxidační aktivita

Antioxidanty, respektive látky s antioxidačním efektem mají značný význam z hlediska eliminace volných radikálů, zejména reaktivních forem kyslíku ROS a reaktivních forem dusíku RNS, a ochrany před jejich nežádoucím působením na buňky. Dále antioxidanty eliminují účinky tzv. oxidačního stresu, což je stav narušené dynamické rovnováhy mezi vznikem a odbouráním reaktivních forem kyslíku a dusíku ve prospěch volných radikálů. Narušená rovnováha může mít za následek až poškození biomolekul. Látky s antioxidačním efektem tvoří tzv. přirozený ochranný systém organismu [25,26]. Antioxidanty bývají obecně definovány jako látky, jejichž molekuly omezují aktivitu kyslíkových radikálů a převádějí je do méně reaktivních nebo nereaktivních forem. Jiná definice antioxidantů je charakterizuje jako sloučeniny regulující oxidační pochody v organismu, zabraňující nežádoucím reakcím a poskytující ochranu buněčným strukturám proti volným radikálům [25].

In vitro antioxidačním testům byly podrobeny vodné, ethanolové a acetonové extrakty z plodů PsL. Extrakty byly připraveny 24hodinovou macerací zmražených trnek v destilované vodě, 96% ethanolu a v acetonu. Následně byly extrakty zfiltrovány a vysušeny. Získané hodnoty jsou uvedeny níže v tabulce 5. Ethanolový extrakt se projevil jako nejúčinnější vychytávač volných radikálů DPPH i kation-radikálů ABTS. Naopak nejnižší schopnost záchytu radikálů vykázal acetonový extrakt. Ethanolový extrakt dále vykázal nejlepší schopnost redukovat Fe^{3+} ion, a to na rozdíl od vodného extraktu, který tuto schopnost vykázal nejnižší ze všech studovaných extraktů. V testu na celkovou redukční kapacitu TRC nejvyšší antioxidační aktivitu vykázal vodný extrakt, zatímco nejnižší aktivitu opět projevil acetonový extrakt. Antioxidační aktivita jednotlivých extraktů byla vždy srovnána s kyselinou L-askorbovou a s 3-terc-butyl-4-hydroxyanisolem (BHA). Všechny extrakty téměř vždy vykázaly mnohonásobně nižší antioxidační aktivitu než ony dvě srovnávací sloučeniny [9].

Tabulka 5:Výsledky čtyř in vitro antioxidačních testů tří různých extraktů plodů Prunus spinosa L. [9].

	DPPH IC_{50}[µg/ml]	**ABTS IC_{50}[µg/ml]**	**redukce Fe^{3+} IC_{50}[µmol Fe^{2+}/g DW]**	**TRC IC_{50}[µg/ml]**
vodný extrakt	490,16	216,66	0,01	3 848,00
ethanolový extrakt	257,84	184,43	0,10	4 071,50
acetonový extrakt	606,09	348,16	0,06	8 348,00
kyselina askorbová	3,74	2,33	6,30	8,72
BHA	5,43	–	1,83	10,97

(Sikora a kol., 2013) sledovali a vyjádřili antioxidační aktivitu plodů *Prunus spinosa L.* jako schopnost zhášet kation-radikál ABTS. V případě čerstvého ovoce byla antioxidační aktivita trnek 43,6 µmol Trolox/g materiálu. Hodnota antioxidační aktivity pro zmražené ovoce byla

mírně vyšší, a to 48,5 μmol Trolox/g materiálu. Přestože rozdíl mezi čerstvým a zmraženým ovocem není příliš velký, mohlo k nárůstu antioxidační aktivity dojít v důsledku větší dostupnosti komponent díky poškození buněčných struktur mrazem [18].

Vzhledem k antioxidační aktivitě jsou plody trnky obecné často používány k léčbě chronických onemocnění spojených s oxidačním stresem a produkcí reaktivních forem kyslíku [14].

2.3.2.2 Antimikrobiální a antihemolytická aktivita

V roce 2019 byla detailněji zkoumána *in vitro* antimikrobiální a antihemolytická aktivita plodů *Prunus spinosa L.* Byla potvrzena antibakteriální aktivitu extraktů vůči širokému spektru potenciálně patogenních jak gramnegativních, tak grampozitivních bakterií. Za antimikrobiální účinek jsou zodpovědné především některé fenolové kyseliny a flavonoidy, které způsobují poškození bakteriální membrány a potlačují některé z faktorů virulence. Dále byl potvrzen antihemolytický účinek extraktů, které vykazovaly silnou inhibici hemolýzy lidských erytrocytů [12].

2.3.2.3 Antikarcinogenní aktivita

Vzhledem k vysoké antioxidační aktivitě plodů *Prunus spinosa L.* a řadě dalších biologických účinků, včetně antikarcinogenní aktivity, roste zájem o jejich extrakty. (Meschini a kol., 2017) blízce zkoumali cytotoxické a apoptotická účinky extraktů *Prunus spinosa* ekotypu *Trigno* (PsT) na lidské nádorové buňky, a to ve spojení s komplexem nutraceutického aktivátoru (NAC), který byl vyroben z aminokyselin, vitamínů a směsí minerálních solí. Samotný extrakt PsT ani samotný NAC cytotoxickou aktivitu nevykázaly. Byla však prokázána *in vitro* antikarcinogenní aktivita extraktů PsT doplněných o NAC (PsT + NAC), a to ve všech zkoumaných rakovinových buňkách, u kterých byla indukována apoptotická buněčná smrt. Například při ošetření karcinomu tlustého střeva (PsT 10 mg/ml + NAC) došlo ke snížení životaschopnosti rakovinových buněk přibližně o 40 %. Dále (Meschini a kol., 2017) zkoumali možnosti nahrazení NAC, které se však ukázaly jako neúčinné a potvrdily tak jedinečnost použitého komplexu nutraceutického aktivátoru. Složky NAC pravděpodobně přímo souvisí s antikarcinogenní aktivitou PsT + NAC, kdy mohou například zvyšovat biologickou dostupnost některých sloučenin *Prunus spinosa*, jako jsou flavony, flavonoly, fenolové kyseliny či anthokyany. Vedle buněk karcinomu byly PsT + NAC ošetřeny také zdravé buňky. Ty nebyly žádným způsobem ovlivněny, neboť PsT + NAC se vyznačuje cíleným cytotoxickým účinkem. (Meschini a kol., 2017) předestřeli pokračování výzkumu s cílem možného použití PsT + NAC v kombinaci s osvědčenými chemoterapeutiky, a to za účelem zlepšit účinnost chemoterapeutických léků, snížit jejich dávky a vyvarovat se jejich častým nežádoucím účinkům [27].

2.3.2.4 Antidiabetická aktivita

Jak vodné, tak ethanolové extrakty plodů PsL vykazují potenciální antidiabetický efekt, který je pozorovatelný jako inhibice α-amylasy a α-glukosidasy, což jsou hydrolyzující enzymy sacharidů spojené s onemocněním diabetes mellitus 2. typu. Ethanolový extrakt se projevil jako silný inhibitor α-glukosidasy, což lze připsat vysokému obsahu flavonoidů. Tyto extrakty jsou také slibnými kandidáty pro další výzkum, jakožto přírodní sloučeniny s vhodnými antidiabetickými účinky [9].

2.3.2.5 Inhibice tyrozinázy

Tyrozináza je enzym účastnící se melanogeneze, který je často zmiňován v souvislosti s poruchou melanogeneze, s hyperpigmentací kůže a s dalšími problémy souvisejícími s melaninem. Extrakty plodů PsL vykazují poměrně vysoký potenciál tyrozinázové inhibice, která úzce souvisí s obsahem polyfenolických složek. Potenciál tyrozinázové inhibice byl (Stanković a kol., 2019) sledován ve čtyřech různých extraktech, které byly získány použitím různých rozpouštědel, a to methanolu, 70% ethanolu, 45% propylenglykolu a vody. Obzvláště bohatým na polyfenolické sloučeniny byl extrakt využívající 45% propylenglykol jakožto rozpouštědlo. Tento extrakt také vykázal nejvyšší inhibici tyrozinázy. Extrakty z plodů *Prunus spinosa L.* se jeví jako vyhovující k prevenci poruch souvisejících s melaninem a pro výrobu doplňků stravy [28].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část této bakalářské práce byla provedena na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně. Pro měření bylo použito vybavení a laboratoř náležící Ústavu chemie potravin a biotechnologií.

3.1 Chemikálie

- destilovaná voda
- 96% ethanol
- monohydrát D-glukosy – p. a., Lach-ner, Česká republika
- 3,5-dinitrosalicylová kyselina – Sigma-Aldrich, Německo
- hydroxid sodný – p. a., Penta, Česká republika
- hydrogenuhličitan sodný – p. a., Lach-ner, Česká republika
- bezvodý síran sodný – p. a., Lach-ner, Česká republika
- vínan sodno-draselný – p. a., Lachema, Česká republika
- pentahydrát síranu měďnatého – p. a., Penta, Česká republika
- molybdenan amonný – p. a., Lach-ner, Česká republika
- 96% kyselina sírová – p. a., Lach-ner, Česká republika
- heptahydrát hydrogenarseničnan sodný – Lachema, Česká republika
- monohydrát kyseliny gallové – Penta, Česká republika
- Folin-Ciocalteuovo činidlo – Penta, Česká republika
- bezvodý uhličitan sodný – p. a., Lach-ner, Česká republika
- katechin – p. a., Sigma-Aldrich, Německo
- bezvodý chlorid hlinitý – p. a., Lach-ner, Česká
- dusitan sodný – Penta, Česká republika
- kyselina askorbová – Lach-ner, Česká republika
- 2,6-dichlorfenolindofenol – Sigma-Aldrich, Německo
- kyselina monohydrogenfosforečná – VWR Prolabo Chemicals, USA
- ABTS – Sigma-Aldrich, Německo
- peroxodisíran draselný – Sigma-Aldrich, Německo
- 96% UV-VIS ethanol – Penta, Česká republika
- TROLOX – Sigma-Aldrich, Německo

3.2 Přístroje a pomůcky

- spektrofotometr – SPEKOL 1300, UV/VIS, Analytik Jena, Německo
- analytické váhy – OHAUS, Pioneer, Švýcarsko
- termostat – HUBER, Polystat cc1, Německo
- magnetická míchačka s ohřevem – LAVAT, MM7, Česká republika
- vortex – HEIDOLPH, REAX TOP, Německo
- běžné laboratorní sklo – Simax, Česká republika; SCHOTT DURAN, Německo
- automatické pipety – VITRUM, Česká republika; Eppendorf Research plus, Německo
- špičky na automatické pipety
- plastové zkumavky
- skleněná kyveta, křemenná kyveta
- HPLC/PDA (Photo-diode Array Detector)

3.3 Vzorky

K chemické analýze bylo použito celkem 15 vzorků ethanolových extraktů a produktů z plodů trnky obecné (*Prunus spinosa L.*). Seznam všech použitých vzorků je uveden níže v tabulce 6. Plody trnky obecné byly sbírány v okrajové části města Kroměříž, poblíž toku řeky Moravy. Sběr plodů proběhl začátkem listopadu 2020. Trnky byly očištěny a před dalším zpracováním uchovány při teplotě –18 °C po dobu 3–4 týdnů.

Rozmražené trnky byly použity pro přípravu domácího trnkového vína (obrázek 2 A) a domácího trnkového likéru (obrázek 2 B). Zbylá část plodů byla sušena při teplotě 40 °C a následně použita pro přípravu ethanolových extraktů (obrázek 3). Vedle připravovaných produktů byl pro měření použit také jeden zakoupený produkt, a to přírodní neslazená trnková šťáva od výrobce Bos Food Düsseldorf Lebensmittel Großhandels GmbH (obrázek 2 C).

Tabulka 6: Seznam použitých vzorků ethanolových extraktů a produktů z plodů trnky obecné.

vzorek č.	druh produktu	zkratka
1	domácí trnkové víno	víno
2	domácí trnkový likér	likér
3	trnková šťáva	šťáva
4	ethanolový extrakt (40% EtOH + 20 g PsL; 7 dní)	EX20G07D
5	ethanolový extrakt (40% EtOH + 40 g PsL; 7 dní)	EX40G07D
6	ethanolový extrakt (40% EtOH + 60 g PsL; 7 dní)	EX60G07D
7	ethanolový extrakt (40% EtOH + 20 g PsL; 14 dní)	EX20G14D
8	ethanolový extrakt (40% EtOH + 40 g PsL; 14 dní)	EX40G14D
9	ethanolový extrakt (40% EtOH + 60 g PsL; 14 dní)	EX60G14D
10	ethanolový extrakt (40% EtOH + 20 g PsL; 20 dní)	EX20G20D
11	ethanolový extrakt (40% EtOH + 40 g PsL; 20 dní)	EX40G20D
12	ethanolový extrakt (40% EtOH + 60 g PsL; 20 dní)	EX60G20D
13	ethanolový extrakt (40% EtOH + 20 g PsL; 28 dní)	EX20G28D
14	ethanolový extrakt (40% EtOH + 40 g PsL; 28 dní)	EX40G28D
15	ethanolový extrakt (40% EtOH + 60 g PsL; 28 dní)	EX60G28D

3.3.1 Domácí trnkové víno

Ve 2,5 l vroucí vody bylo spařeno 2,5 kg rozmražených a rozmačkaných trnek. Směs se na mírném ohni vařila 15 minut a následně se za horka vylisovala. V horké vylisované šťávě bylo rozpuštěno 200 g krystalového cukru a ½ balíčku živné soli pro kvasinky značky Vínka. Po zchladnutí šťávy byly přidány aktivované vinné kvasinky. Šťáva se nechala 3 dny v uzavřeném demižónu nakvasit. Po třech dnech byl k nakvašené šťávě přidán cukerný roztok, který byl připraven rozpuštěním 650 g krystalového cukru v 0,5 l vody. Obsah demižónu byl promíchán a nádoba byla zase uzavřena kvasnou zátkou. Po 7 dnech byl znovu přidán cukerný roztok, který byl opět připraven rozpuštěním 650 g krystalového cukru v 0,5 l vody. Po promíchání obsahu a uzavření demižónu se roztok nechal kvasit. Po 6 týdnech bylo víno přefiltrováno přes nylonovou tkaninu, stočeno do skleněných lahví a skladováno při teplotě 4 °C [29].

3.3.2 Domácí trnkový likér

Ve velké sklenici bylo smícháno 0,5 l domácí slivovice (obsah alkoholu cca 50 %), 300 g rozmražených trnek, 4 roztlučené hřebíčky, 1 roztlučený badyán, 1 celá skořice a 300 g medu. Vše bylo důkladně promícháno a směs se nechala 14 dní macerovat, každý den byla protřepána. Po 2 týdnech byl likér scezen a následně skladován ve skleněných lahvích při teplotě 4 °C.

Obrázek 2: Analyzované vzorky produktů z plodů trnky obecné (Prunus spinosa L.):

A – Domácí trnkové víno

B – Domácí trnkový likér

C – Koupená trnková šťáva (fotografie byla převzata z [30] a upravena)

3.3.3 Ethanolové extrakty

Do malých skleniček bylo naváženo přibližně 20 g, 40 g a 60 g usušených trnek. Přesné navážky suchých plodů jsou uvedeny níže v tabulce 7. Následně bylo ke každé navážce přidáno 100 ml 40% ethanolu a nechala se různě dlouho dobu probíhat extrakce.

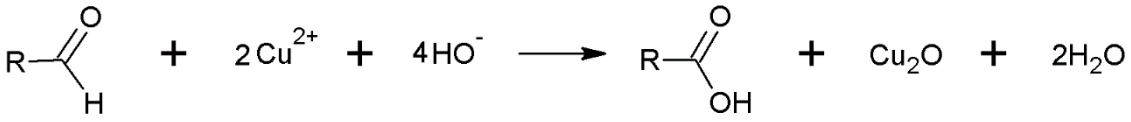
Tabulka 7: Navážky suchých plodů trnky obecné a doba macerace jednotlivých ethanolových extraktů.

sada vzorků č.	navážka suchých trnek [g]			délka extrakce [dny]
1	20,49	40,84	60,76	7
2	20,38	40,67	60,08	14
3	20,20	40,96	60,92	20
4	20,23	40,35	60,68	28

Obrázek 3: Příprava ethanolových extraktů z plodů trnky obecné (Prunus spinosa L.) – cezení.

3.4 Stanovení redukujících sacharidů podle Somogyi-Nelsona

Metoda je založena na redukci měďnaté soli (Cu^{2+}) v alkalickém prostředí za zvýšené teploty (100 °C) na měďnou sůl (Cu^{+}), která následně s Nelsonovým činidlem vytváří modrozelený komplex (obrázek 4), jehož koncentrace se stanoví spektrofotometricky při vlnové délce 720 nm [31].



Obrázek 4: Schéma reakce vedoucí ke vzniku molybdenové modři – redukce arsenomolybdenové kyseliny měďnými ionty (Cu^{+}).

Pro stanovení redukujících sacharidů podle Somogyi-Nelsona (SN) byl použit upravený postup popsaný (Káš a kol., 2006). V první řadě byly připraveny výchozí roztoky, a to Somogyiho činidlo I a II a Nelsonovo činidlo (tabulka 8). Pro sestrojení kalibrační závislosti byl do skleněných zkumavek pipetován 1 ml standardního roztoku D-glukosy (Glu) zředěného destilovanou vodou na koncentraci 0,0056; 0,0111; 0,0222; 0,0333; 0,0444; 0,0555 g/l. Následně bylo do zkumavek pipetováno 0,5 ml Somogyiho činidla I a 0,5 ml Somogyiho činidla II. Roztok byl důkladně promíchán a ponechán 10 minut ve vroucí vodní lázni. Po ochlazení studenou vodou bylo přidáno 0,5 ml Nelsonova činidla a roztok byl důkladně promícháván až do rozpuštění sraženiny oxidu měďného. Poté byly zkumavky doplněny

destilovanou vodou na celkový objem 10 ml a po promíchání roztoků byla na spektrofotometru ve skleněných kyvetách změřena absorbance při vlnové délce 720 nm proti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem jako řada kalibračních roztoků, avšak namísto roztoku D-glukosy byl použit 1 ml destilované vody [31].

Postup měření vzorků byl shodný s měřením kalibrační závislosti, a to pouze s jedinou výjimkou. Namísto 1 ml standardního vodného roztoku D-glukosy byl pipetován 1 ml vhodně naředěného roztoku vzorku [31].

Koncentrace redukujících sacharidů ve vzorku byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti (obrázek P 1):

$$y = 18{,}9476x \tag{1}$$

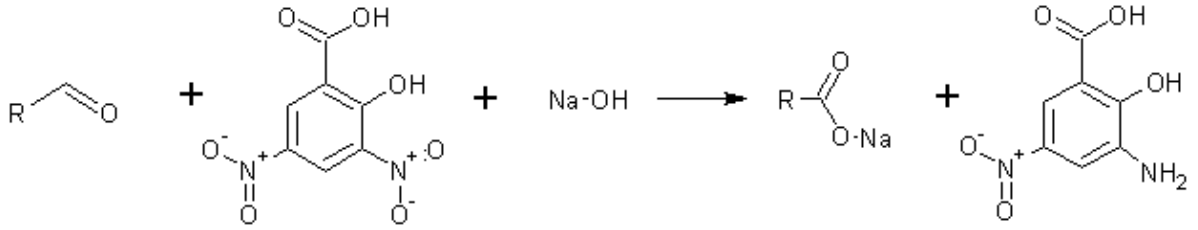
a výsledky byly vyjádřeny jako g Glu/l vzorku.

Tabulka 8: Výchozí roztoky pro stanovení redukujících sacharidů podle Somogyi-Nelsona [31].

Somogyiho činidlo I		**Somogyiho činidlo II**		**Nelsonovo činidlo**	
bezvodý Na_2CO_3	24 g	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	4 g	molybdenan amonný	25 g
$NaHCO_3$	16 g	bezvodý Na_2SO_4	24 g	konc. H_2SO_4	21 ml
bezvodý Na_2SO_4	144 g	destilovaná voda	200 ml	$Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$	3 g
vínan sodno-draselný	12 g			destilovaná voda	475 ml
destilovaná voda	800 ml				

3.5 Stanovení redukujících sacharidů pomocí 3,5-dinitrosalicylové kyseliny

Metoda je založena na redukci 3,5-dinitrosalicylové kyseliny působením redukujících sacharidů na kyselinu 3-amino-5-nitrosalicylovou (obrázek 5). Redukce se v alkalickém prostředí projevuje kolorimetricky. Intenzita vzniklého tmavo-oranžového zabarvení, která se proměřuje na spektrofotometru, je úměrná koncentraci redukujících sacharidů ve vzorku [32].



Obrázek 5: Schéma reakce vzniku kyseliny 3-amino-5-nitrosalicylové z 3,5-dinitrosalicylové kyseliny [32].

Pro stanovení redukujících sacharidů pomocí 3,5-dinitrosalicylové kyseliny (DNS) byl použit upravený postup popsaný (Lukešová, 2010). Pro sestrojení kalibrační závislosti bylo do skleněných zkumavek pipetován 0,5 ml standardního roztoku D-glukosy (Glu) zředěného destilovanou vodou na koncentraci 1,097; 2,194; 3,291; 4,388a 5,485 g/l. Následně bylo do zkumavek pipetováno 500 µl činidla DNS, které bylo připraveno rozpuštěním 2,0 g

3,5-dinitrosalicylové kyseliny a 20 g hydroxidu sodného v destilované vodě a doplněním odměrné baňky na objem 1 l. Roztoky byly následně 10 minut inkubovány při teplotě 70 °C. Po ochlazení bylo do zkumavek přidáno 9 ml destilované vody, roztoky byly důkladně promíchány a na spektrofotometru byla změřena absorbance při vlnové délce 540 nm proti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem jako řada kalibračních roztoků, avšak namísto roztoku D-glukosy bylo použito 500 µl destilované vody [33].

Postup měření vzorků byl shodný s měřením kalibrační závislosti, a to pouze s jedinou výjimkou. Namísto 500 µl standardního vodného roztoku D-glukosy bylo pipetováno 500 µl vhodně naředěného roztoku vzorku [33].

Koncentrace redukujících sacharidů ve vzorku byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti (obrázek P 2):

$$y = 0{,}0875\text{x} \tag{2}$$

a výsledky byly vyjádřeny jako g Glu/l vzorku.

3.6 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Metoda je založena na přenosu elektronů v alkalickém prostředí z fenolických sloučenin na komplexy fosfowolframové a fosfomolybdenové kyseliny Folin-Ciocalteuova činidla. Intenzita vznikajícího modrého komplexu je proměřována spektrofotometricky při vlnové délce přibližně 750–760 nm. Přesná chemická povaha reakcí stanovení pomocí Folin-Ciocalteuova činidla není známa, ale i tak se jedná o široce používanou metodu pro studium fenolických látek, a to především pro její jednoduchost a reprodukovatelnost [34,35].

Pro stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla (F-C) byl použit postup popsaný (Márová a kol., 2016). Pro sestrojení kalibrační závislosti bylo do skleněných zkumavek pipetováno 100 µl standardního roztoku kyseliny gallové (GAE) zředěného destilovanou vodou na koncentraci 0,0185; 0,0370; 0,0555; 0,1480 a 0,1850 g/l. Následně byl do zkumavek pipetován 1 ml destilované vody a 1 ml zředěného vodného roztoku Folin-Ciocalteuova činidla v poměru 1:9. Roztok byl důkladně promíchán a ponechán 5 minut stát při laboratorní teplotě. Pak byl přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného, roztok byl opět důkladně promíchán a ponechán stát 15 minut při laboratorní teplotě. Poté byla změřena absorbance při vlnové délce 750 nm proti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem jako řada kalibračních roztoků, avšak namísto roztoku kyseliny gallové bylo použito 100 µl destilované vody [34].

Postup měření vzorků byl shodný s měřením kalibrační závislosti, a to pouze s jedinou výjimkou. Namísto 100 µl standardního roztoku kyseliny gallové bylo pipetováno 100 µl vhodně naředěného roztoku vzorku. Každý vzorek byl analyzován ve třech paralelních stanoveních [34].

Koncentrace celkových polyfenolů ve vzorku byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti (obrázek P 3):

$$y = 4{,}1357x \tag{3}$$

a výsledky byly vyjádřeny jako g GAE/l vzorku.

3.7 Stanovení celkových flavonoidů pomocí chloridu hlinitého

Metoda je založena na komplexotvorné reakci molekul flavonoidů s chloridem hlinitým, respektive s kovovým iontem hliníku. Reakcí vznikají stabilní kyselé komplexy s hliníkem jakožto centrálním iontem a 3-hydroxy-4-keto nebo 5-hydroxy-4-keto skupinou flavonů a flavonolů. Současně vznikají komplexy, které jsou labilní vůči kyselému prostředí, k jejichž tvorbě dochází v důsledku spojení hliníku s ortho-dihydroxylovými skupinami α- nebo β- kruhu flavonoidů. Vzniklé komplexy pak způsobují změny v absorpčním spektru flavonoidů, a to v důsledku zvýšeného konjugačního účinku [36,37].

Pro stanovení celkových flavonoidů pomocí metody s reakcí hlinité soli a dusitanu byl použit postup popsaný (Márová a kol., 2016). Pro sestrojení kalibrační závislosti bylo do 6 zkumavek pipetováno 50; 100; 200; 250; 300 a 400 µl standardního roztoku katechinu (CAE) o koncentraci 0,308 g/l a zkumavky byly doplněny destilovanou vodou na 500 µl. Následně bylo do zkumavek pipetováno 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku dusitanu sodného. Roztok byl důkladně promíchán a ponechán 5 minut stát při laboratorní teplotě. Poté bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého. Po důkladném promíchání a 5minutovém odstání bylo přidáno 1,5 ml 1 M roztoku hydroxidu sodného a 1 ml destilované vody. Vzniklý roztok byl znovu důkladně promíchán a ponechán 15 minut stát při laboratorní teplotě. Po uplynutí této doby byl roztok zase promíchán a byla změřena absorbance při vlnové délce 510 nm proti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem jako řada kalibračních roztoků, avšak namísto roztoku katechinu bylo použito 500 µl destilované vody [34].

Postup měření vzorků byl shodný s měřením kalibrační závislosti, a to pouze s jedinou výjimkou. Namísto 500 µl standardního roztoku katechinu bylo pipetováno 500 µl vhodně naředěného roztoku vzorku [34].

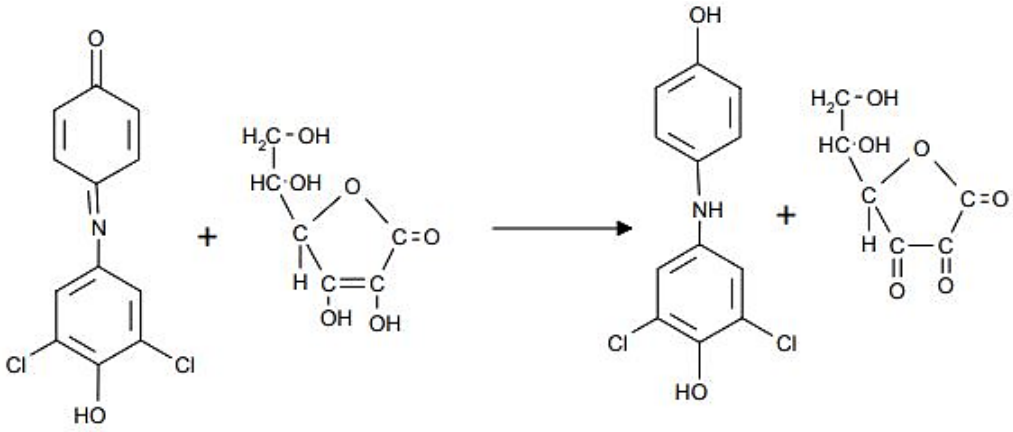
Koncentrace celkových flavonoidů ve vzorku byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti (obrázek P 4):

$$y = 3{,}3057\text{x} \tag{4}$$

a výsledky byly vyjádřeny jako g CAE/l vzorku.

3.8 Stanovení kyseliny askorbové titračně 2,6-dichlorfenolindofenolem

Metoda je založena na snadné oxidovatelnosti kyseliny askorbové, která je titrována odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu v prostředí monohydrogenfosforečné kyseliny. Konec titrace je indikován změnou zabarvení titrovaného roztoku z modrého do světle růžového. Kyselina askorbová se během titrace oxiduje na kyselinu 2,3-dehydroaskorbovou a 2,6-dichlorfenolindofenol přehází na bezbarvou leukobázi (obrázek 6). Metodu lze použít pro většinu potravinářských výrobků, avšak nejpřesnější výsledky poskytuje pro vzorky s nízkým obsahem kyseliny askorbové (vitaminu C) [31,38].



Obrázek 6: Schéma reakce vzniku kyseliny 2,3-dehydroaskorbové [31].

Pro stanovení kyseliny askorbové (vitaminu C) byla použita titrační metoda s odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu jejíž postup byl popsán (Hrstka a kol., 2019). V první řadě byl připraven standardní roztok kyseliny askorbové (AA) o koncentraci 1 g/l, a to rozpuštěním 100 mg kyseliny askorbové v 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné a roztok byl doplněn v odměrné baňce na 100 ml. Následně byl do titrační baňky pipetován 1 ml standardního roztoku kyseliny askorbové k němuž bylo přidáno 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné. Směs byla titrována odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do prvního růžového zabarvení roztoku, které bylo trvalé déle než 15 sekund. Celkem byly provedeny tři titrace standardního roztoku kyseliny askorbové, z nichž byla stanovena průměrná spotřeba odměrného roztoku, a jedna titrace 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné jako slepý pokus [38].

Postup měření vzorků byl obdobný jako postup měření kalibrační závislosti. Do titrační baňky bylo pipetováno 10 ml vhodně naředěného roztoku vzorku a 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné. Směs byla následně titrována odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do dosažení bodu ekvivalence, který je indikován vznikem světle růžového zabarvení roztoku. U každého vzorku byla titrace provedena celkem třikrát. [38]

Koncentrace kyseliny askorbové ve vzorku se vypočítá ze získaných objemů spotřeby odměrného roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu:

$$f = \frac{V_a}{V_b - V_c} \tag{5}$$

$$m_{(kys.ask.)} = \frac{(V - V_c) \cdot f \cdot f_{zř}}{V_{vz}} \tag{6}$$

kde V_a je pipetovaný objem standardního roztoku kyseliny askorbové, V_b je objem spotřeby odměrného roztoku při titraci standardu kyseliny askorbové, V_c je objem spotřeby odměrného roztoku při titraci slepého pokusu, V je objem průměrné spotřeby odměrného roztoku při titraci vzorku, f je přepočítávací faktor pro vyjádření mg kyseliny askorbové na 1 ml titračního činidla, $f_{zř}$ je faktor zředění a V_{vz} je pipetovaný objem vzorku [38]. Výsledky bývají vyjádřeny jako mg AA/l vzorku.

3.9 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS

Metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) je založena na hodnocení schopnosti vzorku eliminovat kation-radikál ABTS. Výsledná antiradikálová aktivita vzorku je následně srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické standardní látky zvané Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Uvedený kation-radikál ABTS vzniká reakcí ABTS (2,2´-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)) s peroxodisíranem. Antioxidanty obsažené ve vzorku, které se chovají jako donory vodíku, způsobují odbarvení modrozelené reakční směsi. Zhášení je tak pozorováno spektrofotometricky prostřednictvím změn absorpčního spektra při vlnové délce 734 nm, kdy míra poklesu absorbance odpovídá koncentraci antioxidantů ve vzorku [34].

Pro stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí metody TEAC byl použit postup popsaný (Márová a kol., 2016). V první řadě byl připraven roztoku kation-radikálu ABTS. ABTS bylo rozpuštěno v destilované vodě na koncentraci 7 mM. Následně byl přidán 2,45 mM roztok peroxodisíranu draselného. Reakcí vznikl modrozelený roztok kation-radikálu ABTS, který byl ponechán minimálně 12 hodin ve tmě při laboratorní teplotě. Před samotným použitím byl roztok zředěn ethanolem pro UV-VIS spektrofotometrické stanovení při vlnové délce 734 nm na absorbanci 0,70±0,02 [34].

Pro sestrojení kalibrační závislosti byl do zúžené kyvety pipetován 1 ml naředěného roztoku kation-radikálu ABTS a 10 µl 60% roztoku ethanolu. Ihned poté byla změřena absorbance v čase 0 minut (A_0) při vlnové délce 734 nm. Následně byl do zúžených kyvet pipetován 1 ml naředěného roztoku kation-radikálu ABTS a 10 µl roztoku standardu Trolox zředěného 60% roztokem ethanolu na koncentraci 75; 150; 200 a 400 mg/l. Směs byla promíchána a kyvety byly ponechány ve tmě. V 10. minutě byla na spektrofotometru změřena absorbance (A_{10}) proti slepému vzorku, kterým byl 60% roztok ethanolu [34].

Postup měření vzorků byl obdobný jako postup měření kalibrační závislosti. Do zúžené kyvety byl pipetován 1 ml naředěného roztoku kation-radikálu ABTS a 10 µl destilované vody. Ihned poté byla změřena absorbance v čase 0 minut (A_0) při vlnové délce 734 nm. Následně byl do dalších kyvet pipetován 1 ml připraveného roztoku kation-radikálu ABTS, dále bylo přidáno 10 µl vzorku, směs byla promíchána a kyvety byly ponechány ve tmě při laboratorní teplotě. V 10. minutě byl změřen pokles absorbance (A_{10}), a to celkem třikrát pro každý vzorek. Jako blank byl použit UV-VIS ethanol [34].

Celková antioxidační aktivita vzorku byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti (obrázek P 5):

$$y = 0{,}3194x \tag{7}$$

kde byl za y dosazen rozdíl absorbancí v čase 0 minut (A_0) a 10 minut (A_{10}):

$$A = A_0 - A_{ø10} \tag{8}$$

a výsledky byly vyjádřeny jako mmol TE/l vzorku.

3.10 Statistická analýza dat

Všechna experimentální měření byla provedena v trojím paralelním provedení. Výsledky jsou uvedeny jako jejich průměrná hodnota ± směrodatná odchylka (SD). Směrodatná odchylka byla získána z naměřených hodnot pomocí funkce SMODCH.VÝBĚR v programu MS EXCEL a v grafech je znázorněna jako chybová úsečka.

Získaná data byla dále analyzována a statisticky vyhodnocena v programu OriginPro 2018 64-bit pomocí techniky pro analýzu rozptylu One-Way ANOVA a Tukey srovnávacího testu s hladinou významnosti 5 %.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Porovnání dvou spektrofotometrických metod pro stanovení redukujících sacharidů ve vzorcích produktů a extraktů z plodů trnky obecné

Všechny vzorky byly analyzovány metodou podle Somogyi-Nelsona (SN) a metodou s 3,5-dinitrosalicylovou kyselinou (DNS), a to vždy ve třech paralelních stanoveních. Cílem bylo určit vhodnější metodu pro stanovení redukujících sacharidů v analyzovaných vzorcích produktů a extraktů z plodů PsL. Výsledky jednotlivých měření jsou i se směrodatnými odchylkami uvedeny níže v tabulce 9 a 10 a na obrázku 7 a 8. Koncentrace celkových redukujících sacharidů ve vzorku (TRS) je vždy uváděna jako g/l vzorku.

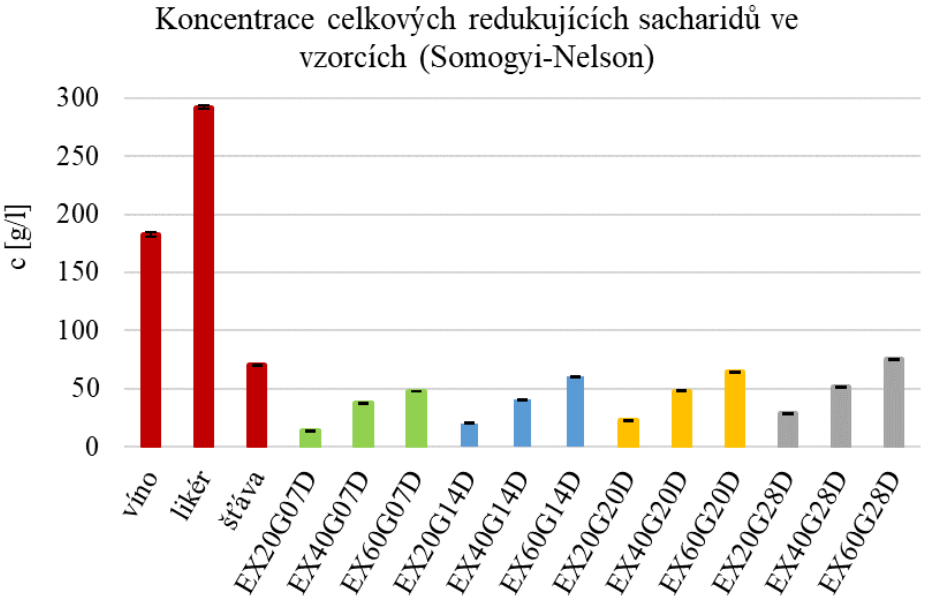
Tabulka 9: Hodnoty koncentrací celkových redukujících sacharidů v g/l vzorku s příslušnými směrodatnými odchylkami (SD) získané metodou podle Somogyi-Nelsona.

vzorek	c [g/l]			průměr c [g/l]	SD [g/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
víno	184,66	182,49	180,33	182,49	2,16
likér	291,93	290,85	293,56	292,11	1,36
šťáva	70,29	70,08	70,72	70,36	0,27
EX20G07D	13,77	13,28	13,72	13,59	0,22
EX40G07D	38,01	38,01	37,91	37,98	0,05
EX60G07D	47,32	47,32	47,32	47,32	0,00
EX20G14D	20,81	19,83	19,83	20,16	0,56
EX40G14D	40,53	41,18	40,53	40,74	0,37
EX60G14D	60,23	60,23	60,77	60,41	0,31
EX20G20D	22,43	22,70	22,27	22,46	0,22
EX40G20D	47,89	47,56	48,43	47,96	0,44
EX60G20D	64,88	64,45	63,91	64,41	0,49
EX20G28D	28,49	28,44	28,65	28,53	0,11
EX40G28D	51,14	51,89	51,35	51,46	0,39
EX60G28D	75,05	74,84	75,60	75,16	0,39

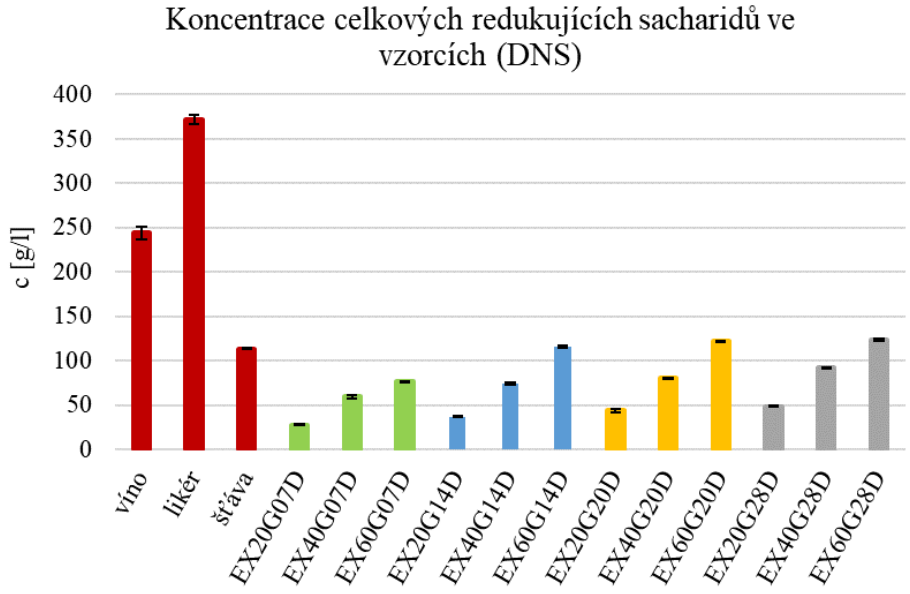
Tabulka 10: Hodnoty koncentrací celkových redukujících sacharidů v g/l vzorku s příslušnými směrodatnými odchylkami (SD) získané metodou s 3,5-dinitrosalicylovou kyselinou.

vzorek	c [g/l]			průměr c [g/l]	SD [g/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
víno	252,25	237,34	241,93	243,84	7,63
likér	369,76	367,47	377,79	371,67	5,42
šťáva	114,89	114,20	112,13	113,74	1,17
EX20G07D	28,66	27,92	27,40	28,00	0,52
EX40G07D	60,88	61,57	57,10	59,85	1,97
EX60G07D	76,47	76,47	75,56	76,17	0,43
EX20G14D	37,09	37,09	36,46	36,88	0,36
EX40G14D	73,26	75,10	74,18	74,18	0,92

vzorek	c [g/l]			průměr c [g/l]	SD [g/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
EX60G14D	114,89	117,64	116,26	116,26	1,38
EX20G20D	45,18	41,74	44,37	43,76	1,80
EX40G20D	80,49	81,29	79,91	80,56	0,69
EX60G20D	122,45	122,45	121,77	122,22	0,40
EX20G28D	48,96	48,39	48,62	48,65	0,29
EX40G28D	91,73	92,65	92,87	92,42	0,61
EX60G28D	125,43	123,60	122,91	123,98	1,30



Obrázek 7: Graf hodnot koncentrací redukujících sacharidů v g/l vzorku získaných metodou podle Somogyi-Nelsona s příslušnými směrodatnými odchylkami, které jsou znázorněny jako chybové úsečky.



Obrázek 8: Graf hodnot koncentrací redukujících sacharidů v g/l vzorku získaných pomocí DNS s příslušnými směrodatnými odchylkami, které jsou znázorněny jako chybové úsečky.

Koncentrace redukujících sacharidů stanovené metodou podle Somogyi-Nelsona se u všech zkoumaných vzorků pohybovaly v rozmezí 13,59–292,11 g/l (tabulka 9, obrázek 7), zatímco koncentrace stanovené metodou s DNS byly značně vyšší a pohybovaly se v rozmezí 28,00–371,67 g/l (tabulka 10, obrázek 8). Rozdílnost výsledků z SN a DNS metody byla očekávána, neboť odlišná citlivost těchto dvou metod byla v literatuře popsána již dříve [39,40]. Podle (Deng a kol., 1994) je metoda podle Somogyi-Nelsona výrazně citlivější než metoda s DNS a disponuje širokým rozsahem detekce [39]. (Yijing a kol., 2018) zase zmiňují nadhodnocenost výsledků z DNS metody, a to zejména v případě použití glukosy jako standardu, neboť v průběhu stanovení dochází k nadměrné oxidaci sacharidů s větším počtem vazeb, což je příčinou vyšších hodnot absorbancí [40]. Přestože jsou výsledky získané z SN i DNS metody zatíženy jistou chybou, jedná se o metody vhodné k rychlému a jednoduchému, orientačnímu stanovení obsahu redukujících cukrů. Dle předpokladu SN metoda poskytla nižší hodnoty TRS, které jsou pravděpodobně bližší skutečnému obsahu redukujících cukrů ve vzorku než hodnoty získané DNS metodou.

U obou metod byl pozorován stejný trend růstu hodnot (obrázek 7, obrázek 8). Ze zkoumaných vzorků produktů (tj. víno, likér a šťáva) nejvyšší hodnotu TRS vykázal vzorek likéru (292,11±1,36 g/l, resp. 371,67±5,42 g/l). Naproti tomu nejnižší hodnota TRS byla detekována u vzorku šťávy (70,36±0,27 g/l, resp. 113,74±1,17 g/l). Pro trnkovou šťávu byl na obalu výrobcem uveden obsah celkových sacharidů 70 g/kg (z toho cukrů 70 g/kg), což je hodnota přibližně odpovídající výsledkům stanovení TRS podle Somogyi-Nelsona. Hodnotu obsahu celkových redukujících sacharidů v trnkovém vínu, likéru ani šťávě literatura neuvádí. (Horáková 2009) stanovila průměrný obsah zbytkového cukru pro různé vzorky vín z hroznů vinné révy na 0,12–93,12 g/l [41]. Dle statistické analýzy byly v hodnotách TRS vzorků jednotlivých produktů z plodů PsL významné rozdíly (obrázek P 6, obrázek P 8).

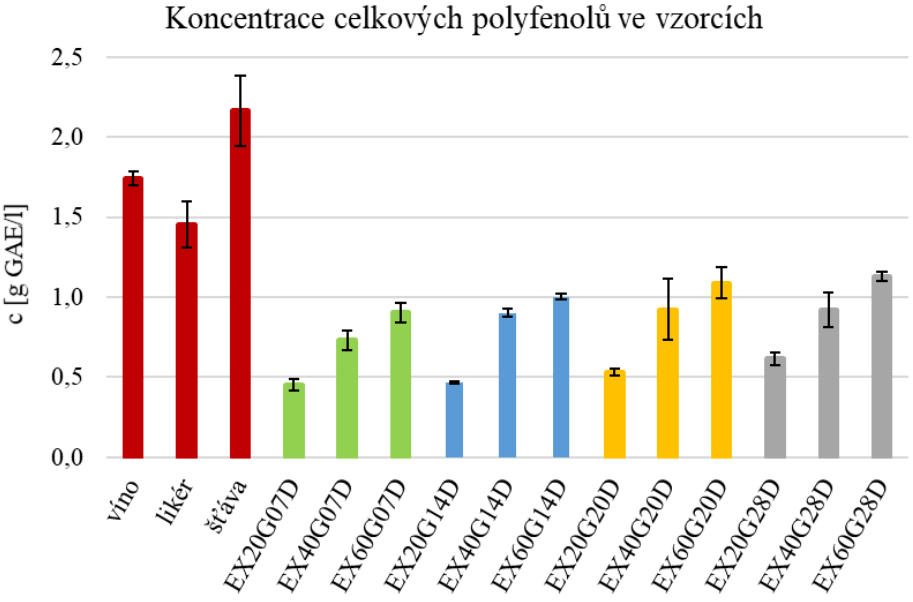
U ethanolových extraktů byla nejvyšší hodnota TRS stanovena ve vzorku EX60G28D (75,16±0,39 g/l, resp. 123,98±1,30 g/l), naopak nejnižší hodnotu TRS měl vzorek EX20G07D (13,59±0,22 g/l, resp. 28,00±0,52 g/l). U jednotlivých ethanolových extraktů byl pozorován trend růstu hodnoty TRS vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL i době macerace. Hodnotu TRS pro ethanolové extrakty z plodů PsL literatura prozatím neuvádí. (Barros a kol., 2010) stanovili celkový obsah sacharidů v lyofilizovaných plodech PsL na 88,51 % DW a celkový obsah cukrů na 37,06 % DW [14]. Podobnou hodnotu obsahu cukrů v plodech PsL 30,48–31,07 g/100 g DW uvádí také (Sikora a kol., 2013) [18]. Ze statistické analýzy vyplynulo, že mezi vzorky extraktů z plodů PsL byly významné rozdíly, co se obsahu redukujících sacharidů týče (obrázek P 7, obrázek P 9). Nepatrný rozdíl byl nalezen pouze u dvojic vzorků extraktů: EX40G14D a EX60G07D, EX40G20D a EX60G07D, EX60G20D a EX60G28D.

4.2 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Všechny vzorky byly analyzovány ve třech paralelních stanoveních. Výsledky jednotlivých měření jsou i se směrodatnými odchylkami uvedeny v tabulce 11 a na obrázku 9. Koncentrace celkových polyfenolů ve vzorku (TPC) je vždy uváděna jako g kyseliny gallové na l vzorku.

Tabulka 11: Hodnoty koncentrací celkových polyfenolů v g GAE/l vzorku s příslušnými směrodatnými odchylkami (SD) získané metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

vzorek	c [g/l]			průměr c [g/l]	SD [g/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
víno	1,720	1,794	1,711	1,742	0,045
likér	1,622	1,389	1,358	1,456	0,144
šťáva	2,477	2,008	2,013	2,166	0,220
EX20G07D	0,451	0,501	0,406	0,453	0,039
EX40G07D	0,671	0,817	0,704	0,730	0,062
EX60G07D	0,884	0,986	0,844	0,905	0,060
EX20G14D	0,471	0,462	0,477	0,470	0,008
EX40G14D	0,897	0,929	0,877	0,901	0,026
EX60G14D	1,020	0,984	1,006	1,003	0,018
EX20G20D	0,537	0,553	0,511	0,534	0,021
EX40G20D	0,855	0,773	1,137	0,922	0,191
EX60G20D	1,026	1,040	1,199	1,088	0,096
EX20G28D	0,573	0,639	0,634	0,615	0,037
EX40G28D	0,800	0,963	1,003	0,922	0,108
EX60G28D	1,155	1,101	1,132	1,129	0,027



Obrázek 9: Graf hodnot koncentrací celkových polyfenolů v g GAE/l vzorku získaných pomocí F-C činidla s příslušnými směrodatnými odchylkami, které jsou znázorněny jako chybové úsečky.

Koncentrace celkových polyfenolů se u všech zkoumaných vzorků pohybovala v rozmezí 0,453–2,166 g GAE/l vzorku. Ze získaných výsledků, které jsou uvedeny výše v tabulce 11 a na obrázku 9, je patrné, že nejvyšší koncentrace fenolických látek byla přítomna ve vzorku šťávy (2,166±0,220 g GAE/l), naopak jejich nejnižší koncentrace byla zjištěna ve vzorku EX20G07D (0,453±0,039 g GAE/l).

Ze zkoumaných vzorků produktů (tj. víno, likér a šťáva) nejvyšší hodnotu TPC vykázal právě vzorek šťávy (2,166±0,220 g GAE/l). Naproti tomu nejnižší hodnota TPC byla detekována u vzorku likéru (1,456±0,1442 g GAE/l). Ze statistické analýzy dat (obrázek P 10) bylo zjištěno, že se právě vzorky likéru a šťávy v hodnotě TPC významně lišily. Rozdílný obsah polyfenolů ve vzorku vína v porovnání s ostatními vzorky nebyl statisticky významný. V literatuře jsou dostupné výsledky stanovení koncentrace celkových polyfenolů v podobných, avšak ne zcela stejných, trnkových likérech. (Sokól-Letowska a kol., 2014) průměrný obsah fenolických látek ve vzorku likéru, který byl připraven 21denní macerací 2 kg plodů trnky obecné v 65% roztoku ethanolu, stanovili na 2,706 g GAE/l, zatímco hodnota TPC našeho vzorku (obsah alkoholu cca 50 %) činila pouze 1,456±0,144 g GAE/l [42]. Mnohem nižší hodnota TPC 2,491 mg GAE/l byla stanovena (González-de-Peredo a kol., 2020) v tradičním španělském likéru zvaném „Pacharán“, který byl připraven 6měsíční macerací 60 g plodů PsL ve 200 ml 24% alkoholu [43]. Značná rozdílnost hodnot TPC u jednotlivých vzorků likérů byla očekávána, neboť při vyjádření této hodnoty v jednotkách g GAE/l produktu hraje významnou roli jak hmotnost navážky plodů, tak doba macerace a v neposlední řadě také obsah alkoholu v použitém rozpouštědle. Literatura uvádí, že k nejlepší extrakci fenolických látek dochází při použití 50% vodného roztoku ethanolu jako rozpouštědla [44–47].Vedle trnkových likérů jsou v literatuře dostupné také výsledky analýzy trnkové šťávy. Obsah celkových polyfenolů ve vzorku čerstvé trnkové šťávy byl (Fraternale a kol., 2009) stanoven na 154,12 g QE/l, a to pomocí metody s pruskou modří [48]. Údaje o identifikaci a kvantifikaci celkových polyfenolů v trnkovém víně, které bylo připraveno fermentací plodů PsL, v literatuře prozatím chybí. Hodnota TPC našeho vzorku vína činila 1,742±0,045 g GAE/l.

U ethanolových extraktů byla nejvyšší hodnota TPC stanovena ve vzorku EX60G28D (1,129±0,027 g GAE/l), naopak nejnižší hodnotu TPC měl vzorek EX20G07D (0,453±0,039 g GAE/l). Na obrázku 9 je na první pohled viditelný trend růstu hodnoty TPC jednotlivých extraktů vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL a době macerace, avšak z pohledu statistické analýzy (obrázek P 11) se v řadě případů nejedná o významný rozdíl. Ze statistické analýzy dat vyplývá, že mezi navážkami 40 g a 60 g při stejné délce macerace nebyl rozdíl hodnot TPC markantní. Z toho lze usoudit, že za daných podmínek k maceraci postačí navážka 40 g suchých plodů PsL. Dále bylo zjištěno, že v případě stejné navážky stačí k dosažení nejvyšší výtěžnosti polyfenolů v extraktu doba macerace 1 týden. V případě delší doby macerace nebyly rozdíly v hodnotách TPC z pohledu statistiky odlišné. Na extrakci jednotlivých sloučenin má vliv řada faktorů, mezi něž se řadí polarita rozpouštědla, teplota, tlak, doba extrakce, působení ultrazvuku apod [9]. Jako nejúčinnější extrakční činidla pro zisk fenolických látek se ukázaly právě alkoholové roztoky. Z pohledu toxicity, jsou preferovány hlavně roztoky ethanolu, mezi nimiž nejvyšší účinnost extrakce opakovaně vykázal 50% vodný roztok ethanolu [44–47].Vedle vlivu podmínek extrakce se na zjištěné hodnotě TPC značně podílí také míra zralosti plodů, genotyp, půdní a podnebné podmínky rostliny (tj. teplota, světlo, nadmořská výška) apod [45]. Významný vliv mají též podmínky skladování samotných vzorků, neboť bylo (Sokól-Letowska a kol., 2014) zjištěno, že stabilita fenolických látek je závislá na době a teplotě skladování [42]. Celkový obsah polyfenolů v extraktech z plodů PsL byl již dříve popsán několika autory [6,9,14,28,44–47]. Poměrně vyšší hodnotu TPC v ethanolovém extraktu (50% EtOH) 30,2 mg GAE/g DW prezentují (Tahirović a kol., 2018), což lze vysvětlit

značnými rozdíly v postupu extrakce (např. rozemletí usušených plodů na prášek), ale také možnou odlišností genotypů plodů [47]. Pro ethanolové extrakty (50% EtOH) připravené z plodů PsL různých genotypů stanovili (Popović a kol., 2020) rozmezí hodnot TPC na 11,10–30,43 mg GAE/g DW [44].

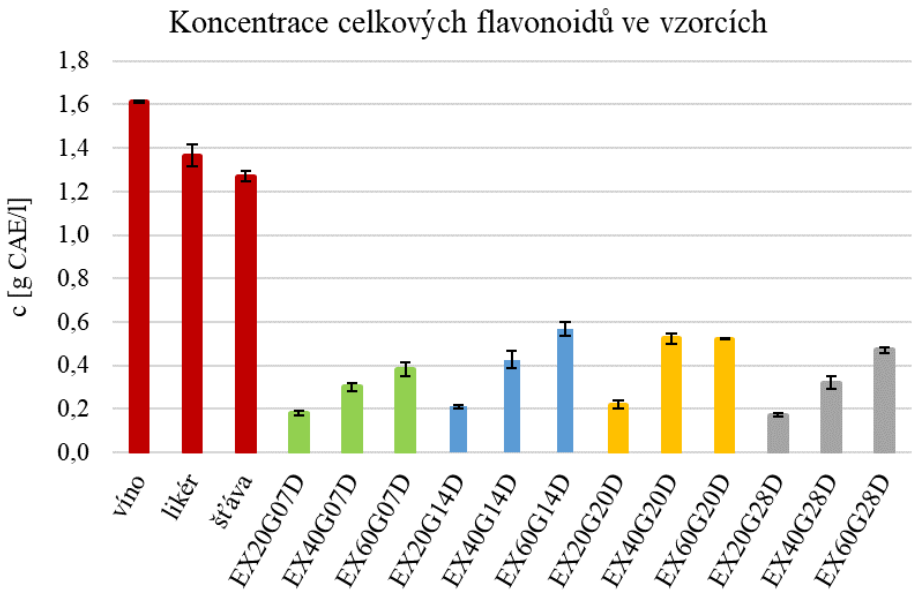
Jelikož byly veškeré výsledky získány metodou používající nespecifické Folin-Ciocalteuovo činidlo, mohlo dojít k jejich ovlivnění v důsledku přítomnosti redukujících cukrů (viz 4.1), aromatických aminů, kyseliny askorbové (viz. 4.4), organických kyselin a dalších složek v roztoku. Výskyt těchto sloučenin často vede k nadhodnoceným výsledkům [42].

4.3 Stanovení celkových flavonoidů pomocí chloridu hlinitého

Všechny vzorky byly analyzovány ve třech paralelních stanoveních. Výsledky jednotlivých měření jsou i se směrodatnými odchylkami uvedeny v tabulce 12 a na obrázku 10. Koncentrace celkových flavonoidů ve vzorku (TFC) je vždy uváděna jako g katechinu na l vzorku.

Tabulka 12: Hodnoty koncentrací celkových flavonoidů v g CAE/l vzorku s příslušnými směrodatnými odchylkami (SD) získané metodou s chloridem hlinitým.

vzorek	c [g/l]			průměr c [g/l]	SD [g/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
víno	1,609	1,618	1,618	1,615	0,005
likér	1,381	1,405	1,308	1,365	0,050
šťáva	1,235	1,293	1,284	1,270	0,026
EX20G07D	0,186	0,190	0,164	0,180	0,011
EX40G07D	0,277	0,309	0,318	0,301	0,018
EX60G07D	0,429	0,367	0,351	0,382	0,033
EX20G14D	0,219	0,206	0,207	0,211	0,007
EX40G14D	0,456	0,442	0,383	0,427	0,038
EX60G14D	0,600	0,537	0,567	0,568	0,031
EX20G20D	0,201	0,234	0,227	0,221	0,018
EX40G20D	0,497	0,538	0,539	0,525	0,024
EX60G20D	0,526	0,517	0,523	0,522	0,005
EX20G28D	0,164	0,178	0,175	0,172	0,008
EX40G28D	0,304	0,303	0,353	0,320	0,029
EX60G28D	0,487	0,456	0,469	0,471	0,015



Obrázek 10: Graf hodnot koncentrací celkových flavonoidů v g CAE/l vzorku získaných pomocí chloridu hlinitého s příslušnými směrodatnými odchylkami, které jsou znázorněny jako chybové úsečky.

Koncentrace celkových flavonoidů se u všech zkoumaných vzorků pohybovala v rozmezí 0,172–1,615 g CAE/l vzorku. Ze získaných výsledků, které jsou uvedeny výše v tabulce 12 a na obrázku 10, je patrné, že nejvyšší koncentrace flavonoidů byla přítomna ve vzorku vína (1,615±0,005 g CAE/l), naopak jejich nejnižší koncentrace byla zjištěna ve vzorku EX20G28D (0,172±0,008 g CAE/l).

Ze zkoumaných vzorků produktů (tj. víno, likér a šťáva) nejvyšší hodnotu TFC vykázal právě vzorek vína (1,615±0,005 g CAE/l). Naproti tomu nejnižší hodnota TFC byla detekována u vzorku šťávy (1,270±0,026 g CAE/l). Ze statistické analýzy dat (obrázek P 12) bylo zjištěno, že se všechny vzorky produktů z plodů PsL v hodnotě TFC významně lišily. Obsah celkových flavonoidů v trnkovém vínu, likéru ani šťávě literatura prozatím neuvádí.

U ethanolových extraktů byla nejvyšší hodnota TFC stanovena ve vzorku EX60G14D (0,568±0,031 g CAE/l), naopak nejnižší hodnotu TFC měl vzorek EX20G28D (0,172±0,008 g CAE/l). U jednotlivých ethanolových extraktů je na obrázku 10 pozorovatelný trend růstu hodnoty TFC vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL, avšak nikoli k době macerace. Růst hodnot TFC byl pozorován pouze u navážek 40 g a 60 g mezi 1. a 2. týdnem macerace, což bylo potvrzeno statistickou analýzou dat (obrázek P 13). Z toho lze usoudit, že k dosažení maximálního přestupu flavonoidů do roztoku stačí za daných podmínek délka macerace 2 týdny. V případě navážky 20 g suchých plodů PsL bylo zjištěno, že k dosažení nejvyšší výtěžnosti flavonoidů v extraktu stačí doba macerace 1 týden. V případě delší doby nebyly rozdíly v hodnotách TFC z pohledu statistiky odlišné. Obsah celkových flavonoidů v extraktech z plodů *Prunus spinosa L.* byl již dříve popsán několika autory, kteří při jejich extrakci použili různé extrakční postupy, různá extrakční činidla či různé standardy [6,9,14,45–47]. (Tahirović a kol., 2018) stanovili hodnotu TFC v ethanolovém extraktu (50% EtOH) vztaženou na dva standardy: rutin (1,538 mg RE/g DW) a kvercetin (1,039 mg QE/g DW) [47]. Možné rozdíly hodnot lze přisoudit řadě faktorů, které byly

diskutovány výše u problematiky polyfenolů (4.2). Vedle ethanolu byl k extrakci používán také methanol, u něhož se extrakce flavonoidů projevila jako mírně účinnější. (Barros a kol., 2010) určili hodnotu TFC pro methanolový extrakt na 8,68 mg CAE/g extraktu [14]. Vzhledem k toxicitě methanolu, je upřednostňována spíše extrakce pomocí ethanolu. Ethanolové extrakty plodů PsL mají značný potenciál pro potravinářský, farmaceutický i kosmetický průmysl [46].

4.4 Stanovení kyseliny askorbové

U všech zkoumaných vzorků se koncentraci kyseliny askorbové pomocí titrační metody s 2,6-dichlorfenolindofenolem nepodařilo stanovit. Stanovení bylo značně rušeno výrazným červeno-růžovým zabarvením jak produktů, tak extraktů z plodů trnky obecné. V případě většího zředění, kdy bylo zabarvení vzorků slabší, byla koncentrace kyseliny askorbové již mimo detekční limit této metody. Do budoucna je tedy vhodné uvažovat úpravu této titrační metody a zařazení potenciometrické indikace bodu ekvivalence namísto té vizuální.

Dále byla snaha obsah kyseliny askorbové ve vzorcích kvantifikovat pomocí metody HPLC, avšak ani běžně používaná metodika pro stanovení vitaminu C nebyla za daných podmínek pro kvantifikaci vitaminu C ve vzorcích z plodů *Prunus spinosa L.* vyhovující. Ve spektrech všech analyzovaných vzorků byly identifikovány vitamin C a vitaminy skupiny B, avšak v důsledku komplexnosti matrice, jež obsahovala velké množství sacharidů, nebylo možné vzorek dostatečně separovat a kvantifikovat tyto vitaminy. V případě kvantifikace by výsledky byly zatíženy vysokou chybou. Do budoucna je tedy nutné vzorky šetrně předupravit a odstranit z nich sacharidy. Jednou z možností, při níž jsou zachovány aktivní formy vitaminů v maximální možné koncentraci, je využití série SPE kolonek s následnou vícenásobnou extrakcí polárními rozpouštědly, jako je například ethanol, methanol, izopropylalkohol apod.

Celkový obsah kyseliny askorbové v trnkovém vínu ani likéru literatura zatím neuvádí. Koncentrace vitaminu C v trnkové šťávě byla stanovena (Erturk a kol., 2009) na 38 mg/l [49]. (Dumbravă a kol., 2011) stanovili koncentrace vitaminu C ve šťávách připravených z různých druhů ovoce a zeleniny, a to například v jablečné šťávě (204 mg/l), šťávě z růžového grapefruitu (816 mg/l) či ve šťávě z červené řepy (680 mg/l) [50].

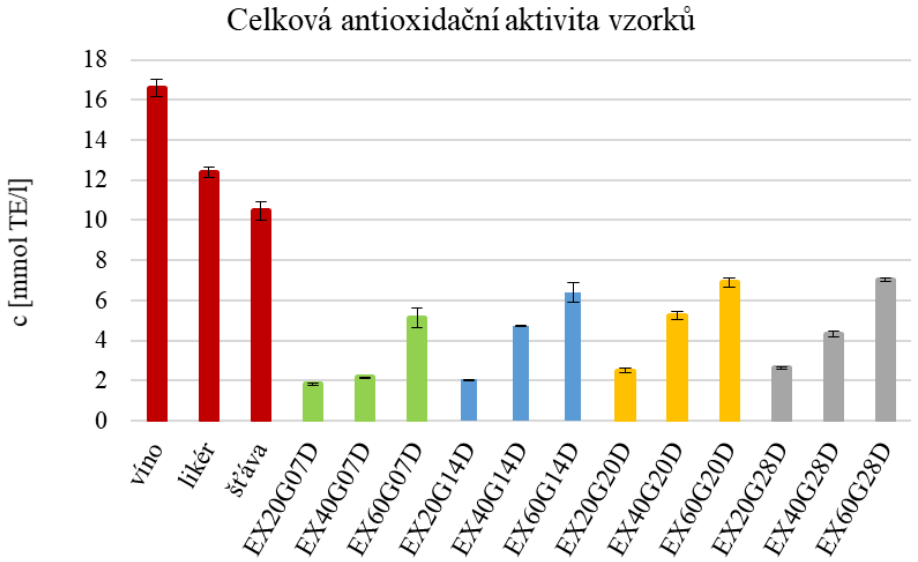
Údaje o celkovém obsahu kyseliny askorbové v ethanolovém extraktu z plodů PsL v literatuře taktéž prozatím chybí. (Dumbravă a kol., 2012) stanovili koncentraci vitaminu C ve vodném a ethanolovém extraktu z plodů švestky *President* na 352,2 mg/l pro vodný a 332,9 mg/l pro ethanolový (96% EtOH) extrakt. Tyto extrakty byly připraveny 1hodinouvou macerací 1 g čerstvých švestek v 10 ml rozpouštědla [51]. (Ozkan 2019) stanovil obsah vitaminu C v plodech PsL různých genotypů pomocí HPLC na 19–26 mg/100 g FW [20]. Podobnou hodnotu prezentují také (Sikora a kol., 2013), kteří uvádí hodnotu obsahu vitaminu C 20,86–23,84 mg/100 g FW, resp. 129,64–131,64 mg/100 g DW, a (Jabłońska-Ryś a kol., 2009), kteří prezentují hodnotu 21,94 mg/100 g FW [18,52].

4.5 Stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí ABTS

Všechny vzorky byly analyzovány ve třech paralelních stanoveních. Každé stanovení zahrnovalo jedno měření absorbance v čase 0 minut (A_0) a trojí měření poklesu absorbance v 10. minutě (A_{10}). Hodnoty absorbance v 10. minutě (A_{10}) byly odečteny od hodnoty absorbance v čase 0 minut (A_0). Výsledky jednotlivých měření jsou i se směrodatnými odchylkami uvedeny v tabulce 13 a na obrázku 11. Celková antioxidační aktivita vzorku (TAC) je vždy uváděna jako mmol Troloxu na l vzorku.

Tabulka 13: Hodnoty celkových antioxidačních aktivit v mmol TE/l vzorku s příslušnými směrodatnými odchylkami (SD) získané metodou s kation-radikálem ABTS.

vzorek	c [mmol/l]			průměr c [mmol/l]	SD [mmol/l]
	měření č.1	měření č.2	měření č.3		
víno	16,84	16,12	16,84	16,60	0,41
likér	12,68	12,16	12,35	12,40	0,26
šťáva	10,60	10,86	9,95	10,47	0,47
EX20G07D	1,80	1,80	1,90	1,83	0,06
EX40G07D	2,18	2,18	2,17	2,18	0,00
EX60G07D	4,75	5,66	5,01	5,14	0,47
EX20G14D	2,05	2,06	2,08	2,06	0,02
EX40G14D	4,70	4,76	4,73	4,73	0,03
EX60G14D	5,82	6,73	6,63	6,39	0,50
EX20G20D	2,42	2,44	2,67	2,51	0,14
EX40G20D	5,01	5,33	5,43	5,26	0,22
EX60G20D	7,18	6,76	6,76	6,90	0,24
EX20G28D	2,70	2,63	2,57	2,63	0,07
EX40G28D	4,16	4,40	4,42	4,33	0,15
EX60G28D	7,05	6,96	7,12	7,04	0,08



Obrázek 11: Graf hodnot celkové antioxidační aktivity v mmol TE/l vzorku získaných metodou s ABTS s příslušnými směrodatnými odchylkami, které jsou znázorněny jako chybové úsečky.

Celková antioxidační aktivita se u všech zkoumaných vzorků pohybovala v rozmezí 1,83–16,60 mmol TE/l vzorku. Ze získaných výsledků, které jsou uvedeny výše v tabulce 13 a na obrázku 11, je patrné, že nejvyšší antioxidační aktivitu měl vzorek trnkového vína (16,60±0,41 mmol TE/l), naopak nejnižší antioxidační aktivita byla zjištěna ve vzorku EX20G07D (1,83±0,06 mmol TE/l).

Ze zkoumaných vzorků produktů (tj. víno, likér a šťáva) nejvyšší hodnotu TAC vykázal právě vzorek vína (16,60±0,41 mmol TE/l). Naproti tomu nejnižší hodnota TAC byla detekována u vzorku šťávy (10,47±0,47 mmol TE/l). Ze statistické analýzy dat (obrázek P 14) bylo zjištěno, že se všechny vzorky produktů z plodů PsL v hodnotě TAC významně lišily. Výsledky celkové antioxidační kapacity ve vzorcích produktů z plodů trnky obecné kopírují trend, který byl pozorován u stanovení celkových flavonoidů. Spojitost fenolických a flavonoidních látek s antioxidační aktivitou byla prokázána již dříve [6,9,46]. Celkovou antioxidační aktivitu trnkového vína, likéru ani šťávy stanovenou pomocí metody s kation-radikálem ABTS literatura neuvádí. V literatuře jsou však dostupné výsledky stanovení celkové antioxidační aktivity pomocí metody s volným radikálem DPPH v podobném trnkovém likéru a v čerstvé trnkové šťávě [42,48]. (Sokól-Letowska a kol., 2014) v trnkovém likéru stanovili průměrnou hodnotu TAC přibližně na 900 μmol TE/100 ml vzorku, který byl připraven 21denní macerací 2 kg plodů trnky obecné v 65% roztoku ethanolu, zatímco hodnota TAC našeho vzorku (obsah alkoholu cca 50 %) byla poněkud vyšší a činila 12,40±0,26 mmol TE/l [42]. Celková antioxidační aktivita vzorku čerstvé trnkové šťávy byla stanovena (Fraternale a kol., 2009) na IC_{50} = 0,16 g/l [48]. Vzhledem k rozdílnému principu stanovení i vyjádření výsledků je obtížné hodnotu porovnat s námi stanovenou hodnotou TAC.

U ethanolových extraktů byla nejvyšší hodnota TAC stanovena ve vzorku EX60G28D (7,04±0,08 mmol TE/l), naopak nejnižší hodnotu TAC měl vzorek EX20G07D (1,83±0,06 mmol TE/l). U vzorků ethanolových extraktů byl pozorován podobný trend růstu hodnoty TAC vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL a době macerace jako tomu bylo u celkových flavonoidů. (Veličković a kol., 2020) a (Tahirović a kol., 2018) poukázali na významný příspěvek flavonoidních látek k antioxidační aktivitě, kdy právě obsah flavonoidů silně koreloval s antioxidační aktivitou [9,47]. Růst hodnot TAC byl pozorován u navážek 40 g a 60 g mezi 1. a 2. týdnem macerace, což bylo potvrzeno statistickou analýzou dat (obrázek P 15). Z toho lze usoudit, že k dosažení maximální antioxidační aktivity roztoku stačí délka macerace 2 týdny. V případě navážky 20 g suchých plodů PsL bylo zjištěno, že k dosažení nejvyšší antioxidační kapacity extraktu stačí doba macerace 1 týden. Pro případy delší doby macerace plodů nedošlo již k markantnímu zvýšení hodnot TAC (obrázek P 15). Dále bylo ze statistické analýzy dat zjištěno, že při 1. týdnu macerace byla antioxidační aktivita extraktu připraveného macerací 20 g plodů PsL blízká hodnotě TAC extraktu připraveného macerací 40 g plodů. Celková antioxidační aktivita v extraktech z plodů PsL byla již dříve popsána několika autory [6,9,14,28,44–47]. Významně nižší hodnotu TAC v ethanolovém extraktu z plodů PsL (50% EtOH) prezentují (Tahirović a kol., 2018), a to 223,98 μg TE/g DW, což lze vysvětlit značnými rozdíly v postupu extrakce, ale také možnou odlišností genotypů [47]. Vliv genotypů plodů PsL na výslednou antioxidační aktivitu ethanolových extraktů (50% EtOH) zkoumali a popsali (Popović a kol., 2020), kteří pomocí metody DPPH stanovili rozmezí hodnot TAC na IC_{50} = 620–3 460 μg TE/ml vzorku [44]. Hodnota TAC

pro ethanolový extrakt (96% EtOH) pomocí metody s kation-radikálem ABTS byla stanovena (Veličković a kol., 2020), kteří uvádí hodnotu IC_{50} = 184,43 mg TE/l vzorku [9]. Vzhledem k rozdílnému principu stanovení i vyjádření výsledků je obtížné hodnoty porovnat s námi stanovenou hodnotou TAC. Možné odlišnosti mohly vzniknout právě v důsledku rozdílného principu stanovení či různé polarity rozpouštědla, které bylo použito jako extrakční činidlo. (Veličković a kol., 2014) metodou s DPPH stanovili hodnotu TAC v ethanolovém extraktu (50% EtOH) na 4,25 mg QE/g FW, resp. 72,12 % [46].

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo připravit a následně charakterizovat ethanolové extrakty a produkty z plodů trnky obecné (*Prunus spinosa L.*). Analýze byly podrobeny celkem 3 produkty a 12 ethanolových extraktů (40% ethanol). Dva z produktů (tj. domácí trnkový likér a domácí trnkové víno) byly připraveny dle tradičních receptů v domácích podmínkách a jeden z produktů (tj. trnková šťáva) byl zakoupen. Ve vzorcích vína, likéru, šťávy a ethanolových extraktů byl kvantifikován obsah celkových redukujících sacharidů, polyfenolů a flavonoidů. Dále byla stanovena antioxidační aktivita jednotlivých vzorků. Stanovení probíhala převážně pomocí jednoduchých a rychlých, spektrofotometrických metod. Pouze přítomnost kyseliny askorbové (vitaminu C) byla identifikována pomocí vysoce sofistikované metody HPLC, neboť ji nebylo možné určit pomocí původně zvolené titrační metody s 2,6-dichlor-fenolindofenolem. Vitamin C byl identifikován ve všech analyzovaných vzorcích, avšak v důsledku obsahu vysokého množství sacharidů jej nešlo danou metodikou kvantifikovat.

Pro stanovení redukujících sacharidů byly použity dvě spektrofotometrické metody, a to metoda podle Somogyi-Nelsona (SN) a metoda s 3,5-dinitrosalicylovou kyselinou (DNS). DNS metoda poskytovala mírně nadhodnocené výsledky, zatímco výsledky z SN metody byly skutečnému obsahu redukujících cukrů bližší. Pro rychlé a jednoduché stanovení redukujících sacharidů ve vzorcích produktů a extraktů z plodů trnky obecné je tedy vhodné používat SN metodu. Nejvyšší koncentrace redukujících sacharidů byla detekována ve vzorku likéru (292,11±1,36 g/l), což bylo také předpokládáno vzhledem k postupu jeho přípravy. V ethanolových extraktech se obsah redukujících cukrů pohyboval v rozmezí 13,59–75,16 g/l a byl zde pozorován trend růstu hodnot TRS vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL i k době macerace.

Pomocí metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem byly ve vzorcích kvantifikovány celkové polyfenoly, jejichž nejvyšší koncentrace byla zjištěna ve vzorku trnkové šťávy (2,166±0,220 g GAE/l). U ethanolových extraktů se koncentrace polyfenolů pohybovala v rozmezí 0,453–1,129 g GAE/l. Ze statistické analýzy dat vyplynulo, že k maximálnímu obsahu polyfenolů v roztoku za daných podmínek stačí navážka 40 g suchých plod PsL a doba macerace 1 týden.

Pomocí metody s chloridem hlinitým byly ve vzorcích stanoveny celkové flavonoidy, jejichž nejvyšší koncentrace byla zjištěna ve vzorku trnkového vína (1,615±0,005 g CAE/l). U ethanolových extraktů se koncentrace flavonoidů pohybovala v rozmezí 0,172–0,568 g CAE/l a byl zde pozorován trend růstu hodnot TFC vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL, avšak nikoli k době macerace. Ze statistické analýzy dat bylo zjištěno, že k maximálnímu obsahu flavonoidů v roztoku za daných podmínek je vhodná navážka 60 g suchých plod PsL a doba macerace 2 týdny.

Jak polyfenoly, tak flavonoidy a kyselina askorbová jsou látky, které vykazují antioxidační vlastnosti. Z analyzovaných vzorků nejlépe kation-radikál ABTS zhášel vzorek trnkového vína (16,60±0,41 mmol TE/l). V ethanolových extraktech se obsah antioxidantů pohyboval v rozmezí 1,83–7,04 mmol TE/l a byl zde pozorován trend růstu hodnot TAC vzhledem k hmotnosti navážky suchých plodů PsL, avšak nikoli k době macerace, stejně jako tomu bylo u celkových flavonoidů. Ze statistické analýzy dat vyplynulo, že k dosažení maximální

antioxidační aktivity roztoku za daných podmínek je vhodná navážka 60 g suchých plodů trnky obecné a doba macerace 2 týdny. U analyzovaných vzorků byla pozorována silná korelace antioxidační aktivity s koncentrací flavonoidů.

Vzhledem ke zjištěným charakteristikám ethanolových extraktů a produktů z plodů *Prunus spinosa L.* se jedná o cenné zdroje bioaktivních a antioxidačních látek. Trnkové víno, likér či šťáva tak mohou být při konzumaci přínosné pro zdraví spotřebitele a ethanolové extrakty mají velký potenciál stát se velmi užitečným materiálem pro nutraceutický, potravinářský, kosmetický i farmaceutický průmysl.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

[1] HEJNÝ, Slavomil, Bohumil SLAVÍK, Jan KIRSCHNER a Bohdan KŘÍSA. *Květena České republiky*. 3. Praha: Academia, 1992, 542 s. ISBN 80-200-0256-1. Dostupné také z: https://pladias.cz/taxon/flora/Prunus%20spinosa

[2] MURATI, T., M. MILETIĆ, A. ŠTEFANKO, I. LANDEKA JURČEVIĆ, I. ELEZ GAROFULIĆ, V. DRAGOVIĆ-UZELAC a I. KMETIČ. Comparative assessment of Prunus spinosa L. flower extract in non-neoplastic hepatocytes and hepatoblastoma cells. *South African Journal of Botany* [online]. 2019, **123**, 36-42 [cit. 2020-10-24]. ISSN 02546299. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.006

[3] RHODES L. a N. MAXTED. Prunus spinosa, Blackthorn. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T172194A19400568* [online]. 2016 [cit. 2020-10-23]. ISSN 2307-8235. Dostupné z: http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T172194A19400568.en

[4] KUBÁT, Karel, Lubomír HROUDA, Jindřich CHRTEK, Zdeněk KAPLAN, Jan KIRSCHNER a Jan ŠTĚPÁNEK, ed. *Klíč ke květeně České republiky*. Praha: Academia, 2002, 627 s. ISBN 80-200-0836-5.

[5] RANDUŠKA, Dušan, Ladislav ŠOMŠÁK a Izabela HÁBEROVÁ. *Barevný atlas rostlin*. 2.vyd. Bratislava: Obzor, 1983, 638 s.

[6] PINACHO, Raquel, Rita Yolanda CAVERO, Icíar ASTIASARÁN, Diana ANSORENA a María Isabel CALVO. Phenolic compounds of blackthorn (Prunus spinosa L.) and influence of in vitro digestion on their antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, **19**, 49-62 [cit. 2020-10-24]. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.015

[7] MASARYKOVA UNIVERZITA, BOTANICKÝ ÚSTAV AKADEMIE VĚD ČR, JIHOČESKÁ UNIVERZITA. Prunus spinosa – trnka obecná, trnka. *Pladias: databáze české flóry a vegetace* [online]. Česká republika, 2018 [cit. 2020-10-23]. Dostupné z: https://pladias.cz/taxon/overview/Prunus%20spinosa

[8] KVASNIČKOVÁ, Danuše a Šárka BRTNOVÁ. *ROSTLINY naší přírody – atlas rostlin*. Praha: Blug, 1998, 60 s. ISBN 80-856-3593-3.

[9] VELICKOVIC, Ivona, Zeljko ZIZAK, Nemanja RAJCEVIC, Marija IVANOV, Marina SOKOVIC, Petar MARIN a Slavica GRUJIC. Examination of the polyphenol content and bioactivities of Prunus spinosa L. fruit extracts. *Archives of Biological Sciences* [online]. 2020, **72**(1), 105-115 [cit. 2020-10-24]. ISSN 0354-4664. Dostupné z: https://doi.org/10.2298/ABS191217004V

[10] MICHALCOVÁ, Dana. Prunus spinosa. In: MICHALCOVÁ, Dana. *Botanická fotogalerie a další pomůcky k určování rostlin: Živa* [online]. 1/2013. 2013, 23.10.2020 [cit. 2020-10-24]. Dostupné z: http://www.botanickafotogalerie.cz/fotogalerie.php?lng=cz

[11] VESELÝ, Pavel. Prunus spinosa. In: MICHALCOVÁ, Dana. *Botanická fotogalerie a další pomůcky k určování rostlin: Živa* [online]. 1/2013. 2013, 23.10.2020 [cit. 2020-10-24]. Dostupné z: http://www.botanickafotogalerie.cz/fotogalerie.php?lng=cz

[12] POZZO, Luisa, Rossella RUSSO, Stefania FRASSINETTI, et al. Wild Italian Prunus spinosa L. Fruit Exerts In Vitro Antimicrobial Activity and Protects Against In Vitro and In Vivo Oxidative Stress. *Foods* [online]. 2020, **9**(1) [cit. 2020-10-24]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods9010005

[13] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin I.* Tábor: OSSIS, 1999, 328 s. ISBN 80-902391-3-7.

[14] BARROS, Lillian, Ana Maria CARVALHO, Jorge Sá MORAIS a Isabel C.F.R. FERREIRA. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry* [online]. 2010, **120**(1), 247-254 [cit. 2020-11-11]. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.016

[15] MARAKOGˇLU, Tamer, Derya ARSLAN, Musa ÖZCAN a Haydar HACISEFEROGˇULLARI. Proximate composition and technological properties of fresh blackthorn (Prunus spinosa L. subsp dasyphylla (Schur.)) fruits. *Journal of Food Engineering* [online]. 2005, **68**(2), 137-142 [cit. 2020-11-11]. ISSN 02608774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.024

[16] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin II.* Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3914-5.

[17] MIKULÁŠ, Pavel. Mastné kyseliny. *Pavel Mikuláš, Laboratoř pro vyšetřování potravin akreditovaná* [online]. Brno: Pavel Mikuláš, 2012 [cit. 2020-11-11]. Dostupné z: https://www.pmlab.cz/mastne-kyseliny/

[18] SIKORA, Elzbieta, Malgorzata BIENIEK a Barbara BORCZAK. Composition and antioxidant properties of fresh and frozen stored blackthorn fruits (Prunus spinosa L.). *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* [online]. 2013, 2013, **12**(4), 365-372 [cit. 2020-11-15]. Dostupné z: https://www.food.actapol.net/volume12/issue4/abstract-3.html

[19] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin III.* Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3915-3.

[20] OZKAN, Gursel. Phenolic Compounds, Organic Acids, Vitamin C And Antioxidant Capacity In Prunus Spinosa L. Fruits. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences* [online]. Academic Publishing House, 2019, 2019, **72**(2), 267-273 [cit. 2020-11-11]. ISSN 1310-1331. DOI:10.7546/CRABS.2019.02.17. Dostupné z: http://www.proceedings.bas.bg/DOI/doi2019_2_17.html

[21] MANACH, Claudine, Augustin SCALBERT, Christine MORAND, Christian RÉMÉSY a Liliana JIMÉNEZ. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2004, **79**(5), 727-747 [cit. 2020-11-13]. ISSN 0002-9165. Dostupné z: https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

[22] SABATINI, Luigia, Daniele FRATERNALE, Barbara DI GIACOMO, et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity of Prunus spinosa L. fruit ethanol extract. *Journal of Functional Foods* [online]. 2020, **67** [cit. 2020-11-13]. ISSN 17564646. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103885

[23] JANEČEK, Vladimír a Jana EŠNEROVÁ. Trnka obecná (Prunus spinosa). *LESNICKÁ PRÁCE: časopis pro lesnickou vědu a praxi* [online]. 2012, **91**(6/12) [cit. 2020-11-15]. Dostupné z: http://www.lesprace.cz/casopis-lesnicka-prace-archiv/rocnik-91-2012/lesnicka-prace-c-6-12/trnka-obecna-prunus-spinosa

[24] LEICHTWEIS, Maria G., Carla PEREIRA, M.A. PRIETO, Maria Filomena BARREIRO, Lillian BARROS a Isabel C.F.R. FERREIRA. Ultrasound as a Rapid and Low-Cost Extraction Procedure to Obtain Anthocyanin-Based Colorants from Prunus spinosa L. Fruit Epicarp: Comparative Study with Conventional Heat-Based Extraction. *Molecules* [online]. 2019, **24**(3) [cit. 2021-01-25]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/molecules24030573

[25] KOPŘIVA, Vladimír. *Antioxidační aktivita potravin: Doplňkový studijní materiál* [online]. 2011 [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/ANTIOXIDA%C8N%CD-KAPACITA-POTRAVIN.pdf

[26] MERCOVÁ, Miroslava. *Optimalizace diagnostických metod oxidačního stresu* [online]. Hradec Králové, 2013 [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/56513/150018501.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Rigorózní práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie. Vedoucí práce Ing. Kateřina Macáková, Ph.D.

[27] MESCHINI, Stefania, Evelin PELLEGRINI, Maria CONDELLO, Giovanni OCCHIONERO, Sebastiano DELFINE, Giancarlo CONDELLO a Franco MASTRODONATO. Cytotoxic and Apoptotic Activities of Prunus spinosa Trigno Ecotype Extract on Human Cancer Cells. *Molecules* [online]. 2017, **22**(9) [cit. 2021-01-25]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/molecules22091578

[28] STANKOVIĆ, Milica I., Vesna Lj. SAVIĆ, Jelena V. ŽIVKOVIĆ, Vanja M. TADIĆ a Ivana A. ARSIĆ. Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Activity of Wild Prunus spinosa L. Fruit Extracts as Natural Source of Bioactive Compounds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* [online]. 2019, **47**(3) [cit. 2021-01-25]. ISSN 1842-4309. Dostupné z: https://doi.org/10.15835/nbha47311425

[29] ADMIN. Trnkové víno: Trnkové víno 1 (r. 1966). In: *Domacevino.sk* [online]. Slovensko, 3.12.2019 [cit. 2021-01-27]. Dostupné z: https://domacevino.sk/trnkove-vino/#trnkove-vino-01

[30] BOS FOOD Schlehensaft, naturrein & ungezuckert, 680 ml. In: *Amazon.de* [online]. [cit. 2021-02-26]. Dostupné z: https://www.amazon.de/BOS-FOOD-Schlehensaft-naturrein-ungezuckert/dp/B07PT9LGLM/ref=sr_1_4?dchild=1&keywords=THE+BOS&qid=1614340831&s=grocery&sr=1-4

[31] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie* [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005 [cit. 2021-02-09]. ISBN 80-708-0586-2. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-586-2/pages-img/obalka-1.html

[32] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravin: Cvičenie.* 2.vyd. Bratislava: STU, 1991. ISBN 80-227-0398-2.

[33] LUKEŠOVÁ, Eva. *Laboratorní cvičení z analytické chemie pro 3. a 4. ročník: Obor: 29-42-M/01 Analýza potravin.* VOŠES a SPŠPT, Praha 2, 2010. Dostupné také z: http://studenti.podskalska.cz/eucebnice/labcvzach3.pdf

[34] MÁROVÁ, Ivana a Dana VRÁNOVÁ. *Praktikum z biochemie: pracovní sešit.* 2. přeprac. vyd. Brno: Ústav chemie potravin a biotechnologií FCH VUT v Brně, 2016.

[35] AINSWORTH, Elizabeth A a Kelly M GILLESPIE. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* [online]. 2007, **2**(4), 875-877 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1754-2189. Dostupné z: https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102

[36] KALITA, Pallab, Tapan BARMAN, Tapas PAL a Ramen KALITA. Estimation of total flavonoids content (tfc) and anti oxidant activities of methanolic whole plant extract of biophytum sensitivum linn. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* [online]. 2013, **3**(4), 33-37 [cit. 2021-2-22]. ISSN 2250-1177. Dostupné z: https://doi.org/10.22270/jddt.v3i4.546

[37] MALEŠEV, Dušan a Vesna KUNTIĆ. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society* [online]. 2007, **72**(10), 921-939 [cit. 2021-02-22]. ISSN 0352-5139. Dostupné z: https://doi.org/10.2298/JSC0710921M

[38] HRSTKA, Miroslav, Lenka SOMROVÁ a Pavel DIVIŠ. *Praktikum z analytické chemie potravin.* Brno: Fakulta chemická VUT v Brně, 2019.

[39] DENG, S.P. a M.A. TABATABAI. Colorimetric determination of reducing sugars in soils. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. 1994, **26**(4), 473-477 [cit. 2021-6-30]. ISSN 00380717. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90179-1

[40] SHAO, Yijing a Amy Hui-Mei LIN. Improvement in the quantification of reducing sugars by miniaturizing the Somogyi-Nelson assay using a microtiter plate. *Food Chemistry* [online]. 2018, **240**, 898-903 [cit. 2021-6-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.083

[41] HORÁKOVÁ, Hana. *Analýza hlavních sacharidů vína.* Brno, 2009, 88 s. Dostupné také z: https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/15791. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

[42] SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA, Anna, Alicja Z. KUCHARSKA, Katarzyna WIŃSKA, Antoni SZUMNY, Agnieszka NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, Paulina MIZGIER a Dorota WYSPIAŃSKA. Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs. *Food Chemistry* [online]. 2014, **157**, 533-539 [cit. 2021-04-22]. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.083

[43] V. GONZÁLEZ-DE-PEREDO, Ana, Mercedes VÁZQUEZ-ESPINOSA, Estrella ESPADA-BELLIDO, et al. Optimization of Analytical Ultrasound-Assisted Methods for the Extraction of Total Phenolic Compounds and Anthocyanins from Sloes (Prunus spinosa L.). *Agronomy* [online]. 2020, **10**(7) [cit. 2021-04-22]. ISSN 2073-4395. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/agronomy10070966

[44] POPOVIĆ, B.M., B. BLAGOJEVIĆ, R. ŽDERO PAVLOVIĆ, et al. Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (Prunus spinosa L.) genotypes from north Serbia-from raw data to PCA analysis. *Food Chemistry* [online]. 2020, **302** [cit. 2021-04-22]. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125373

[45] VELICKOVIC, J. M., S. ILIC, S. S. MITIC, M. N. MITIC a D. A. KOSTIC. Comparative analysis of phenolic and mineral composition of hawthorn and blackthorn from southeast serbia. *Oxidation Communications* [online]. 2016, **39**(3), 2280-2290 [cit. 2021-04-22]. ISSN 0209-4541.

[46] VELICKOVIC, Jasmina M., Danijela A. KOSTIC, Gordana S. STOJANOVIC, Snežana S. MITIC, Milan N. MITIC, Saša S. RANDJELOVIC a Aleksandra S. DJORDJEVIC. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from Prunus spinosa L. fruit. *Hemijska industrija* [online]. 2014, **68**(3), 297-303 [cit. 2021-04-22]. ISSN 0367-598X. Dostupné z: https://doi.org/10.2298/HEMIND130312054V

[47] TAHIROVIĆ, A., N. BAŠIĆ a A. ČOPRA-JANIĆIJEVIĆ. Effect of solvents on phenolic compounds extraction and antioxidant activity of Prunus spinosa L. fruits. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* [online]. Bosnia and Herzegovina, 2018, (50), 19-24 [cit. 2021-04-22]. ISSN 2232-7266. Dostupné z: http://www.pmf.unsa.ba/hemija/glasnik/files/Issue%2050/5-19-24-Tahirovi_A.pdf

[48] FRATERNALE, D., L. GIAMPERI, A. BUCCHINI a D. RICCI. Antioxidant activity of Prunus spinosa L. fruit juice. *Italian Journal of Food Science: Rivista italiana di scienza degli alimenti* [online]. Itálie: CHIRIOTTI EDITORI, 2009, **21**(3), 337-346 [cit. 2021-04-22]. ISSN 1120-1770. Dostupné z: http://scholar.google.cz/scholar_url?url=http://www.chiriottieditori.it/images/stories/IJFS%2520archivio/IJFS213.pdf%23page%3D86&hl=cs&sa=X&ei=fpyBYKHmIoqKy9YP_Y2VmAw&scisig=AAGBfm3KA8GGapwJ0SROxptymGnG23CI0w&nossl=1&oi=scholarr

[49] ERTURK, Y., S. ERCISLI a M. TOSUN. Physico-chemical characteristics of wild plum fruits (Prunus spinosa L.). *International Journal of Plant Production* [online]. Turecko, 2009, **3**(3), 89-92 [cit. 2021-04-22]. ISSN 1735-8043. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/239572837_Physicochemical_characteristics_of_wild_plum_fruits_Prunus_spinosa_L

[50] DUMBRAVA, Delia-Gabriela, Nicoleta-Gabriela HADARUGA, Camelia MOLDOVAN, Diana-Nicoleta RABA, Mirela-Viorica POPA a B RADOI. Antioxidant activity of some fresh vegetables and fruits juices. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* [online]. Rumunsko, 2011, **17**(2), 163-168 [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: https://www.journal-of-agroalimentary.ro/admin/articole/27342L12_Dumbrava_Delia_Vol.17_2__2011_163-168.pdf

[51] DUMBRAVA, Delia-Gabriela, Camelia MOLDOVAN, Diana-Nicoleta RABA a Mirela-Viorica POPA. Comparative analysis of vitamin C content and antioxidant activity of some fruits extracts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* [online]. Rumunsko, 2012, **18**(3), 223-228 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: http://scholar.google.cz/scholar_url?url=https://www.researchgate.net/profile/Camelia_Moldovan/publication/268269062_Comparative_analysis_of_vitamin_C_content_and_antioxidant_activity_of_some_fruits_extracts/links/54eb0f510cf2f7aa4d5945f4.pdf&hl=cs&sa=X&ei=Lp-BYLPuNoLCsQKigaGgDA&scisig=AAGBfm0_PymiJxdFxJwodW1mLhpLlkZ92g&nossl=1&oi=scholarr

[52] JABŁOŃSKA-RYŚ, Ewa, Marta ZALEWSKA-KORONA a Janusz KALBARCZYK. Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* [online]. Polsko, 2009, **17**(2), 115-120 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: http://www.inhort.pl/files/journal_pdf/journal2009_2/full11%202009(2).pdf

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

PsL	trnka obecná (*Prunus spinosa L.*)
EtOH	ethanol
DW	hmotnost suchého materiálu (plodů)
FW	hmotnost čerstvého materiálu (plodů)
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
SAFA	nasycené mastné kyseliny
ROS	reaktivní formy kyslíku
RNS	reaktivní formy dusíku
BHA	3-terc-butyl-4-hydroxyanisol
IC_{50}	koncentrace antioxidantů, která snížení počáteční koncentraci radikálů o 50 %
TRC	celková redukční kapacita
PsT	*Prunus spinosa* ekotypu *Trigno*
NAC	komplex nutraceutického aktivátoru
TRS	celková koncentrace redukujících sacharidů
SN	metoda podle Somogyi-Nelsona
DNS	3,5-dinitrosalicylová kyselina
Glu	glukosa
TPC	koncentrace celkových polyfenolů
GAE	kyselina gallová
F-C	Folin-Ciocalteuovo činidlo
TFC	koncentrace celkových flavonoidů
CAE	katechin
RE	rutin
QE	kvercetin
TAA	celková koncentrace kyseliny askorbové
AA	kyselina askorbová
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
SPE	extrakce pevnou fází
TAC	celková antioxidační kapacita/aktivita
TE	Trolox
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina
ABTS	2,2´-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl volný radikál
SD	směrodatná odchylka
ANOVA	analýza rozptylu

8 SEZNAM PŘÍLOH

Obrázek P 1: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci glukosy v g/l pro metodu dle Somogyi-Nelsona.

Obrázek P 2: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci glukosy v g/l pro metodu využívající 3,5-dinitrosalicylovou kyselinu.

Obrázek P 3: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci kyseliny gallové v g/l pro metodu využívající Folin-Ciocalteuovo činidlo.

Obrázek P 4: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci katechinu v g/l pro metodu využívající reakce s chloridem hlinitým a dusitanem.

Obrázek P 5: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci Troloxu v mmol/l pro metodu s kation-radikálem ABTS.

Obrázek P 6: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích produktů podle Somogyi-Nelsona.

Obrázek P 7: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích extraktů podle Somogyi-Nelsona.

Obrázek P 8: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích produktů pomocí DNS.

Obrázek P 9: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích extraktů pomocí DNS.

Obrázek P 10: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových polyfenolů ve vzorcích produktů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla.

Obrázek P 11: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových polyfenolů ve vzorcích extraktů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla.

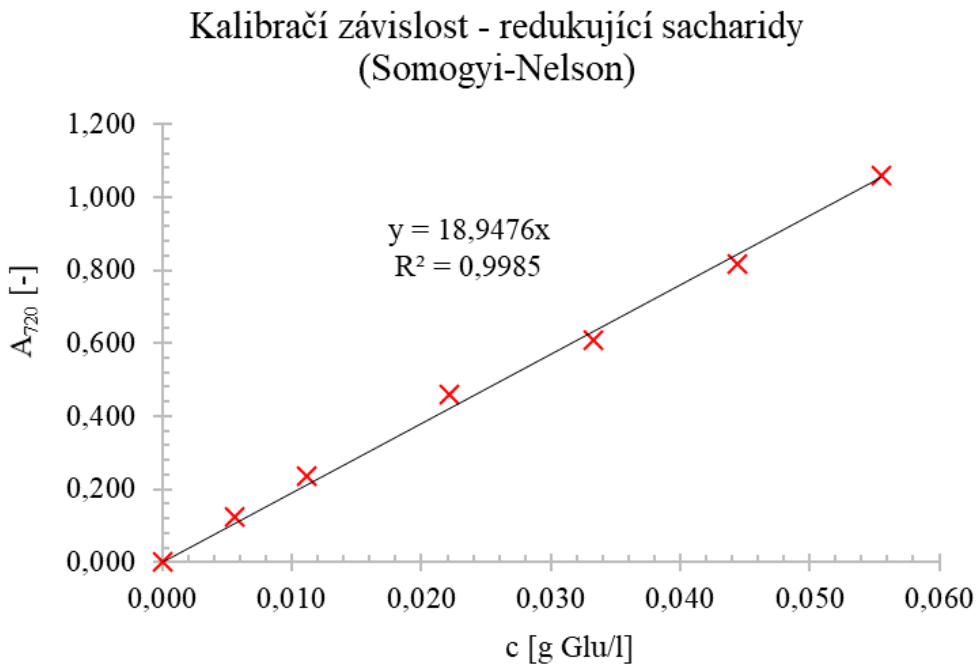
Obrázek P 12: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových flavonoidů ve vzorcích produktů pomocí chloridu hlinitého.

Obrázek P 13: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových flavonoidů ve vzorcích extraktů pomocí chloridu hlinitého.

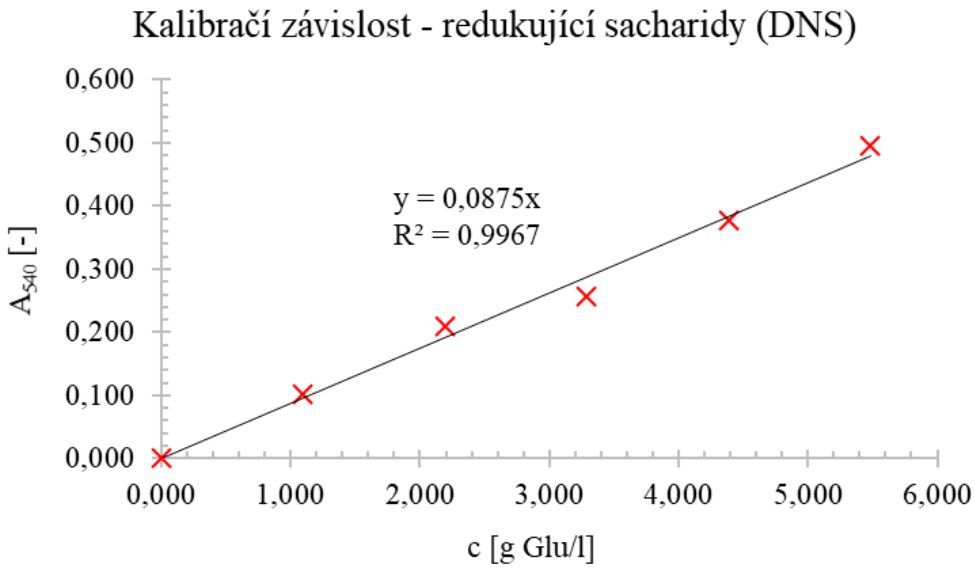
Obrázek P 14: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkové antioxidační aktivity ve vzorcích produktů pomocí kation-radikálu ABTS.

Obrázek P 15: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkové antioxidační aktivity ve vzorcích extraktů pomocí kation-radikálu ABTS.

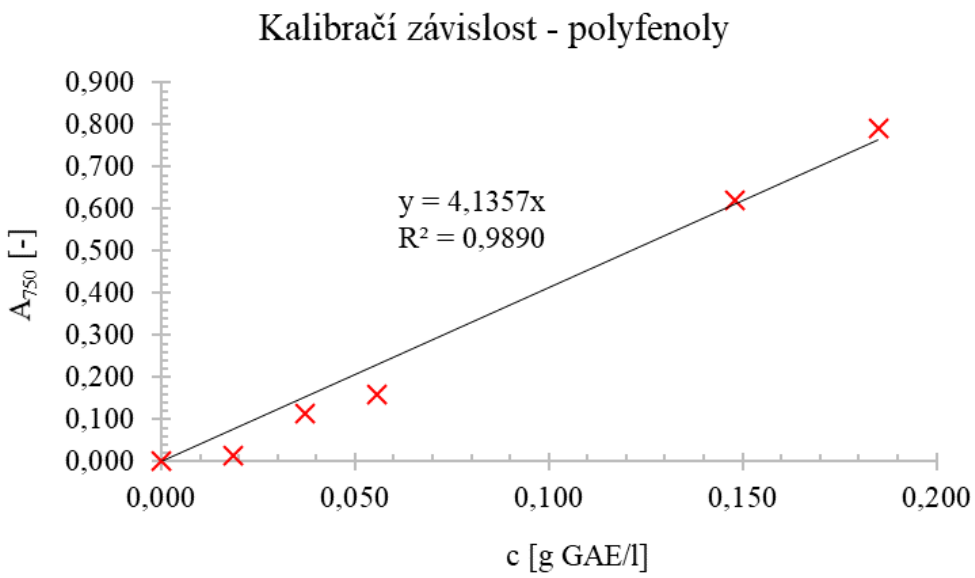
9 PŘÍLOHY



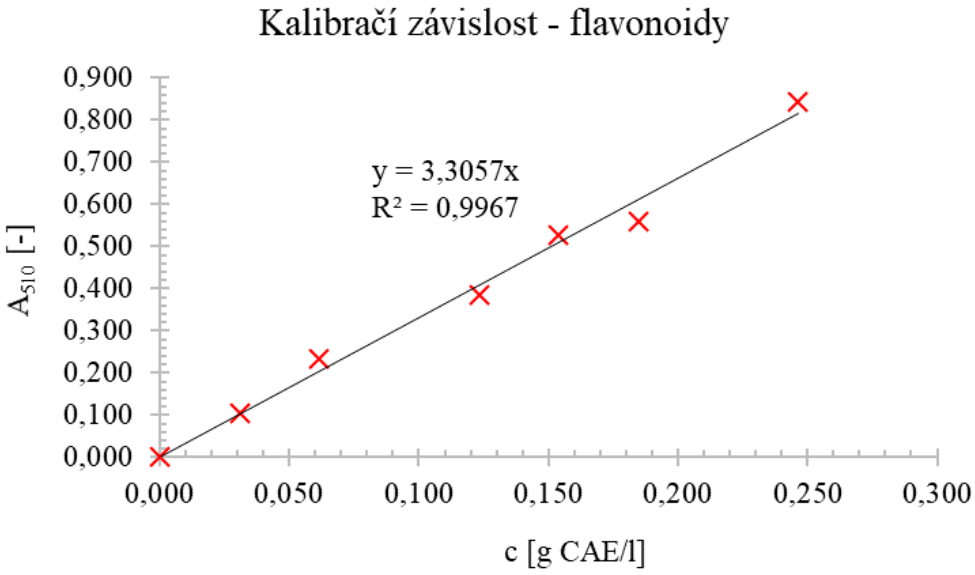
Obrázek P 1: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci glukosy v g/l pro metodu dle Somogyi-Nelsona.



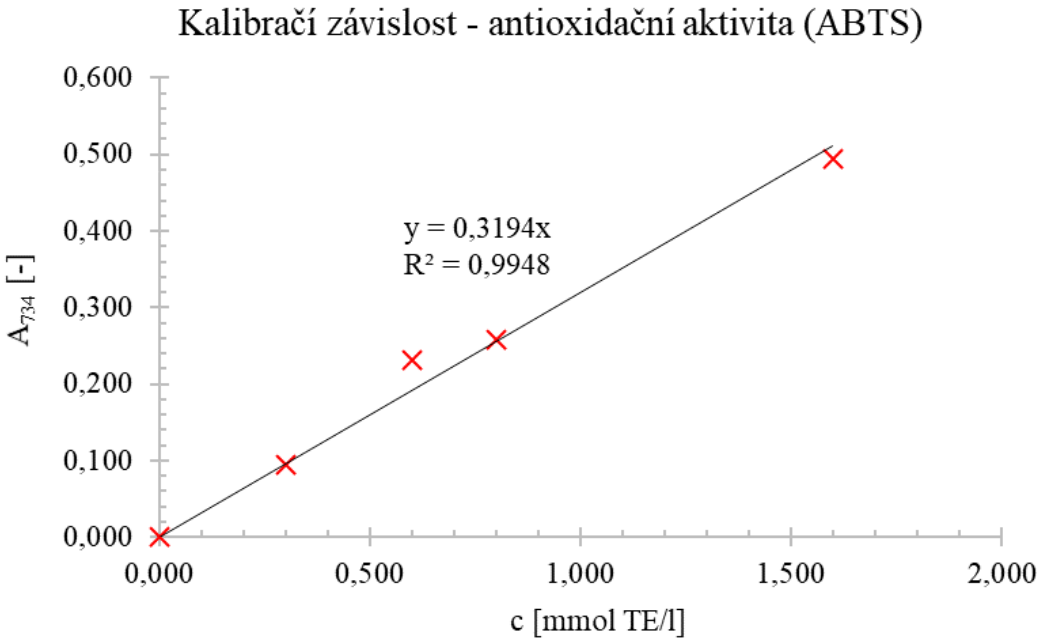
Obrázek P 2: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci glukosy v g/l pro metodu využívající 3,5-dinitrosalicylovou kyselinu.



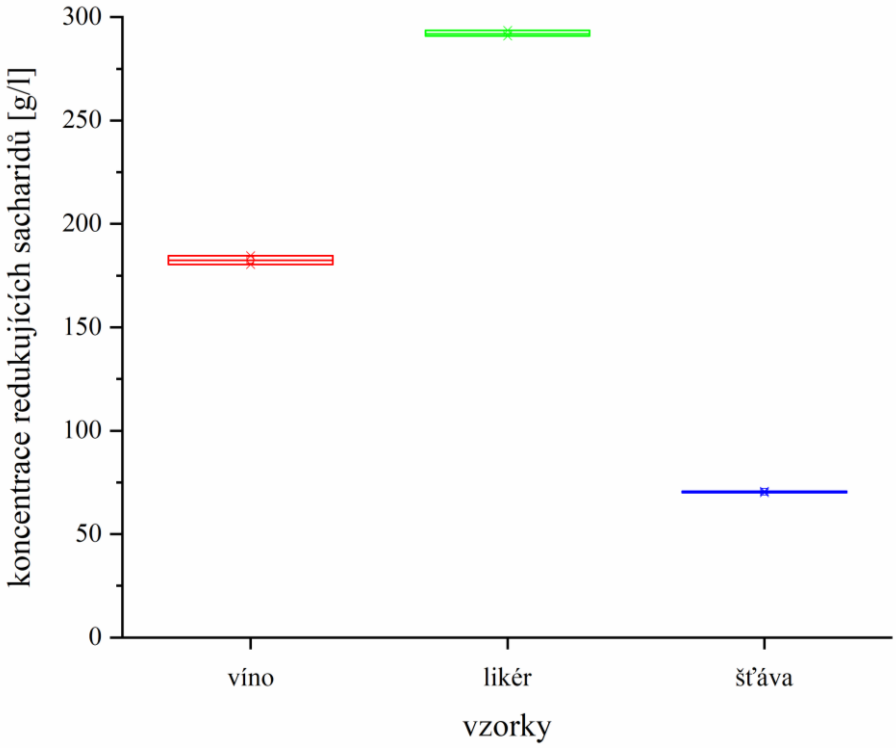
Obrázek P 3: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci kyseliny gallové v g/l pro metodu využívající Folin-Ciocalteuovo činidlo.



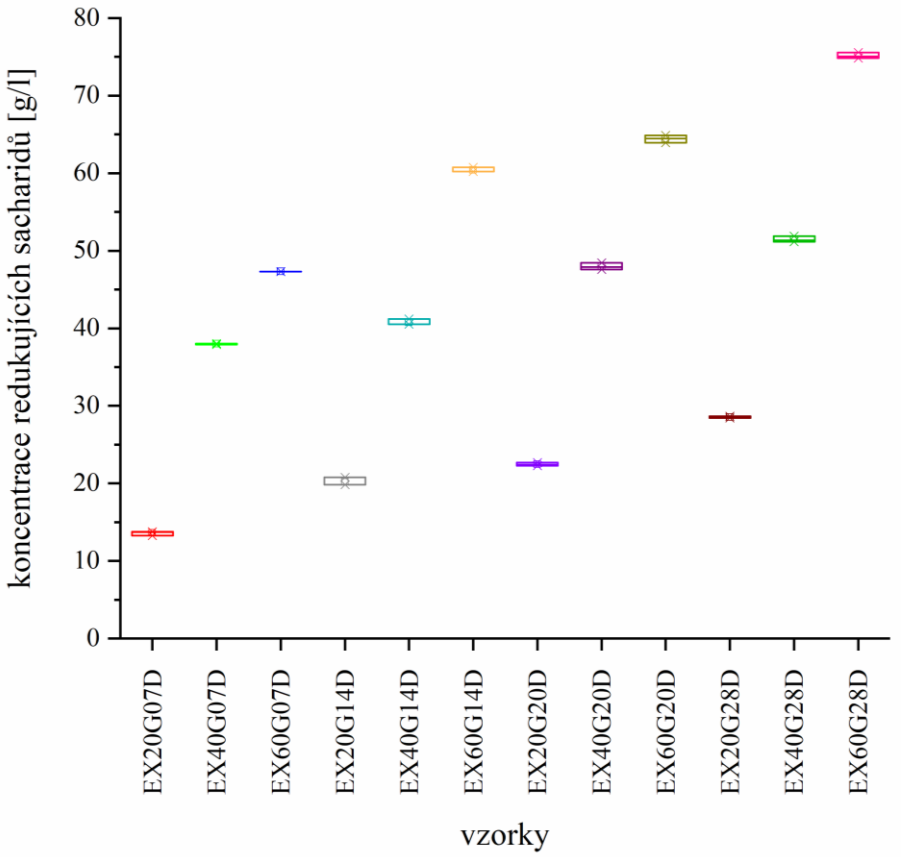
Obrázek P 4: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci katechinu v g/l pro metodu využívající reakce s chloridem hlinitým a dusitanem.



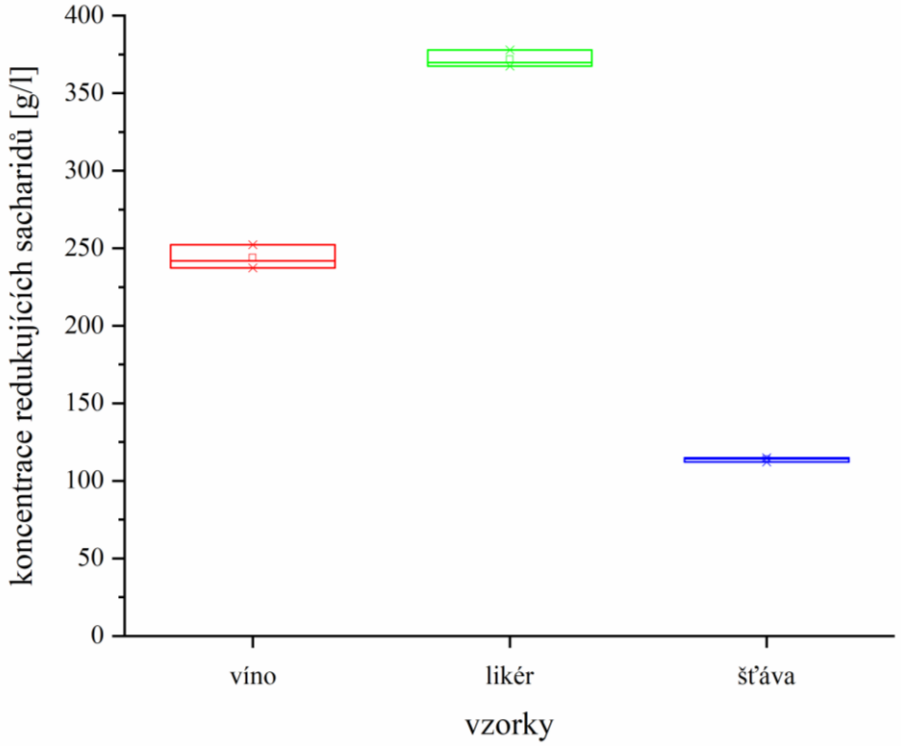
Obrázek P 5: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncetraci Troloxu v mmol/l pro metodu s kation-radikálem ABTS.



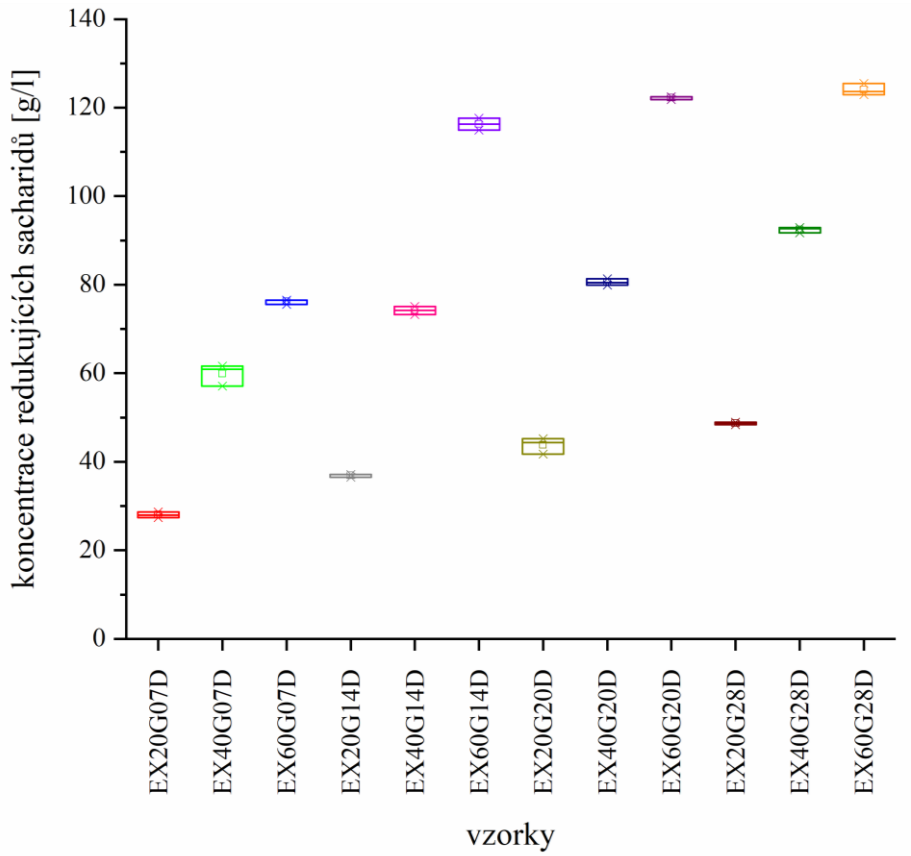
Obrázek P 6: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích produktů podle Somogyi-Nelsona.



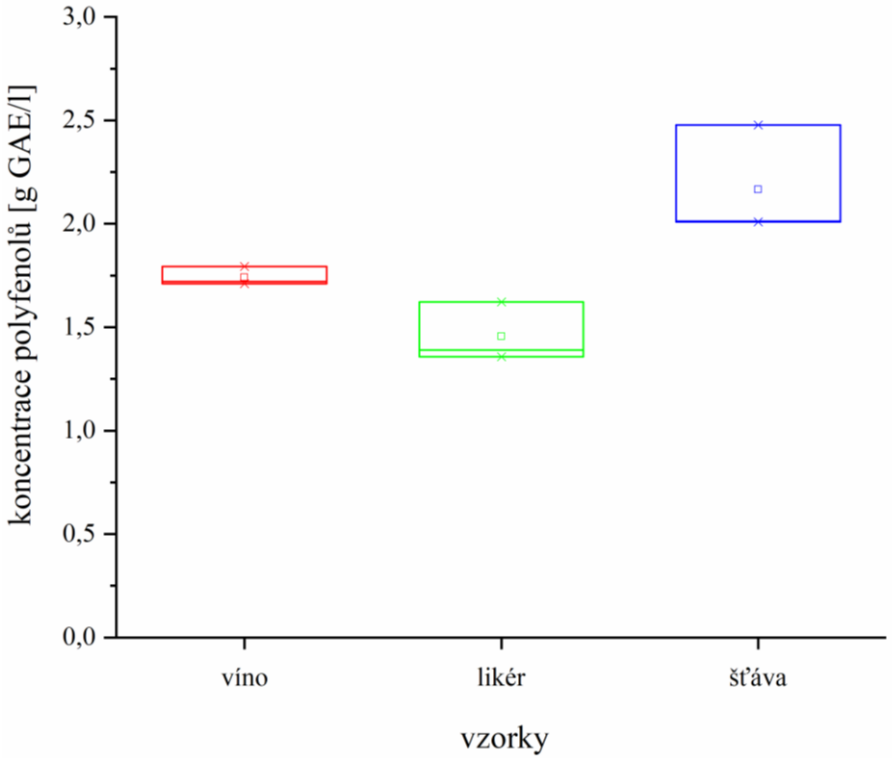
Obrázek P 7: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích extraktů podle Somogyi-Nelsona.



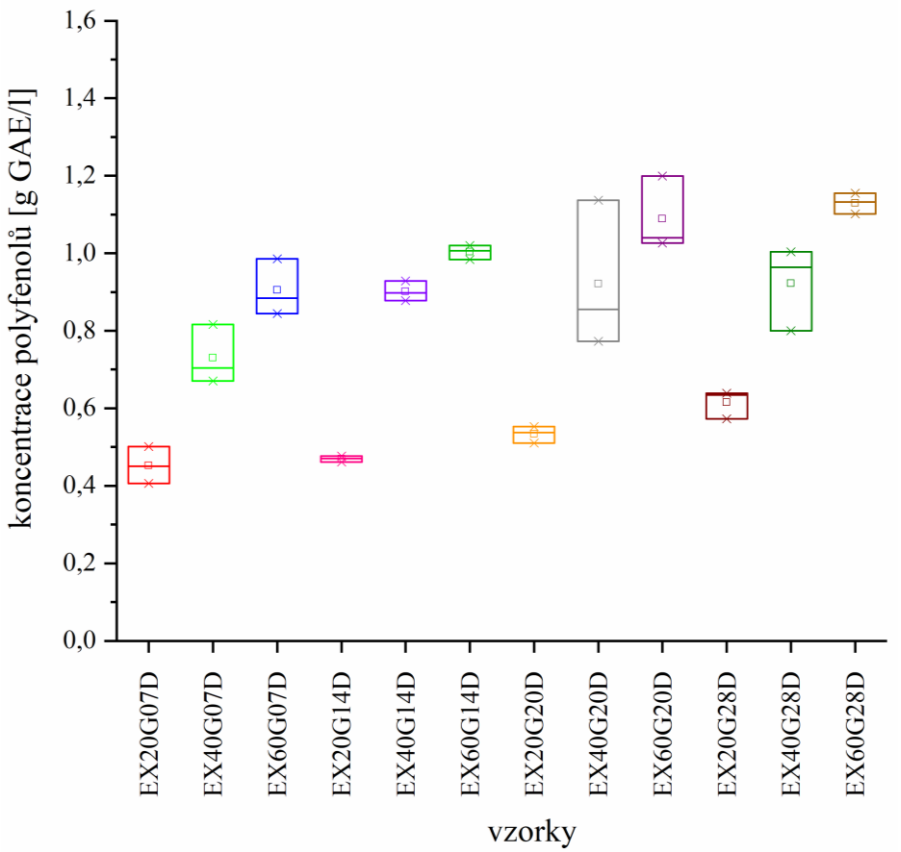
Obrázek P 8: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích produktů pomocí DNS.



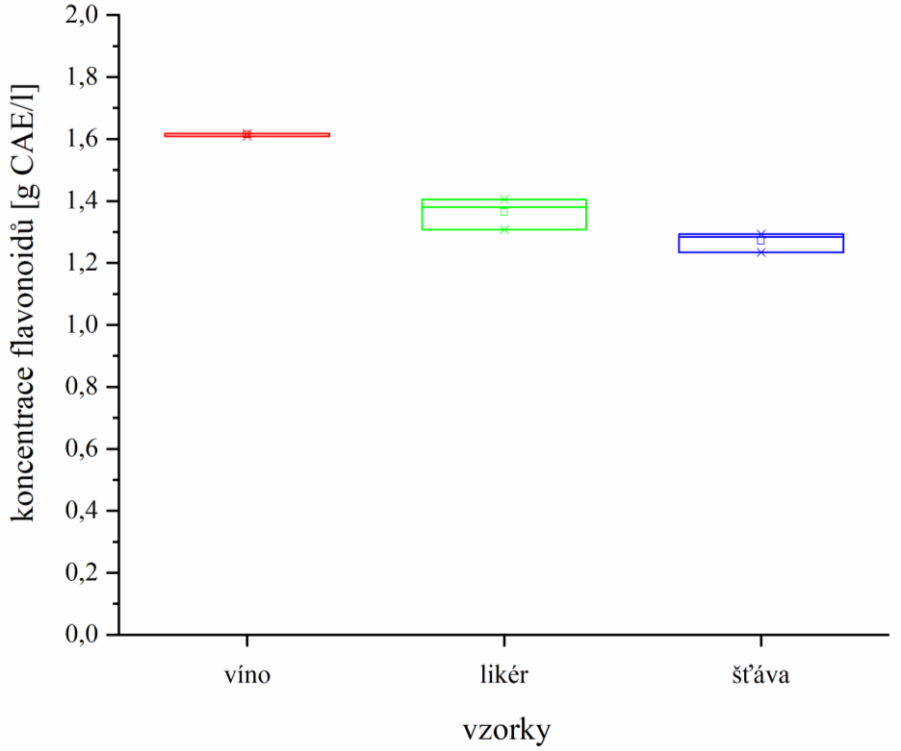
Obrázek P 9: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových redukujících sacharidů ve vzorcích extraktů pomocí DNS.



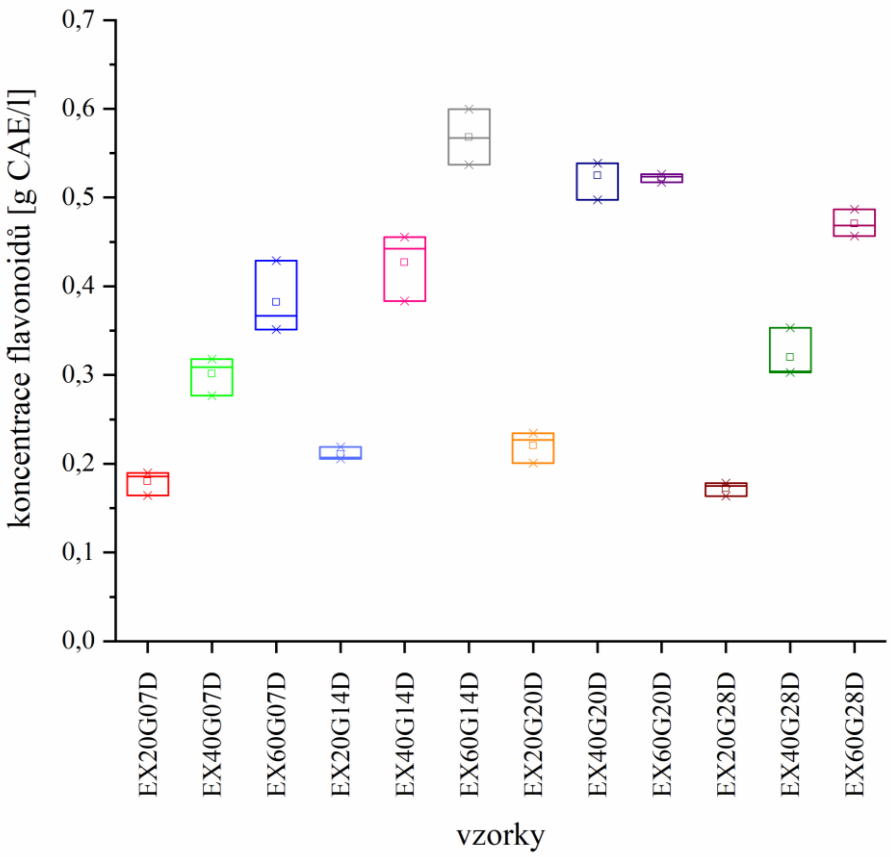
Obrázek P 10: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových polyfenolů ve vzorcích produktů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla.



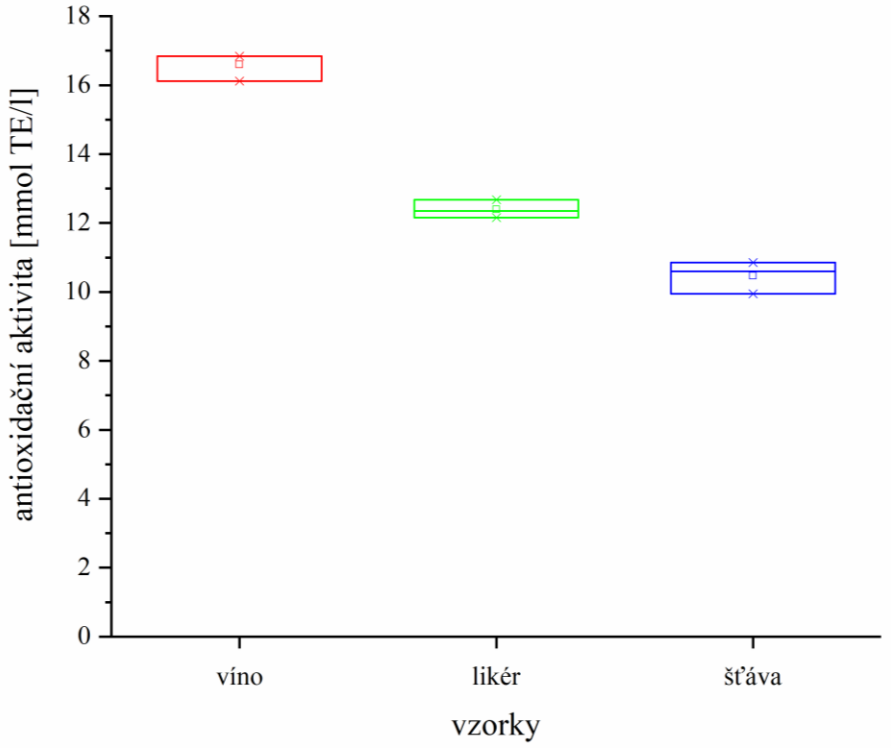
Obrázek P 11: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových polyfenolů ve vzorcích extraktů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla.



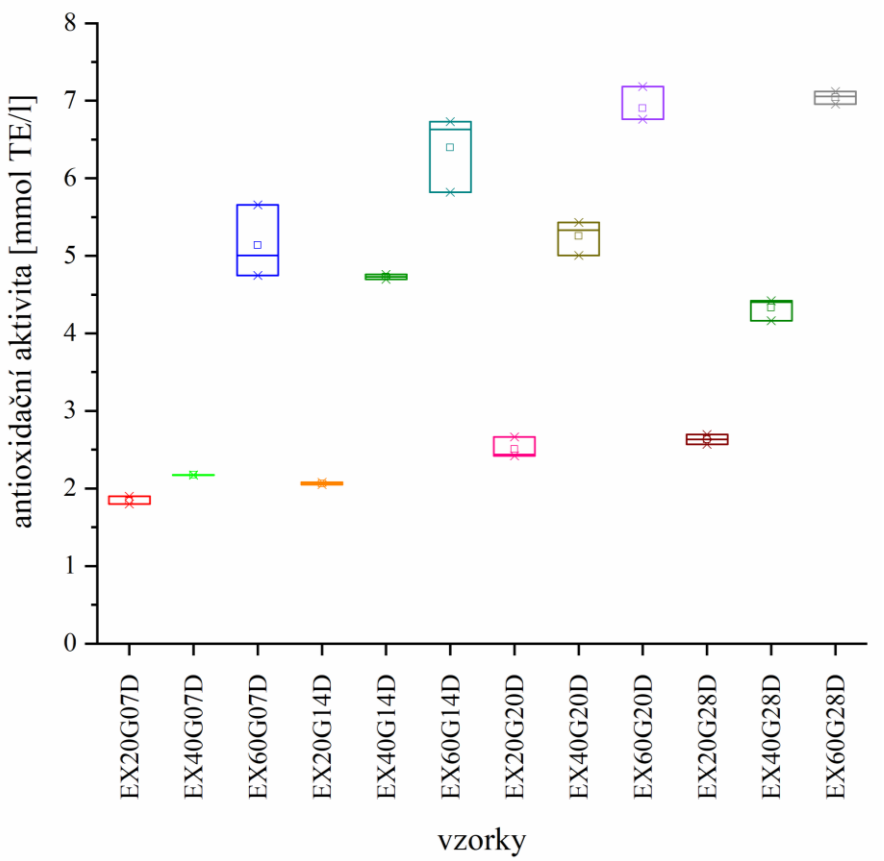
Obrázek P 12: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových flavonoidů ve vzorcích produktů pomocí chloridu hlinitého.



Obrázek P 13: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkových flavonoidů ve vzorcích extraktů pomocí chloridu hlinitého.



Obrázek P 14: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkové antioxidační aktivity ve vzorcích produktů pomocí kation-radikálu ABTS.



Obrázek P 15: Graf statistického vyhodnocení dat – stanovení celkové antioxidační aktivity ve vzorcích extraktů pomocí kation-radikálu ABTS.