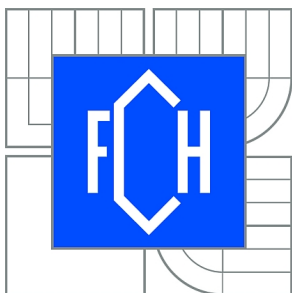




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ZIMOLEZ KAMČATSKÝ - NETRADIČNÍ OVOCE V ČESKÉ REPUBLICE

HONEYSUCKLE LONICERA CAMTSCHATICA - UNCONVENTIONAL FRUIT OF CZECH
REPUBLIC

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

EVA RYBNÍČKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

RNDr. MILENA VESPALCOVÁ, Ph.D.

BRNO 2011



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0606/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Eva Rybníčková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Zimolez kamčatský - netradiční ovoce v České republice

Zadání bakalářské práce:

- 1) Popis rostliny a plodů zimolezu (*Lonicera kamtschatica*).
- 2) Účinné látky obsažené v plodech zimolezu.
- 3) Využití plodů pro potravinářské účely.
- 4) Metody stanovení vybraných účinných látek zimolezu.

Termín odevzdání bakalářské práce: 6.5.2011

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Eva Rybníčková
Student(ka)

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá možnostmi využití plodů zimolezu kamčatského (*Lonicera kamtschatica*) v potravinářském průmyslu. V první části jsou popsány vlastnosti této rostliny a metody jejího pěstování. Druhá kapitola se zabývá chemickým složením plodů a významem nutričně hodnotných látek v nich obsažených. Třetí kapitola hodnotí dosavadní rozšíření plodů ve světě po komerční stránce a možnosti zpracování těchto plodů do produktů. Poslední část se zabývá metodami izolace a stanovení významných látek v plodech, konkrétně anthokyanů.

ABSTRACT

This work speaks about the possibilities of using fruits of the blue honeysuckle (*Lonicera camtschatica*) in the food industry. The first part describes the properties of this plant and methods of its cultivation. The second chapter deals with the chemical composition of the fruits and the importance of nutritionally valuable substances contained in them. The third chapter assesses the current appearance of the fruits in the world in the commercial point of view and the possibilities of processing the fruits into products. The last part deals with the methods of isolation and determination of important substances in the fruits, namely anthocyanins.

KLÍČOVÁ SLOVA

zimolez kamčatský, kamčatská borůvka, *Lonicera kamtschatica*, anthokyany, stanovení anthokyanů, HPLC

KEYWORDS

blue honeysuckle, haskap, *Lonicera camtschatica*, anthocyanins, determination of anthocyanins, HPLC

RYBNÍČKOVÁ, E. *Zimolez kamčatský - netradiční ovoce v České republice*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 54 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D..”

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

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	Popis rostliny a plodů zimolezu (<i>Lonicera kamtschatica</i>)	9
2.1.1	Stručně o historii zimolezu.....	9
2.1.2	Výskyt a zařazení	9
2.1.3	Popis rostliny	12
2.1.4	Pěstování a množení.....	14
2.1.5	Odrůdy a jejich hodnocení	15
2.1.6	Zimolez ve světě.....	17
2.2	Účinné látky obsažené v plodech zimolezu	18
2.2.1	Vitamin C	18
2.2.2	Anthokyany	20
2.2.2.1	Chemická struktura anthokyanů.....	21
2.2.2.2	Zbarvení anthokyanů.....	21
2.2.2.3	Anthokyany v <i>Lonicera kamtschatica</i>	24
2.2.2.4	Funkce anthokyanů v živých organismech	27
2.2.2.5	Anthokyany jako přírodní barviva	28
2.2.3	Další významné látky	29
2.2.3.1	Vitaminy skupiny B	29
2.3	Využití plodů pro potravinářské účely	30
2.3.1	Současné využití bobulí zimolezu ve světě	30
2.3.2	Výhody a využití plodů zimolezu	31
2.3.3	Možnosti zpracování bobulovitého ovoce.....	35
2.3.3.1	Výroba kandovaného ovoce	35
2.3.3.2	Výroba džemů	35
2.3.3.3	Výroba marmelád	36
2.3.3.4	Výroba rosolů	37
2.3.3.5	Výroba ovocných vín	37
2.4	Metody stanovení vybraných účinných látek zimolezu	37
2.4.1	Metody stanovení anthokyanů	37
2.4.1.1	Extrakce a purifikace.....	37
2.4.1.2	Separace	38
2.4.1.3	Chromatografické metody	38
2.4.1.4	Zařízení pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC)	40
2.4.1.5	Elektromigrační separační metody	41
2.4.2	Příklady stanovení anthokyanů v <i>L. caerulea</i> kapalinovou chromatografií.....	42
2.4.3	Zamyšlení nad separací anthokyanů pro praktické využití a příklady separace čistých anthokyanů z praxe	44
3	ZÁVĚR.....	45
4	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	46
5	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	52
6	PŘÍLOHY.....	54

1 ÚVOD

Ovoce je bezesporu jednou z nejvýznamnějších součástí jídelníčku každého z nás. Obsahuje řadu důležitých vitaminů, minerálů, stopových prvků a dalších nutričně hodnotných látek, které přispívají ku zdraví a kondici lidského organismu. Obzvláště bobulovité plody jsou vyhlášeny jako kvalitní zdroj vitaminu C, E a bioaktivních polyfenolů, jako jsou např. fenolové kyseliny a flavonoidy, u kterých byl prokázán pozitivní účinek při léčbě i prevenci řady onemocnění.

Zimolez kamčatský je rostlina, jejíž plody jsou vzhledem i chutí podobné borůvce a někdy tak bývá i nazývána – kamčatská borůvka. Pochází ze severních zemí a ve zbytku světa není doposud příliš známá. Naopak ve své rodné zemi, v Japonsku, jsou její bobule od dávných dob konzumovány a jsou pověstné svými antimikrobiálními a antioxidačními účinky. Během posledních pár desetiletí se v Japonsku vyvinulo komerční pěstování zimolezu a nyní se tam lze setkat s řadou výrobků obsahujících právě jeho plody.

Zájem o tuto rostlinu na sebe nenechal dlouho čekat a již pár let probíhá její výzkum převážně v Rusku, v Kanadě a ve Spojených státech a poslední dobou je jí věnována pozornost i v Evropě, Českou republiku nevyjímaje.

Zimolez má oproti jiným bobulovitým rostlinám tu výhodu, že plodí velmi brzy (některé odrůdy již v květnu), tudíž je jeho ovoce k mání mezi prvními v sezóně. Díky drsným podmínkám, ze kterých pochází není nikterak náročný na pěstování, nemá žádné speciální požadavky na typ půdy a snáší i větší mrazíky.

Důvodem pěstování a výzkumu zimolezu je jeho významná výživová hodnota. Je typický vysokým obsahem rostlinných barviv – anthokyanů, u kterých byla prokázána značná antioxidační aktivita, antikarcinogenní účinky a také možné využití jakožto přírodních barviv.

Zimolez je rozhodně na velice dobré cestě obohatit spotřebitelský trh a být přínosem pro potravinářský a zemědělský průmysl.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Popis rostliny a plodů zimolezu (*Lonicera kamtschatica*)

2.1.1 Stručně o historii zimolezu

V tabulce 1 je nastíněn vývoj poznávání zimolezu od jeho objevení až po současnost.

Tabulka 1 Historie zimolezu

dávná historie	Zimolez je objeven japonským kmenem Ainu a je jím pojmenován jako „haskap“.
konec 17. st.	Zmínka o zimolezu v literatuře v legendách ruského badatele Vladimira Atlasovova.
druhá pol. 18. st.	Badatel a vědec Štěpan Krašeninnikov se zmiňuje o používání a zpracovávání zimolezu místními obyvateli.
1836	Peter Kužmišev navrhuje kultivaci zimolezu, což je doopravdy realizováno kolem roku (...)
1892	(...) kdy T. D. Maurice publikuje výsledky kultivací zimolezu ve svém časopise „Plodovodstvo“
1894	Zimolez je poprvé botanicky popsán.
50. léta 20. st.	Začíná výzkum této rostliny ke komerčnímu využití v Rusku ve Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) s druhy <i>L. kamtschatica</i> , <i>L. edulis</i> , <i>L. altaica</i> a <i>L. boczkarnikowae</i>
50. léta 20. st.	V Beaver Lodge, Alberta, se začínají pěstovat okrasné odrůdy zimolezu.
70. léta 20. st.	Začíná výzkum rostliny ke komerčnímu využití v japonském Hokkaidu s druhem <i>L. emphylocalyx</i> a krátce na to v Číně s druhy <i>L. edulis</i> a <i>L. boczkarnikowae</i> .
konec 90. let 20. st.	Bob Bors z kanadské University of Saskatchewan shromažďuje odrůdy z Japonska a Ruska a produkuje tak největší genetický materiál odrůd na světě.

[1,2,3]

2.1.2 Výskyt a zařazení

Zimolez není v České republice, ba dokonce ani ve většině Evropy, příliš známý. V ČR je pěstován v několika zemědělských výzkumných a šlechtitelských ústavech a řízky některých jeho odrůd jsou i běžně k prodeji, ale v přírodě se zde volně nevyskytuje. Jeho původ sahá na sever do oblastí mírného pásu severní Asie, Evropy a Ameriky. Vyskytuje se především na severovýchodě, a to v asijské části Ruska, na východní Sibiři, Kamčatce, Sachalinu, Kurilských ostrovech, v Číně a v Japonsku. Na západě až tak rozšířen není. Oproti Číně, kde se vyskytuje přes 100 druhů zimolezu, je jich v Evropě a v Severní Americe pouze 20. Na americkém kontinentu jej nalezneme hlavně v Kanadě, a v Evropě pak v Alpách nebo ve Skandinávii. Některé druhy rostou i v tropických a subtropických zemích, a to v Mexiku, severní Africe, na Jávě nebo Filipínách. Zimolez se vyskytuje převážně v místech, jako jsou

tajgy nebo hory, kde obývá boreální¹ lesy, rašeliniště a močály. Ve světě je tato rostlina známá pod názvy „blue honeysuckle“, „honeyberry“, „edible honeysuckle“, „sweet berry“ (angl.), "Жимолость съедобная" [žimolost' sjedobnaja] (rus.) nebo „haskap“, případně „haskappu“ (jap.). U nás se jí říká také „zimolez jedlý“, „zimolez modrý“ nebo „kamčatská borůvka“², což je zároveň i její obchodní název. [2-8]

Zimolez, latinským názvem *Lonicera* L. (podle Carla Linné), je taxonomicky zařazen následovně [2,4]:

Soustava:	<i>Vitae</i> (živé organismy)
Doména:	<i>Eukaryota</i>
Nadříše:	<i>Bikonta</i>
Říše:	<i>Plantae</i> (rostliny)
Podříše:	<i>Tracheobionta</i> (cévnaté)
Nadoddělení:	<i>Spermatophyta</i> (semenné)
Oddělení:	<i>Magnoliophyta</i> (krytosemenné)
Třída:	<i>Rosopsida</i> (vyšší dvouděložné)
Podtřída:	<i>Asteridae</i> (asteridy)
Řád:	<i>Dipsacales</i> (štětkotvaré)
Čeleď:	<i>Caprifoliaceae</i> (zimolezovité)

Rod *Lonicera* L. zahrnuje více než 200 druhů. Nejznámějším z nich je druh *Lonicera caerulea* L., do kterého patří například tyto poddruhy:

- Lonicera caerulea* L. (zimolez modrý)
 - Evropa, Asie, Severní Amerika
 - Lonicera pallasii* L.
 - sever Ruska, Murmanská, Archangelská a Bologodská oblast, Ural, západní a východní Sibiř, Skandinávie
 - Lonicera altaica* Pall.
 - Altaj a Sajany ve výškách 1 000 m n. m.
 - Lonicera kamtschatica* Sevast. Pojark (zimolez kamčatský)
 - Kamčatka, Sachalin, Magadanská oblast
 - Lonicera venulosa* L.
 - Primorská a Chabarovská oblast
 - Lonicera emphyllocalyx* L.
 - Kurilské ostrovy
 - Lonicera edulis* Turcz. Ex Freyn (zimolez jedlý)
 - Amurská tajga
 - Lonicera boczkarnikowae* Plekh.
 - endemit² z Dálného Východu
- [9]

nebo dále *Lonicera angustifolia* (zimolez úzkolistý) a *Lonicera villosa* (zimolez chundelatý).

¹ Pojmenování pro severské obvykle jehličnaté lesy

² Druh, který vznikl a je rozšířen pouze v jedné oblasti a nikde jinde se nevyskytuje

Většina ostatních druhů rodu *Lonicera* L. nemá jedlé plody (příčinou bývá výrazná hořkost) nebo jsou dokonce i mírně jedovaté (*Lonicera xylosteum* L.), používají se proto pouze jako okrasné keře. Například poddruh *Lonicera kamtschatica* má drobné nenápadné květy a pěstuje se hlavně kvůli velice chutným bobulím, narozdíl od druhu *Lonicera periclymenum* (zimolez ovíjivý), který nemá jedlé plody, ale díky svým nápadným růžovým květům se používá jako okrasná dřevina. [2]



Obrázek 1 *Lonicera periclymenum* [10]



Obrázek 2 *Lonicera kamtschatica* (odrůda „Modrý triumf“) [11]

2.1.3 Popis rostliny

Zimolez kamčatský je 1,5 až 2 m vysoký opadavý keř s kořeny zasahujícími do hloubky 0,5 až 0,8 m. Na jeho větvích vyrůstají 3 až 8 cm dlouhé a 1 až 3 cm široké listy žlutozelené až temně zelené barvy. Tyto listy jsou jednoduché, celokrajné podlouhlé až kopinaté s lehce voskovitou texturou. Listová čepel je lysá nebo ochlupená. Přítomny bývají taktéž velké diskovité palisty, které na podzim, na rozdíl od listů, neopadávají, ale zůstávají na výhonech.

Ve stáří tří let začíná během února až dubna kvést drobnými žlutozelenými květy rostoucími jednotlivě nebo až po čtyřech kusech z jednoho pupenu. Květy rostou jako 5 laloků ve tvaru podobném trubce. Jejich tvar může být trubkovitý, trubkovitě nálevkovitý nebo trubkovitě zvonkovitý.

Od čtyř let začíná zimolez kamčatský plodit. Bobule dozrávají oproti jiným druhům ovoce poměrně brzy, a to už v květnu. Rostou buď po jednom, nebo po dvou jako souplodí z jednoho květu, jsou 2 až 4 cm dlouhé, 6 až 15 mm široké a váží cca 0,2 až 2 g. Zralé plody jsou voskově ojíňeny a zbarveny tmavomodře, modrošedě až do fialova, tvarem protáhlé, okrouhlé, oválné, válcovité, větvenovité nebo džbánovité.



Obrázek 3 Plod *Lonicera kamtschatica* [12]



Obrázek 4 Květ *Lonicera kamtschatica* [12]

Uvnitř jsou zbarveny tmavě červeně. V každém plodu se nachází kolem 8 až 20 semen (počet závisí na řadě faktorů) podobných semenům, jaké jsou například v kiwi. Semena jsou tak malá, že jsou chuťově naprosto zanedbatelná. Jedno váží jen 0,9 až 1,2 mg. Plody mohou být lehce až velmi hořké, kyselé nebo sladké. Jejich chuť bývá připodobňována k borůvkám nebo malinám a velice závisí na konkrétní odrůdě. Atraktivní chuť bobulí nebyla vždy pravidlem. Bobule divokého zimolezu jsou spíše hořké s chutí podobné toniku nebo chininu. Optimální chuti bylo dosaženo až šlechtěním.

Některé odrůdy jsou schopné remontovat. Například odrůda ‚Remont‘ zimolezu kamčatského může při dostatečné závlaze a nahnojení po sklizni podruhé plodit ještě na konci července. Obvyklá sklizeň z jednoho keře zimolezu se pohybuje okolo 2 až 5 kg plodů ročně, přičemž výtěžnost záleží na druhu či odrůdě a zvyšuje se s věkem rostliny. Nejvíce keř plodí od 8. do 15. roku života. [3,8,9,13,14]

2.1.4 Pěstování a množení

Pro výsadbu se doporučuje dobře osvětlený rovinný pozemek. Zimolez je možné pěstovat dohromady s černým rybízem, s nímž má shodnou agrotechniku. Průměrná roční teplota by měla být mezi 6 až 8 °C a roční průměr srážek 500 až 700 mm, přičemž nejvíce vody potřebuje v době kvetení, na začátku růstu a při zrání plodů. [15]

Zimolez se dá množit generativně nebo vegetativně. Generativním množením se rozumí rozmnožování semen. Ta se sejí buď na podzim, nebo na jaře, přičemž u jarní výsadby je nutno semena nechat dva měsíce stratifikovat v lednici, kdežto při podzimní výsadbě se stratifikují sama přes zimu. Spíše se doporučuje podzimní výsadba. Semena začínají klíčit 3 až 6 týdnů po zasetí obvykle s úspěšností 50 až 90 %, což je uspokojivé. Nicméně tato metoda není nikterak vhodná, protože semenáče si nezachovávají vlastnosti matečné rostliny a často dochází k tomu, že jejich plody nejsou příliš chutné. [3,15,16]

Více se v praxi uplatňuje množení vegetativní. To se provádí pomocí řízků, které se získávají z rostlin, které ještě neprošly generativní fází, nejlépe pěstovaných in vitro. Řízky bývají zpola vyzrálé, dlouhé až 10 cm a řežou se na přelomu července a srpna. Vysazují se 1 až 2 m od sebe v řadě, přičemž řady by měly být od sebe vzdálené 2 až 3 m. Sadí se do jámy 30 až 50 cm hluboké a 50 až 60 cm široké a na dno se dává kompost. Jinou používanou metodou je tzv. hřížení, které se provádí tak, že se větev rostliny ohne a zaboří do země, kde začne kořenit. [17,18]

Aby zimolez poskytl dostatečnou úrodu, musí být pravidelně přihnojován a půda se musí udržovat vlhká, obzvláště během prvních tří let. Po 4 letech od výsadby a každé následující 4 roky je potřeba keř prosvětlit, to znamená zredukovat jeho objem vystříháním větví uvnitř keře, aby se navzájem nestínily a byly přístupné slunečním paprskům. [19]

Zimolez bývá považován za cizosprašnou rostlinu, nicméně u některých odrůd – například u ‚Modrého triumfu‘ – byla prokázána i samosprašnost. Cizosprašnou odrůdu je nutno vysadit společně s další rostlinou téhož druhu, ale jiné odrůdy. Nesmí si být příliš příbuzné, ale měly by mít přibližně stejně načasovanou dobu kvetení. Ideální kombinací je například odrůda ‚Amur‘ vysazená společně s odrůdou ‚Altaj‘. Kombinace kanadských ‚Blue Belle‘ a ‚Berry Blue‘ je taktéž vhodná. Naopak ale odrůdy ‚Tundra‘ a ‚Borealis‘ jsou si příliš blízké, a proto k vzájemnému oplodnění nedochází. [8,20-22]

Jelikož zimolez začíná kvést velice brzy, může být opylen pouze čmeláky, kteří vylétají dříve, než včely. Nepřítomnost čmeláků mívá obvykle za následek to, že rostlina nebude opylena a tudíž nebude plodit, nebo její plody budou příliš malé. [8]

Zimolez celkem dobře snáší sucho, ale pokud je pěstován pro sklizeň bobulí, je potřeba poskytnout mu dostatek vláhy. Je tolerantní vůči mnoha typům půd. Na rozdíl od borůvek, které vyžadují kyselou půdu, snese půdy kyselé, zásadité i neutrální (ideální pH je 5 až 8) a roste jak v písčitéch, tak i v hlinitých nebo jílovitých půdách. Koncentrace humusu je vhodná 2,2 až 2,5 %. Zimolez je odolný i vůči menší koncentraci živin, nicméně vyžaduje slunné stanoviště. [15,17,22,23]

Další poměrně markantní výhodou u pěstování zimolezu je, že netrpí téměř žádnými chorobami a ani není příliš atraktivní pro škůdce. Ohrožit jej ale můžou ptáci, kteří požírají jeho plody, a proto je vhodné zabezpečit keře sítí. Snad jediným ze škůdců, které mohou parazitovat na zimolezu, je padlí. Tato houba patří k řádu *Erysiphales* se projevuje jako práškovité skvrny na bobulích, listech nebo stoncích rostliny. Na rostlinách se objevuje až někdy v červenci, kdy už bývá po sklizni, takže by s ní neměl být nikterak významný problém. Výjimečně se mohou objevit další škůdci, například zelená mšice zimolezová, štítěnka bílá a puklice švestková. [15,22,24]

Klimatické podmínky mírného pásu jsou pro tuto rostlinu ideální. Vzhledem k prostředí, ze kterého pochází, je velice tolerantní vůči nízkým teplotám, přežívá i při teplotách kolem -50 °C, mladé výhonky dokáží snést teplotu až -18 °C a při až -10 °C dokáží přežít její květy. Resistance zimolezu vůči nízkým teplotám je dána přítomností trisacharidu rafinosy nebo oligosacharidů tvořených glukosovými jednotkami, u kterých byl prokázán kryoprotektivní efekt a tolerance vůči vysychání. [6,25]

2.1.5 Odrůdy a jejich hodnocení

V České republice byly zatím registrovány tyto odrůdy:

Tabulka 2 Seznam odrůd zimolezu [13,14,18]

Altaj	Afrodita	Amfora	Amur
Bakcarskaja	Berel	Čeljabinka	Čulyskaja
Dlinnoplodnaya	Fialka	Gerda	Gordost Bakčara
Goluboje vreteno	Gželka	Kamčadalka	Kola 44
Lazurnaja	Leningradsky velikan	Mailon	Maistar
Modrý triumf	Morena	Narymskaja	Nymfa
Ognennyj Opal	Pamjati Gidzjuka	Remont	Roksana
Sibirjačka	Silginka	Sineglazka	Sinyaya ptica
Solowyška	Tomička	Vasiljevskaja	Vasjuganská
Viola	Volchova	Zoluška	

Pro pěstování se doporučují zejména odrůdy ,Altaj‘, ,Fialka‘, ,Amfora‘, ,Amur‘, ,Viola‘ a ,Morena‘. Na základě organoleptických vlastností byly nejlépe hodnoceny odrůdy ,Altaj‘ a ,Morena‘. [13,15]

Základní rozdělení odrůd se určuje podle období zrání plodů, a to na rané, středně rané, středně zrající a středně pozdní (tabulka 3).

Tabulka 3 Rozdělení podle zrání plodů [13]

rané	,Goluboj vereteno‘, ,Tomička‘, ,Morena‘
středně rané	,Vasjuganská‘, ,Gerda‘, ,Zoluška‘, ,Sinaja ptica‘
středně zrající	,Amfora‘, ,Bakcarskaja‘, ,Viola‘, ,Nymfa‘
středně pozdní	,Kamčadalka‘, ,Roksana‘, ,Fialka‘

V tabulce 4 jsou uvedeny znaky pro hodnocení, orientačně jejich hodnoty a pro daný znak nejlépe hodnocené odrůdy.

Tabulka 4 Kritéria hodnocení odrůd [13]

výška keře	,Viola‘, ,Altaj‘, ,Gerda‘	0,67 – 1,72 m
objem keře	,Viola‘, ,Altaj‘, ,Gerda‘	0,29 – 2,65 m ³
množství vitamínu C	,Fialka‘, ,Kamčadalka‘, ,Altaj‘	82,20 – 186,6 mg/kg
množství kyseliny jablečné	nejméně ,Viola‘, nejvíce ,Amfora‘	18,12 – 32,19 mg/kg
doba kvetení	14 – 20 dní	
hojnost květů	,Lebeduška‘, ,Gerda‘, ,Nymfa‘	
doba ukončení vegetace	polovina září až konec října	
přítomnost remontujících³ květů	,Bakcarskaja‘, ,Tomička‘, ,Viola‘, ,Remont‘	
sklizeň	,Altaj‘, ,Amfora‘, ,Fialka‘	0,22 – 0,86 kg/rok pro jeden keř
hmotnost plodů	,Viola‘, ,Amfora‘, ,Fialka‘	0,49 – 0,94 g
barva plodů	Převážně barvy modrá, tmavě modrá, fialovomodrá a modrofialová.	
tvár plodů	Oválný, hruškovitý, džbánkovitý, kapkovitý, větvenovitý, válcovitý. Dále se hodnotí stupeň ožínění.	
organoleptické vlastnosti	,Altaj‘, ,Morena‘	<i>Hodnotí se vzhled slupky, chuť dužiny a aroma.</i>
mrazuodolnost	Téměř všechny odrůdy jsou vysoce odolné, jen některé jsou středně odolné.	
opad plodů před sklizní	,Kamčadalka‘, ,Viola‘, ,Amur‘	<i>Popisuje schopnost zralého plodu udržet se na stopce.</i>

³ *remontovat*: kvést vícekrát za jedno vegetační období

Další kritéria, která určují kvalitu odrůdy, mohou být [26]:

- a) *Přítomnost stopky po utržení plodu* – stopka by měla zůstat na větvičce, protože při dalším zpracování může překážet.
- b) *Porušení plodu po utržení* (tzv. „scar“). Sleduje se vlhkost plodu po utržení – je třeba dbát na to, aby vyteklo co nejméně šťávy.
- c) *Integrita*. S plody se provede nějaká integritu narušující činnost a pak se hodnotí jejich stav známkami **A**, **B**, **C**, **D** a **E** podle následující stupnice:

A: suchá a nepoškozená bobule

B: bobule lehce vlhká od šťávy

C: bobule již není vhodná pro komerční využití

D a **E**: velmi výrazné poškození bobule

2.1.6 Zimolez ve světě

Zimolez má v zemích, jako je Rusko nebo Japonsko již mnohaletou tradici, nicméně oblíbenost tohoto ovoce se dříve týkala jenom divokých druhů. Zimolez není ve všech zemích, ve kterých divoce roste, uznáván oficiálně jako ovoce určené k prodeji ať už plodů nebo semen. Pěstitelské programy začaly až v 50. letech v Rusku a v 80. letech v Japonsku. V 90. letech se pěstování zimolezu rozšířilo do Severní Ameriky. Komerčně je zimolez používán jen v Číně a v Japonsku, nicméně jeho pěstování a šlechtění je rozvíjeno ve stále více zemích světa. Hlavní země, které se zabývají výzkumem plodů zimolezu, jsou kromě Japonska, Číny a Ruska, také Kanada, USA, Švédsko, Finsko, Norsko, Estonsko, Polsko, Velká Británie, Česká republika a Slovensko.[6,27-30]

V Japonsku je zimolez na trhu známý jako „haskap“. Tento název pochází od starověkého japonského kmene Ainu z ostrova Hokkaido a znamená „hodně malých věcí na vrcholu větví“. V roce 1967 se v Japonsku začalo s domestikací zimolezu a nyní s ním má nejrozvinutější trh ze všech zemí světa. Název haskap se používá taktéž pro zimolez pěstovaný v Kanadě nebo v USA, nicméně není to ten stejný druh pravého japonského zimolezu. Říká se mu tak, protože japonský zimolez (tedy haskap) je považován, co se týká chuti a velikosti bobulí, za nejkvalitnější a kanadští šlechtitelé se pokoušejí toto ovoce co nejvíce napodobit, jelikož usilují o prosazení svých odrůd na japonském trhu. [31], [32], [28]

Ze západního světa se nejvíce na rozvoji zkomerčnění zimolezu pracuje v Kanadě a to pod vedením Dr. Boba Borse na The University of Saskatchewan v Saskatoonu, kde je také shromážděno nejvíce odrůd jak z Kanady, tak z Ruska a Japonska. Mezi nejznámější kanadské odrůdy patří ‚Borealis‘, ‚Tundra‘, ‚Berry blue‘ nebo ‚Blue Belle‘. V Kanadě mají za cíl vyšlechtit odrůdy, které by splňovaly všechny následující požadavky: 1) brzo dozrávající plody snadno oddělitelné od stopky, což je vlastností ruských odrůd, 2) velké kulaté bobule, jako jsou pěstované v Japonsku a 3) dobrá odolnost vůči chorobám typická pro plody z Kurilských ostrovů. [22,24,33]

Ve Spojených státech se výzkumu zimolezu věnují v Oregonu na Oregonské státní univerzitě v Corvallis, nebo na The National Clonal Germplasm Repository, kde byl zaveden výzkum zimolezu pod vedením prof. Maxine Thompsonové.[28,29,34]

V Rusku potom na Pavlovské výzkumné stanici VIR. [13]

V České republice je zimolez pěstován a zkoumán na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně, v Lipníku nad Bečvou se věnují šlechtění i prodeji zimolezu kamčatského v zahradnictví Chovanec, kde jsou k dostání odrůdy ‚Remont‘ a ‚Modrý triumf‘. Dále se

výzkum zimolezu uskutečňuje ve Zlíně na Univerzitě Tomáše Bati, na Lékařské fakultě Univerzity Palackého v Olomouci a ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském v Holovousech. Na Slovensku potom v Botanické záhradě Poľnohospodárskej univerzity v Nitre. [2,14,35,36]

2.2 Účinné látky obsažené v plodech zimolezu

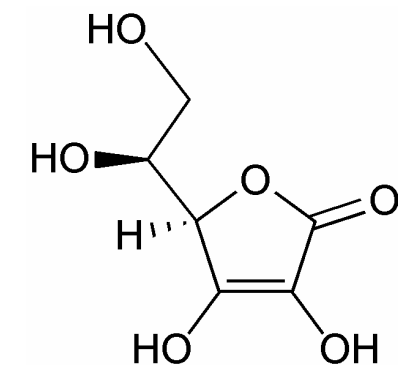
Pro bobulovité ovoce obecně platí, že obsahuje mnoho zdraví prospěšných látek a zimolez zdaleka není výjimkou. Japonským kmenem Ainu byl dokonce nazván „elixírem života“. Ve východních zemích se už dlouho používá v lidové medicíně pro své antioxidační a antimikrobiální účinky, proti vysokému krevnímu tlaku nebo poruchách trávicího traktu. Odvary z listů a květů bývají používány jako diuretikum, desinfekce a antiseptikum. V Japonsku se dokonce prodává zimolezový džus se sloganem "Golden Remedy for the Eternal Youth and Longevity", což znamená „Zlatý lék pro věčné mládí a dlouhověkost“. [2,3,32]

Svým složením se zimolez nejlépe podobá borůvkám, ostružinám nebo černému rybízu. Je obzvláště bohatý na vitamin C, vitaminy skupiny B (převážně B₁, B₂ a B₉), karotenoidy (provitamin vitaminu A), pektiny a třísloviny. Z organických kyselin obsahuje hlavně kyselinu citrónovou, dále kyselinu jablečnou, jantarovou, listovou, šťavelovou a již zmíněný vitamin C – kyselinu askorbovou. Obsahuje také minerální látky jako draslík, hořčík, vápník, fosfor, měď a železo. Velmi významné jsou jeho fenolové kyseliny a flavonoidy, například anthokyany nebo proanthokyany, které jsou zodpovědné za zbarvení zimolezu.

Plody jsou složeny z 10 až 17 % sušiny, z níž asi 15 % je rozpustný podíl. Obsahují 3 až 13 % sacharidů, které tvoří převážně glukosa (75 %) a sacharosa (50 až 90 %), dále 1,1 až 1,6 % pektinů, 400 až 1500 mg/100 g polyfenolů, 1,52 % lipidů, 1,5 až 4,5 % organických kyselin. Z aminokyselin je v zimolezu přítomen hlavně asparagin, glutamin, leucin a alanin. [2,6,9,13,37]

Chemické složení bobulí je ovšem závislé na mnoha faktorech, takže procentuální zastoupení jednotlivých látek se může značně lišit například dle podmínek, v jakých byla rostlina pěstována. Složení závisí na teplotě, zavlažování, stavu půdy, nebo se také liší v závislosti na druhu nebo odrůdě. Při suchém a teplém počasí získávají plody více cukrů, barviv a tříslovin a naopak za chladného a deštivého počasí se zvyšuje obsah kyseliny askorbové a plody jsou kyselejší. [13]

2.2.1 Vitamin C

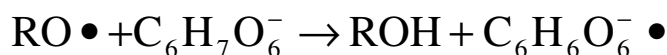


Obrázek 5 Struktura vitaminu C

Vitamin C neboli kyselina askorbová je triviálním názvem pro 2,3-endiol γ -laktonu 2-oxo-L-gulonové kyseliny. Je přítomen ve všech živočišných i rostlinných buňkách buď jako volný nebo jako vázaný k bílkovinám. Většina živočichů si dokáže vitamin C vytvořit sama, nicméně pro některé (např. člověk, morče, kapybara, někteří primáti atd.) je esenciální a je nutno jej přijímat v potravě. Je nejvíce obsažen v rostlinných materiálech, hlavně v citrusových plodech, listové zelenině, rajčatech, bramborách a bobulích. Z živočišných produktů je přítomen jen v mléce a v játrech. Průmyslově se vitamin C vyrábí z D-glukosy za pomoci bakterie *Acetobacter suboxidans*. [38-40]

Kyselina askorbová se v organismu účastní hydroxylačních reakcí, například biosyntézy katecholaminů, hydroxyprolinu a kortikosteroidů. Dále je součástí biochemických reverzibilních redoxních systémů, kde dochází k oxidaci jejich hydroxylových skupin na oxoskupiny (2,3-endiol $\leftrightarrow$ 2,3-dioxo). Funguje jakožto nespecifický donor vodíku (zabraňuje např. oxidaci Fe^{2+} na Fe^{3+} v různých oxygenázách), snižuje toxicitu řady xenobiotik (sloučenin těžkých kovů, dusitanů, dusičnanů) a potlačuje některé typy rakoviny. Účastní se metabolismu histaminu, kde brání jeho tvorbě a podporuje jeho odbourávání. Podporuje funkci imunitního systému stimulací produkce interferonů, což jsou proteiny, které dokáží chránit buňky proti virovému napadení. Chrání před aterosklerózou zamezením oxidace LDL (low density lipoprotein) cholesterolu volnými radikály. Dále je vitamin C důležitý při tvorbě kolagenu a jeho nedostatek může mít za následek delší hojení ran. [38,39,41]

Kyselina askorbová svými antioxidačními schopnostmi brání vzniku oxidačního stresu, což je nerovnováha mezi tvorbou volných radikálů a jejich odbouráváním. Oxidační stres může mít podíl na vzniku chorob kardiovaskulárního systému, zánětlivých onemocněních nebo cukrovky. Při redukci volných radikálů se váže vodík z hydroxylové skupiny askorbátu na nepárový elektron radikálu a vzniká tak radikálový iont semidehydroaskorbát.



Ten není příliš reaktivní a bývá enzymaticky přeměněn zpět na askorbát.

Nedostatek vitaminu C (hypovitaminóza) se obvykle projevuje zpomaleným růstem, zvýšenou kazivostí zubů, narušením stavby kostí, krvácením do kloubů a jejich deformacemi, nedostatečnou odolností proti infekcím, zvýšenou únavou, žaludečními problémy, lámavými vlasečnicemi a sníženou tvorbou mléka. Úplný deficit vitaminu C (avitaminóza) způsobuje nemoc zvanou kurděje. Z latinského názvu pro tuto nemoc (*scorbutus*) také vzniklo samotné pojmenování pro kyselinu askorbovou. Kurděje se projevují 45 až 80 dní po přerušení dodávky vitaminu C a jsou způsobeny narušením syntézy kolagenu, která je uskutečňována právě za pomoci vitaminu C. Projevují se krvácením z dásní, krvácením pod kůži, do svalů, do nehtových lůžek, do vnitřních orgánů, sníženou odolností proti nemocem, poruchou krvetvorby, depresi a ztrátou zubů. K avitaminóze docházelo spíše dříve v chudších oblastech nebo u námořníků, kteří neměli k dispozici pestré stravě. V dnešní době a především v západním světě je její výskyt vzácný. Předávkování (hypervitaminóza) vitaminem C není díky jeho rozpustnosti ve vodě pravděpodobné. [41]

Vitamin C je nejméně stabilní ze všech vitaminů a bývá snadno zničen zpracováním potravin nebo skladováním. Je málo odolný vůči přítomnosti kovů, některých enzymů, vzduchu a vyšší teplotě. Skladováním ovoce přes zimu do jara může dojít ke ztrátě až 70 % původního vitaminu C. [39,40]

V potravinářském průmyslu je používán k ochraně proti hnědnutí a ztrátě barvy v zeleninových a ovocných výrobcích, jako antioxidant v tucích a v rybích a mléčných produktech. Využívá se jako stabilizátor barvy v mase, zlepšovač mouky, akceptor kyslíku v pivu nebo jako redukční činidlo ve víně. [40]

Tabulka 5 udává doporučený denní příjem vitamínu C. [39] Tabulka 6 udává přibližný obsah vitamínu C v různých rostlinných plodech. [42]. V tabulce 10 je uveden obsah kyseliny askorbové v *Lonicera kamtschatica* (Sevast.) Pojark. odrůdy ‚Gerda/25‘ a jejich klonů. [43]

Tabulka 5 Doporučená denní dávka vitamínu C [39]

Konzument	DDD [mg]
Malé dítě	50-60
Dítě	70-100
Dospělý člověk	100
Kojící žena	150

Tabulka 6 Obsah vitamínu C v různých rostlinných plodech [42]

Rostlinný plod	Obsah [mg/100 g]	Rostlinný plod	Obsah [mg/100 g]
<i>Terminalia ferdinandiana</i>	3 100	Brokolice	90
<i>Myrciaria dubia</i>	2 800	Červený rybíz	80
Šípek	2 000	Papája	60
Rakytník řešetlákový	2 000	Pomeranč	50
<i>Malpighia emarginata</i>	1 600	Zelí	49
Baobab	400	Květák	40
Zelená chilli paprika	244	Citron	40
Černý rybíz	200	Mrkev	35
Červená paprika	190	Česnek	17
Růžičková kapusta	115	Ředkvička	17
Kiwi	90		

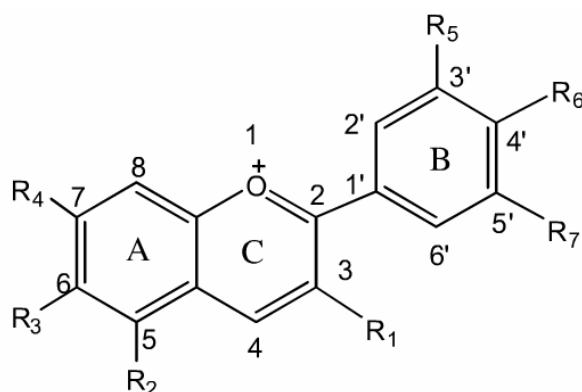
2.2.2 Anthokyany

Anthokyany (nebo také anthokyaniny) tvoří velmi významnou skupinu látek spadající pod flavonoidy. Flavonoidy jsou podskupinou polyfenolů a kromě anthokyanů zahrnují ještě flavonoly, flavanoly, flavonony nebo chalkony. Anthokyany jsou přírodní barviva, která poskytují rostlinám oranžové, růžové, červené, modré, nebo fialové zbarvení. Už jen samotný název tomu napovídá. Slovo „anthokyan“ je totiž původem z řeckého slova znamenajícího „tmavě modrá květina“ (*anthos* – květina, *kyanos* – tmavě modrá). Hlavním smyslem existence anthokyanů je nápadně zbarvit rostliny, a tím přilákat opylovače a zvěř, která rozšiřuje semena. Anthokyany v listech se stejně jako chlorofyl podílejí na fotosyntéze. Absorbují světlo stejné vlnové délky jako chlorofyl b (520 – 530 nm). Absorbují viditelné světlo o vlnové délce 500-550 nm a ultrafialové záření o vlnové délce 280 nm. Anthokyany jsou sekundárními metabolity zejména vyšších rostlin a jejich obsah se pohybuje od 0,1 do 1 % sušiny. Vyskytují se nejčastěji ve vakuolách buněk tvořících květy a plody, ale nejsou vzácné ani v listech, stoncích nebo kořenech. Bývají přítomny rozpuštěné ve vakuolárním roztoku epidermálních buněk a syntetizovány jsou v cytoplazmě pomocí multienzymového komplexu ukotveném na endoplazmatickém retikulu. U některých rostlin jsou přítomny ve

vakuolách zvaných anthokyanoplasty nebo také anthokyanové vakuolární inkluze. Doposud bylo v přírodních zdrojích identifikováno kolem 500 anthokyaninů a 23 anthokyanidinů. [40,44-46]

2.2.2.1 Chemická struktura anthokyanů

Chemicky jsou anthokyaniny hydroxyderiváty flavyliových (2-fenylbenzopyryliových) solí. Jsou to látky rozpustné ve vodě. Na obrázku je znázorněna základní struktura flavyliového kationtu:



Obrázek 6 Výchozí struktura anthokyanu [44]

Aromatická jádra flavyliového kationtu bývají substituována hydroxylovými nebo methoxylovými skupinami a těmito sloučeninám se obecně říká anthokyanidiny. [45]

V tabulce 7 jsou uvedeny nejznámější anthokyanidiny, jejich kombinace substituentů, barva a u některých i číslo kódu E. [44,47]

Volné anthokyanidiny (tzv. aglykony) se v rostlinných pletivech příliš nevyskytují, ale jsou přítomny jakožto glykosidy. Nejčastěji substituovanými cukry bývají monosacharidy D-glukosa, L-ramnosa, D-galaktosa, D-xyloza a L-arabinosa. Pokud jsou přítomny i di- nebo trisacharidy, bývají to rutinosa, sambubiosa, soforosa, laminaribosa a genciobiosa. Cukry mohou být dále substituovány organickými kyselinami, například kyselinou octovou, kumarovou, skořicovou, sukcinovou nebo kávovou a tvořit tak acylované anthokyaniny. [48]

Prekurzory anthokyanů jsou vyráběny během glykolýzy a pentosového cyklu. Fosfoenolpyruvát a erytroza-4-fosfát jsou základními kameny kyseliny šikimové, která spolu s acetátem formuje základní strukturu mnoha fenolických sloučenin, včetně anthokyanů. [46]

V přírodě nejvíce zastoupené anthokyaniny jsou kyanidin, delphinidin, pelargonidin, malvidin, peonidin a petunidin, přičemž nejčastější je kyanidin (50 %), delphinidin (12 %) a pelargonidin (12 %), dále peonidin (12 %), petunidin (7 %) a malvidin v množství 7 %. Kyanidin je přítomen až v 90 % druhů ovoce. Zajímavostí je, že na druhu anthokyanu může záviset to, kterým druhem hmyzu bude rostlina, která je jeho nositelem, opylována. Například květy obsahující delphinidin bývají opylovány hmyzem čeledi *Primulaceae*, *Polemoniaceae*, *Hydrophyllaceae* a *Boraginaceae*. [44,46,49]

2.2.2.2 Zbarvení anthokyanů

Zbarvení anthokyanů závisí hlavně na struktuře molekuly. Počet a kombinace -OH a -OCH₃ skupin ovlivňuje barvu tak, že čím více je přítomno hydroxylových skupin, tím více převládá modrý odstín a naopak methoxylová skupina činí anthokyan červeným. [46]

Barva anthokyanů je velmi nestálá a dokáže se měnit v závislosti na mnoha vnějších i vnitřních faktorech. Hlavními faktory ovlivňujícími intenzitu nebo odstín barvy jsou pH, teplota, světlo, kyslík, oxid siřičitý, kovy, kopigmenty, kyselina askorbová, enzymy nebo peroxidy. Velmi nápadná je náchylnost anthokyanů ke změně barvy v závislosti na pH, které způsobuje reverzibilní intramolekulární transformace. Obecně platí, že nízké pH způsobuje červený odstín a vyšší pH modrý. Při pH 1 je anthokyan sytě červený, při 4 až 4,5 je odbarvený. Se stoupajícím pH se barva opět stává červenou a při 7,5 až 8 se mění na modrou. Při dále se zvyšujícím pH se stává anthokyan žlutým a při velmi vysokém pH může být barva i šedozelená. Nejsytější a nejstabilnější barva je při pH menším než 3,5. Diglukosidy jsou vůči pH stabilnější než monoglukosidy, nicméně čím více cukerných zbytků anthokyan obsahuje, tím více je náchylnější k Maillardovým reakcím, což může mít také vliv na jeho barvu. [46,48]

Tabulka 7 Seznam anthokyaninů [44,47]

Anthokyanidin	Navázaná skupina							Barva	E-kod
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7		
Apigeninidin	H	OH	H	OH	H	OH	H	Oranžová	
Arrabidin	H	H	OH	OH	H	OH	OMe	- ⁴	
Aurantininidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Oranžová	
Kapensinidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Modročervená	
Karajurin	H	H	OH	OH	H	OMe	OMe	-	
Kyaninidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Oranžovočervená	163a
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Modročervená	163b
Europinidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Modročervená	
Hirsutidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Modročervená	
3'-HydroxyAb	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe	-	
6-HydroxyCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Červená	
6-HydroxyDp	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Modročervená	
6-HydroxyPg	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	-	
Luteolidin	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Oranžová	
Malvidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Modročervená	163c
5-MethylCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	Oranžovočervená	
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Oranžová	163d
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Oranžovočervená	163e
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Modročervená	163f
Pulchellidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Modročervená	
Riccionidin A	OH	H	OH	OH	H	OH	H	-	
Rosinidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Červená	
Tricetinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Červená	

⁴ barva není známa

Náchylnost anthokyanů ke změně barvy vlivem pH platí ve větší míře pro izolované anthokyan. Barva anthokyanů přítomných v rostlinném materiálu je totiž ovlivňována kopigmenty, které dokáží nejen modifikovat, ale i stabilizovat barvu. Slovo kopigmentace může znamenat něco jako „spolupodílení se na pigmentu“. Kopigmentace může být buď intermolekulární nebo intramolekulární. Intermolekulární kopigmentace je uskutečňována pomocí látek přítomných v blízkosti anthokyanů a kopigmentace intramolekulární znamená, že se na zbarvení podílejí látky na anthokyan navázané (například zbytky kyselin). Kopigmentace funguje tak, že nastane posun k delším vlnovým délkám (bathochromní efekt), což vede k červenějším odstínům a zároveň silně klesne absorpce (hyperchromní efekt). Jako intermolekulární kopigmenty mohou fungovat flavony, aurony, flavanoly, alkaloidy, aminokyseliny, organické kyseliny, nukleotidy, polysacharidy, kovy nebo jiné anthokyan. [44,46]

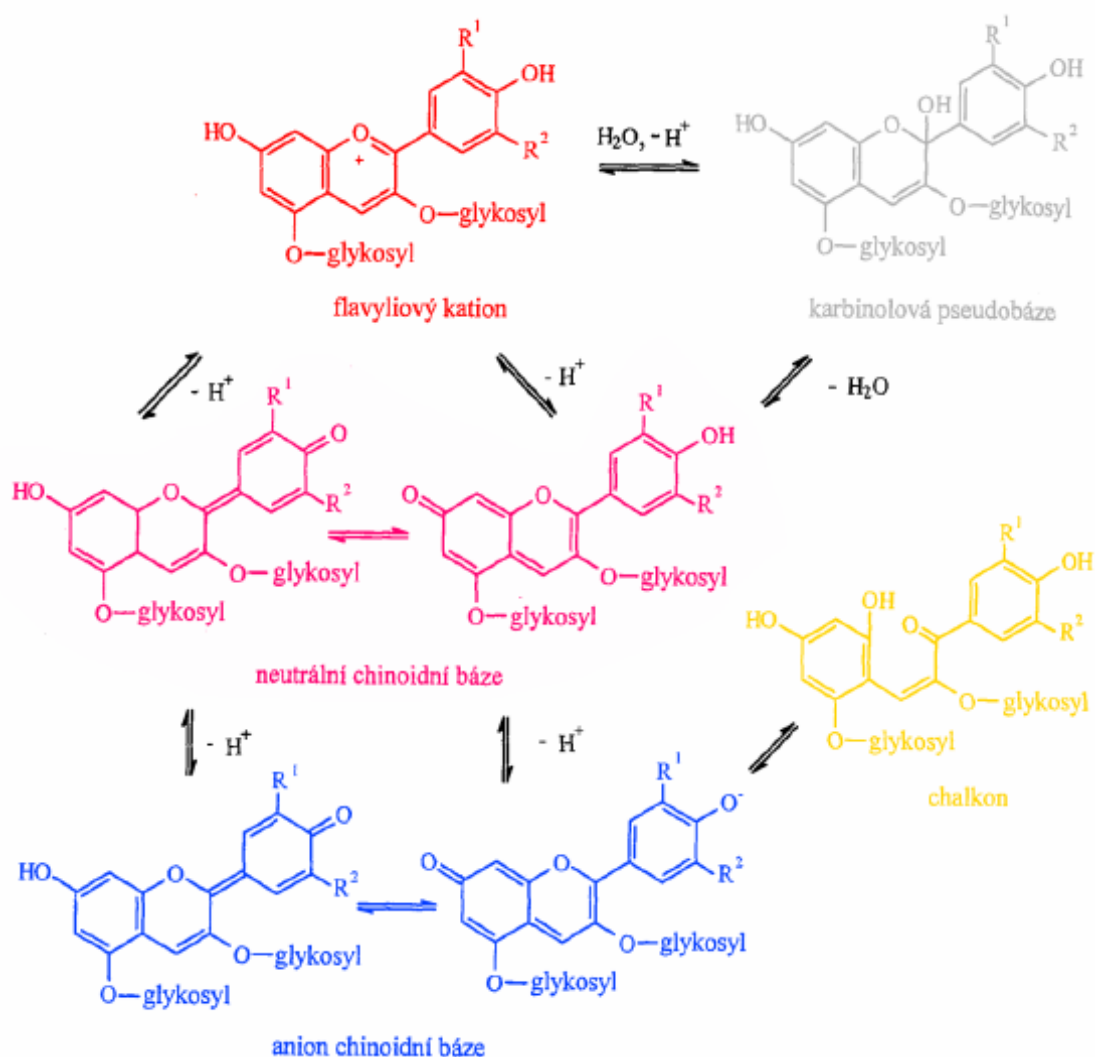
Kopigmenty samy o sobě mohou být bezbarvé, ale v kombinaci s anthokyanem způsobí změnu jeho barvy. Jsou to systémy bohaté na π -elektrony, které jsou schopny asociovat s flavyliových iontem. Stabilizace barvy vlivem kopigmentů spočívá v tom, že chrání flavyliový kationt před nukleofilním atakem molekuly vody. Dále přítomnost acylových skupin (hlavně zbytků kyseliny skořicové) snižuje tendenci měnit barvu v závislosti na pH, protože brání hydrolýze červeného flavyliového kationtu na bezbarvou karbinolovou bázi. Ztráta barvy je způsobena navázáním vody na druhý uhlík flavyliového kationtu za vzniku bezbarvého hemiacetalu [44,46,50]

Dále je barva ovlivnitelná přítomností SO_2 , který dělá anthokyan světlejším. Tento proces je reverzibilní, protože nenarušuje glykosidickou vazbu anthokyanu. Karboniový kationt může reagovat se zbytkem kyseliny siřičité a tvořit tak bezbarvou chromen-2(nebo 4)-sulfonovou kyselinu. [40]

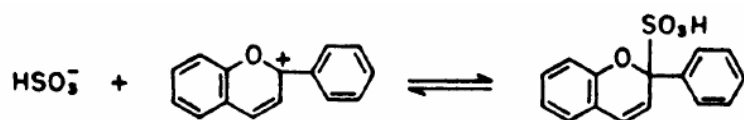
S rostoucí teplotou je anthokyan světlejší. Kromě toho je také barva anthokyanů ovlivňována typem rozpouštědla. V protických rozpouštědlech mají barvu červenou, v aprotických žlutou. [44]

Na obrázku 7 je znázorněna měnící se struktura anthokyanů v závislosti na pH. [48]

Kromě anthokyanů bývají přítomny ještě jejich prekurzory, takzvané proanthokyan. Jsou to kondenzované tanniny, což jsou oligomery a polymery monomerních flavonoidů a spadají do skupiny flavanolů. Tyto látky jsou bezbarvé, ale mají schopnost přeměnit se v barevné anthokyan. Děje se tak například, když se zelené listy na podzim barví do červená. [2,51]



Obrázek 7 Zobrazení změny zbarvení anthokyanu v závislosti na pH [48]



Obrázek 8 Reakce anthokyanu s kyselinou siřičitou [40]

2.2.2.3 Anthokyaniny v *Lonicera kamtschatica*

V plodech rostlin rodu *Lonicera caerulea* L. jsou z anthokyanů nejvíce zastoupeny glukosidy a rutinosidy kyanidinu, peonidinu, delfinidinu a pelargonidinu. Nejčastější je kyanidin-3-glukosid. Dále pak kyanidin-3,5-diglukosid, peonidin-3,5-diglukosid, kyanidin-3-rutinosid a peonidin-3-glukosid. V tabulce 10 je uveden obsah anthokyanů v *Lonicera kamtschatica* (Sevast.) Pojark. odrůdy „Gerda/25“ a jejich klonů. [43] Tabulka 8 zobrazuje obsah anthokyanů v různých rostlinných plodech a tabulka 9 procentuální zastoupení hlavních anthokyanů v *Lonicera caerulea* L. [29,52]

Obsah anthokyanů velmi závisí na podmínkách, kterým je rostlina vystavována, a to především na teplotě, světle, zdravotním stavu, míře zavlažování a stupni zralosti, proto se tyto hodnoty mohou značně lišit. Nejvíce anthokyanů je přítomno v plně zralých plodech. [2,35]

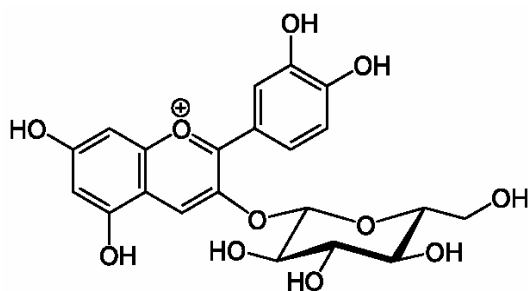
Co se týká dalších polyfenolických sloučenin, obsahuje *Lonicera caerulea* L. převážně kyselinu chlorogenovou a neochlorogenovou, kvercetin-3-rutinosid a kvercetin-3-glukosid. [29]

Tabulka 8 Obsah anthokyanů v různých rostlinných plodech [52]

Rostlinný plod	Obsah [mg/100 g]	Rostlinný plod	Obsah [mg/100 g]
ostružina	115	borůvka	82–420
moruše	161	třešeň	2–450
temnoplodec	506–1000	klikva	60–200
brusnice brusinka	100	černý rybíz	130–400
bez	200–1000	červené hrozny	30–750
červený pomeranč	200	švestka	2–25
trnka	160	jahoda	15–35
malina	170–428	lilek	750
cibule	až 25	rebarbora	až 200
červené zelí	25	červené víno	24–35

Tabulka 9 Procentuální zastoupení nejvýznamnějších anthokyanů v plodech zimolezu [29]

Anthokyan	Obsah (rel %)
kyanidin-3,5-diglukosid	2,2 – 6,4
kyanidin-3-glukosid	79,0 – 88,0
kyanidin-3-rutinosid	1,0 – 11,0
pelargonidin-3-glukosid	0,2 – 1,0
peonidin-3-glukosid	2,8 – 4,5
peonidin-3-rutinosid	0,3 – 1,3



Obrázek 9 Kyanidin-3-glukosid

Tabulka 10 Obsah anthokyanů a kyseliny askorbové v různých klonech odrůdy ‚Gerda/25‘ [43]

	<i>rok</i>	<i>Anthokyany [mg/100 g]</i>				<i>Kyselina askorbová [mg/100 g]</i>			
		<i>2005</i>	<i>2006</i>	<i>2007</i>	<i>průměr</i>	<i>2005</i>	<i>2006</i>	<i>2007</i>	<i>průměr</i>
<i>Klony Lonicera kamtschatica ‚Gerda/25‘</i>	KL-2	949	775	1 288	1 004	44,24	49,65	24,62	39,50
	KL-3	1 127	994	808	976	53,66	44,34	35,66	44,55
	KL-5	698	680	1 203	860	60,69	53,58	28,17	47,41
	KL-6	1 395	837	806	1 013	32,18	68,90	12,94	38,07
	KL-7	645	586	746	659	34,91	12,19	9,71	18,94
	KL-14	1 228	872	1 174	1 091	44,05	12,77	15,43	24,08
	KL-15	872	802	1 075	916	32,87	10,02	34,02	25,64
	KL-16	820	942	738	837	67,98	13,77	24,12	39,25
	KL-18	1 047	1 057	1 436	1 180	45,37	83,05	39,91	56,11
	KL-19	1 082	663	1 918	1 221	35,72	92,29	18,31	48,77
	KL-20	1 012	872	1 205	1 030	26,12	12,74	32,09	23,65
	KL-21	907	768	1 351	1 009	36,11	19,45	10,34	21,97
	KL-31	645	645	1 453	914	39,84	22,21	46,47	36,17
	KL-33	1 249	907	–	1 078	24,15	40,32	–	32,24
	KL-35	907	890	1 216	1 004	37,18	18,37	20,81	25,45
	KL-52	1 151	–	–	1 151	44,51	–	–	44,51
	KL-54	837	628	–	732,5	47,53	19,10	–	33,32
	KL-96	670	680	798	716	36,91	10,80	17,61	21,77
	KL-102	715	663	773	717	43,38	14,04	13,83	23,75
	KL-103	803	628	596	676	29,21	19,09	15,36	21,22
	KL-58	–	663	–	663	–	50,16	–	50,16
	KL-60	–	1 082	–	1 082	–	16,67	–	16,67
<i>L. k.</i>	-	701	768	858	776	35,05	21,27	28,47	28,26

2.2.2.4 Funkce anthokyanů v živých organismech

Anthokyanany kromě schopnosti poskytovat rostlinám zbarvení, mají díky své rozsáhlé biologické aktivitě také řadu pozitivních účinků na lidský organismus. Díky tomu, že jsou snadno dostupné, představují jednoduchý způsob, jak se podílet na prevenci různých onemocnění. Lidově se jim, a obecně všem bioaktivním flavonoidům, říká také vitamin P. Toto pojmenování zavedl maďarský biochemik a fyziolog Albert Szent-Gyorgyi a písmeno P zde odkazuje na schopnost flavonoidů ovlivňovat kapilární permeabilitu. Anthokyanany jsou významné hlavně kvůli svým antioxidačním, antimikrobiálním, protizánětlivým nebo protirakovinotvorným účinkům. Je dokonce známo, že právě anthokyanany mají nejlepší antioxidační účinky ze všech flavonoidů, přičemž jako nejúčinnější se jeví kyanidin a delfinidin. Dále bylo prokázáno, že antioxidační schopnost anthokyanů je při stejné koncentraci větší, než u vitaminu E nebo C [44], a to u kyanidinu dokonce 4krát více. Antioxidační aktivita je dána přítomností hydroxylové skupiny v pozici 3 v C kruhu a acylací zbytků sacharidů aromatickými kyselinami antioxidační aktivita ještě roste.

Role anthokyanů v těle zastává mnohé různé funkce. Anthokyanany dokáží bránit oxidaci DNA, neenzymatické peroxidaci lipidů nebo enzymatické peroxidaci lipidů, kde fungují jako nekompetitivní inhibitory. U pelargonidinu bylo zjištěno, že dokáže bránit vzniku nitrotyrozinu, který bývá přítomen při některých nemocech, například při ateroskleróze. Nitrotyrozin vzniká reakcí tyrozinu s peroxynitridem a právě tento dokáže pelargonidin zneškodnit za vzniku kyseliny p-hydroxybenzoové a kyseliny 4-hydroxy-3-nitrobenzoové a zabránit tak nežádoucí nitraci tyrozinu. Vznik nitrotyrozinu se výrazně podílí na poškození mozku u neurodegenerativních onemocnění a mozkových traumatech. Nitrovaný tyrozin zde brání opravení poškozených nervů a růstu nových. Kromě toho je pelargonidin schopný inhibovat růst *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

U anthokyanů rostlin čeledi *Malvaceae* byla prokázána účinnost proti poškození jaterních buněk *tert*-butylhydroperoxidem, jehož některé metabolizační meziprodukty vytvořené cytochromem P-450 nebo hemoglobinem fungují jako volné radikály a způsobují peroxidaci lipidů v hepatocytech a narušují tak jejich stavbu.

Během zánětlivých dějů dochází k tomu, že enzymy ničí pojivové tkáně v kapilárách, což způsobuje pronikání krve do ostatních tkání. Vedle toho se na tomto procesu podílejí oxidanty, které ničí stěny krevních cév. Anthokyanany dokáží zmírnit zánětlivé projevy tím, že neutralizují enzymy ničící kapiláry a deaktivují škodlivé oxidanty.

Dále byla prokázána jejich účinnost při některých alergických reakcích způsobených například látkami histaminem nebo serotoninem, které rovněž poškozují kapiláry.

Ochrana velkých cév proti poškození aterosklerózou spočívá v zabránění oxidaci škodlivého cholesterolu (LDL) a v ochraně integrity endoteliálních buněk, které lemují stěny cév. Dále byla u delfinidinu zjištěna schopnost zajistit relaxaci cév po jejich kontrakci.

Blokováním a následným dodáním kyslíku vznikají oxidanty, které mají za následek přilnutí bílých krvinek ke stěnám mikrokapilár, zvýšení jejich propustnosti a snížení průtoku krve a často způsobují trvalé poškození kapilár. Při dodávání anthokyanů za těchto podmínek byl pozorován normální průtok krve kapilárami, méně bílých krvinek na stěnách a slabší propustnost stěn kapilár.

Pozitivní vliv na ischemickou chorobu srdeční připisovaný konzumaci červeného vína je dán na jednu stranu přítomností ethanolu, který má na svědomí regulaci krevní srážlivosti a syntézy cholesterolu HDL (high density lipoprotein), na druhou stranu svoji roli zde hrají i

anthokyan, které mají pozitivní vliv na vasodilatační kapacitu cév. Další vlastnosti anthokyanů snižující riziko ischemické choroby srdeční jsou například inhibice oxidace lipidů a lipoproteinů nebo regulace metabolismu eikosanoidů.

Pozitivní vliv anthokyanů na diabetes spočívá v tom, že anthokyan chrání mikrokapiláry před nadměrným množstvím cukru v krvi, který se váže na kolagen a tvoří tak abnormální polymerní kolagen. Lidé postižení cukrovkou mají totiž kapiláry více propustné pro velké molekuly, než by měly být. Kromě toho také pomáhají anthokyan při retinopatii, která může způsobit i slepotu.

Další funkcí anthokyanů je zvyšovat schopnost adaptace oka na světlo a tmu.

U kyanidinu a delphinidinu byla zjištěna schopnost inhibovat růst rakovinných buněk.

[2,45,53]

Rozpustné proanthokyanidiny inhibují pankreatickou a žaludeční lipasu, a proto mohou být vhodným prostředkem pro léčbu obezity. [54]

Extrakty barevného ovoce vykazují významné biologické účinky na proces karcinogeneze. Kyanidin a jeho -3-glukosid snižují oxidační poškození DNA lidských lymfocytů. Kyanidin-3-rutinosid a kyanidin-3-glukosid potlačují metastázy buněk rakoviny plic. Kyanidin a směs jeho glykosidů snižují růst buněk rakoviny tlustého střeva, a to přímo úměrně k jejich dávce. Delphinidin, malvidin a petunidin inhibují proliferaci rakovinných buněk odvozených od různých tkání včetně tlustého střeva, prsu, krve a plic již v mikromolárních koncentracích. Peonidin vykazuje inhibiční a proapoptotický účinek na rakovinné buňky, zvláště pak na metastázy rakoviny prsu. [54]

2.2.2.5 Anthokyan jako přírodní barviva

Barvení potravin se stalo trendem, bez kterého by se nyní již potravinářský průmysl neobešel. Barva velice ovlivňuje výběr výrobku spotřebitelem, ať už se jedná o produkt sám o sobě, nebo jen jeho obal. Málokdo by si koupil bezbarvou pomerančovou limonádu, když by měl možnost odnést si limonádu identicky oranžovou. Kromě toho se snaží výrobci přesvědčit spotřebitele o tom, že výrobek obsahuje maximum přírodních složek. Jasně červený jahodový jogurt bude vždy pro zákazníka atraktivnější než jogurt bílý, byť by ten druhý obsahoval více jahod než ten první.

Potravinářská barviva se označují kódy E100 – E182 a dělí se na tři základní skupiny:

přírodní barviva (anthokyan (E 163), karoteny (E 160a), chlorofyly a chlorofyliny (E 140), betalainy (E 162), riboflavin (E 101) a karamel (E 150), oxid titaničitý)

přírodně identická barviva

syntetická barviva (tartrazin, karmoisin)

Přírodní barviva jsou získávána přímo z přírodních zdrojů a to rostlinných, živočišných, nebo nerostných. Syntetická barviva jsou vyráběna uměle a jsou to takové látky, co se v přírodě nevyskytují, narozdíl od přírodně identických barviv, která jsou také vyráběna uměle, ale jsou shodná s přírodními barviv. [52]

Barvení potravin bývá uskutečňováno jak barvivami přírodními, tak barvivami syntetickými. Výhodou syntetických barviv je, že jsou levnější, stabilnější a neovlivňují chuť ani vůni potravin. Nevýhodou je náchylnost zejména azobarviv k redukci některými ionty kovů a redukčními činidly a dále také někdy neúplná zdravotní nezávadnost syntetických barviv.

Mezi hlavní barviva považovaná za nebezpečná patří Červeň 2G, Žlut' 2G, Citrónová červeň 2, Fast green FCF, Žlut' SY, Patentní modř V 5, Indigotin, Brilantní modř FCF, Hněď HT nebo Amarant, přičemž první čtyři jsou v České republice dokonce zakázána. Naopak přírodní barviva jsou buď nezávadná, nebo mají dokonce pozitivní vliv na zdraví. Nevýhodou bývá jejich nestabilita a proměnlivost odstínů v různých šaržích výrobků. [55,56]

Anthokyany se v potravinách označují kódem E163. Co se bezpečnosti týká, jsou naprosto neškodné. Pokud u nich byla toxicita zjištěna, tak jen v zanedbatelném množství a to dokonce i u některých jejich hlinitých nebo cínatých komplexů. Kvůli nestálosti barvy při různých hodnotách pH se jejich barva mění podle produktu, do kterého jsou přidány. V kyselých nápojích mají anthokyany sytě červenou barvu, v mléčných výrobcích nebo zmrzlině fialovočernou. Jako zdroj anthokyanů se průmyslově používá hlavně červené zelí a slupka z hroznů. [46,50,57]

V příloze Tabulka 13 je seznam výrobků s přidanými anthokyany. [56]

2.2.3 Další významné látky

2.2.3.1 Vitaminy skupiny B

Vitaminy skupiny B jsou vitaminy rozpustné ve vodě. Je jich celkem 8 a dohromady se jim říká také „B-komplex“. V plodech zimolezu jsou z nich nejvíce zastoupeny vitamin B₁ (2,8 až 3,8 mg/100 g), B₂ (2,5 až 3,8 mg/100 g) a B₉ (7 až 10 mg/100 g). [4]

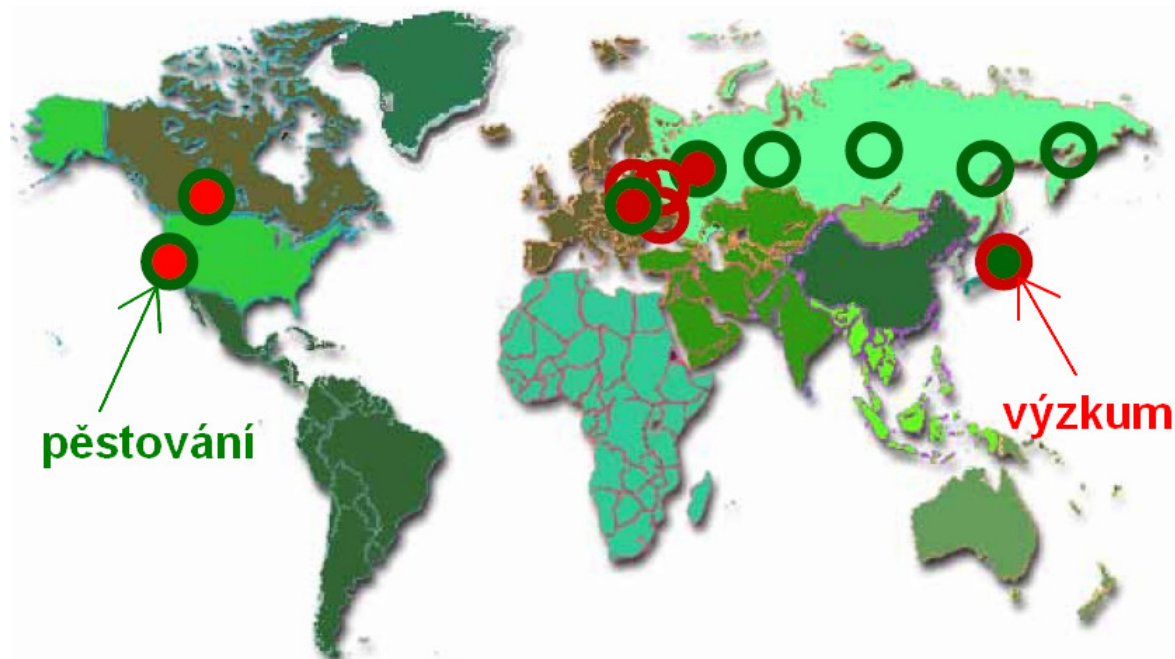
Vitamin B₁ funguje jako koenzym v metabolismu sacharidů a je přítomen ve všech živých tkáních. V buňkách se podílí na produkci energie – je součástí pyruvátdehydrogenázového systému, který se uplatňuje při metabolismu cukrů. Je důležitý pro zdravý vývoj myelinových pošev a produkci neurotransmitteru acetylcholinu zajišťujícího komunikaci nervů se svaly. Vyskytuje se hlavně v obilných klíčcích, celozrnné mouce, droždí, vaječném žloutku a vnitřnostech savců. Jeho nedostatek se projevuje sníženou činností některých enzymů nebo způsobuje nemoc beri-beri. Beri-beri je neurologické a kardiovaskulární onemocnění projevující se slabostí, ztrátou váhy a psychickými poruchami. Chronický deficit vitaminu B₁ způsobuje tzv. Korsakoffův syndrom, což je nevratná psychóza projevující se amnézií a vznikem falešných informací v paměti. [38-40,58]

Vitamin B₂ neboli riboflavin patří do skupiny žlutých barviv rostlinného a mikrobiálního původu vyznačujících se typickou fluorescencí. Tyto sloučeniny jsou jako koenzymy součástí tzv. flavoproteinů, které jsou významnými oxidoreduktázami. Volný riboflavin je obsažen převážně v mléce. Dalšími zdroji jsou hovězí a drůbeží maso, játra, ledviny, vejce, listová zelenina a kvasnice. Jeho nedostatek může mít za následek různé dermatitidy, ekzémy v koutcích rtů, zvýšenou citlivost na slunce, pálení v očích, záněty jazyka, seborhoickou dermatitidou nebo bolest v krku. [38,40]

Vitamin B₉ bývá označován také jako kyselina listová nebo folát. Vyskytuje se nejvíce v zelených rostlinách, játrech a droždí. V lidském těle byl prokázán jeho pozitivní vliv na regeneraci červených krvinek. Vitamin B₉ je zodpovědný za prevenci vrozených vad neurální trubice, která představuje základ pro nervovou soustavu. Dále se podílí na prevenci onemocnění srdce. Foláty brání nahromadění homocysteinu v krvi, který může být rizikovým faktorem pro aterosklerózu, mrtvici a infarkt. [38,39]

2.3 Využití plodů pro potravinářské účely

2.3.1 Současné využití bobulí zimolezu ve světě



Obrázek 10 Mapa využití zimolezu ve světě [59]

Obchod se zimolezem a jeho zpracování do produktů není ve většině zemí světa ani zdaleka vyvinuté, ale je na velice dobré cestě začlenit se mezi ostatní ovoce a získat si oblibu v řadě domácností. Zájem o komerční využití se již vyskytnul v Kanadě, USA, na Islandu, v České republice, Německu a Austrálii. Jak už bylo zmíněno, jediná země, ve které je zimolez používán k produkci výrobků, je Japonsko. Zimolez je zde pěstován převážně v regionu Sapporo na ostrově Hokkaido, které je také hlavním zemědělským producentem celého Japonska. Spotřebuje se zde více než 300 tun zimolezu ročně. Je pěstován na mnoha menších farmách, na rodinných farmách a je zde sbírán a tříděn ručně. Zimolez se zde používá obvykle na výrobu cukrovinek, kterýmiž producenti jsou například firmy Mitsuboshi, Furano Jam a Hori. Výrobky ze zimolezu jsou v Japonsku rozšířeny převážně mezi středně vyšší a vyšší třídu. Údajně typickým konzumentem zimolezových produktů je zámožná žena kolem 50 let. Většinou se tyto výrobky kupují jako suvenýry nebo pro speciální příležitosti. Mají ozdobné balení a jsou drahé. Obvykle se zimolez zpracovává do potravin, jako jsou sušenky, bonbony, čokoláda, džem, želatina, víno, džus, žvýkačky nebo ochucené nudle. [25,32,59]

Kvůli urbanizaci zemědělských ploch v Japonsku se snížila během let 1985 až 2005 produkce zimolezu ze 400 tun ročně na méně než 100 tun, ačkoliv poptávka by byla stále vysoká. Z tohoto důvodu chce Kanada vyšlechtit odrůdy podobné těm japonským a dovážet je tam. Obchodní značka zimolezu v Kanadě je honeyberry. University of Saskatchewan má za cíl prosadit zimolez na výrobu džemů, polev, smoothies, džusů, vína, koláčů a zmrzliny. [25,28,59,60]

V Rusku je údajně 5 výzkumných stanic, které se zabývají více než 50 odrůdami zimolezu. Není zde pěstován na velkých komerčních farmách, ale spíše mezi zahradníky. Jinak se zde bobule prodávají pouze na okrajích silnic.

Ruský materiál je nyní zkoumán v zemích, jako je Rumunsko, Česká republika, Litva, Švédsko a USA (Oregon). [3,59]

2.3.2 Výhody a využití plodů zimolezu

Plody zimolezu se dají konzumovat čerstvé nebo různě zpracované. Bobule se dají použít pro stejné účely jako borůvky. Oproti borůvkám má ale zimolez řadu výhod. Jeho pěstování je téměř bezproblémové. Neklade si nároky na typ a kyselost půdy (klasické borůvky je možno pěstovat v širším spektru pH půdy jen v případě, je-li kontrolován správný poměr vápníku a hořčíku v půdě), snáší velmi nízké teploty a nebývá ohrožen téměř žádnými škůdci. [23]

Zimolez poskytuje plody už velice brzy, a to už od druhé poloviny května do června. Říká se, že zpravidla dva týdny před jahodami. (Ale naopak existují i odrůdy, které se sklízí až na konci sezóny jahod). [23]

Pěstování zimolezu je také docela ekologicky i ekonomicky výhodné, protože vzhledem ke svojí rezistenci vůči škůdcům nevyžaduje použití pesticidů. Bobule se sklízí tak brzy, že jej škůdci skoro nemají šanci zastihnout. [30]

Plody jsou na rozdíl od klasických borůvek větší, mohou dosahovat až 4 cm. Navíc mají tak malá semínka, že si jich skoro nelze ani všimnout, tudíž odpadají jakékoliv procedury odpeckovávání. Slupku není potřeba odstraňovat, protože je velice jemná, takže není nepříjemná v ústech, ale jakoby se sama „rozpustí“. Tato vlastnost je pozitivní především pro výrobu zmrzlin nebo smoothie. [1,18,61]

Dají se použít k výrobě džemů a marmelád, dětské výživy, čaje, šťáv a jiných nápojů nebo také jako ochucovadla pro výrobu zmrzlin, želatiny, mléčných výrobků, žvýkaček nebo alkoholických nápojů.[3]

Velikou výhodou je fakt, že šťáva ze zimolezu obsahuje značné množství barviv. Má dokonce 10 až 15krát sytější barvu než například šťáva z brusinek. Kromě toho mají plody také značné barvicí schopnosti, takže je možno je použít jako přírodní barviva. [34,61]

University of Saskatchewan přišla s nápadem vyrobit zimolezové víno. Zimolez poměrně splňuje požadavky na výrobu vína, hlavně co se týká chuti. Ta je dostatečně výrazná na to, aby poskytla vínu žádoucí aroma, ale zároveň není příliš silná, aby přehlušila typickou vínovou chuť. Barva vína je také optimální. Má „burgundskou“ barvu, která si zachovává svoji intenzitu i po zkvašení a zředění. Zimolez se hodí pro výrobu jak stolních vín, tak ovocných nebo portských. Toto víno bývá chutí přirovnáváno k hroznovému nebo višňovému vínu a dokonce i ke Cabernet Sauvignon. Zimolezové víno jinak vyrábí japonská firma Chitose Grace winery. [32,62]

V Japonsku se také prodává zimolezový yokan nebo zimolezový čaj, které vyrábí firma Haskap Service [32,63].



Obrázek 11 Víno ze zimolezu [32]



Obrázek 12 Zimolezový čaj [63]



Obrázek 13 Zimolezová limonáda od firmy Maruzen [32]



Obrázek 14 Zimolezový yokan [63]⁵

⁵ Yokan je japonský želatinový dezert



Obrázek 15 Ukázka sortimentu výrobků z "haskapu" v japonském obchodě [64]

2.3.3 Možnosti zpracování bobulovitého ovoce

Bobulovité ovoce se dá primárně využít na výrobu produktů jako například marmelády, džemy, džusy, kandované ovoce nebo zavažené ovoce. Sekundárně potom se takto zpracované bobule mohou použít jako náplň do pečivových, cukrářských, a dalších výrobků.

2.3.3.1 Výroba kandovaného ovoce

Kandované ovoce je typické tím, že jeho způsob konzervace spočívá ve zvýšení koncentrace cukru, a to až na 70 %. Dochází k přeslazování blanšírovaného ovoce, což probíhá difúzním procesem, kdy cukr díky koncentračnímu gradientu proniká do buněk. Je nutné pracovat při vyšší teplotě, čímž se urychlí difúze. Blanšírováním se docílí částečné denaturace buněčných stěn, a tím se zároveň zvýší propustnost pro některé látky, ale zároveň nesmí dojít k porušení pevnosti pletiv. Přeslazovací roztok se připravuje ze sacharosy, která je v kyselém prostředí (pH 3,6 až 4,0) ze 30 až 50 % invertována. Do tohoto roztoku se přidává škrobový sirup, aby se zabránilo krystalizaci sacharosy. Při přeslazování se používá nálev s postupně rostoucí koncentrací sacharidů a s obsahem kyselin od 0,05 do 0,5 %. Přeslazování má dohromady 3 fáze. V první fázi se ovoce zalije horkým roztokem s obsahem sacharosy 30 až 40 %. Po jednom až dvou dnech (fáze 2) se zvýší koncentrace sacharosy o 5 až 10 % a po 6 až 10 dnech (fáze 3) se zvýší obsah sacharosy na 65 až 70 %. Proces může probíhat diskontinuálně v děrovaných koších nebo kontinuálně protiproudě v evaporačních tunelech. Nakonec se výrobek nechá zrát po 2 až 4 týdny v roztoku s obsahem sacharosy 75 % a 15 až 20 % škrobového sirupu a posléze se skladuje při teplotě do 15°C. [65]

2.3.3.2 Výroba džemů

Jako džem se označuje ovocná pomazánka, která je vyrobena z celého nebo rozkouskovaného ovoce vařením po přidání předepsaného množství cukru, pektinu, případně jablečné šťávy a následným zahuštěním na požadovaný obsah rozpustné sušiny na rosolovitou konzistenci. Používají se ovocné pulpy připravené z čerstvého nepřezrálého a zdravého ovoce a přísady jako kyselina citrónová, potravinářská barviva a škrobový sirup. Jako konzervant se používá 5 až 6% roztok kyseliny siřičité nebo oxid siřičitý. Při použití oxidu siřičitého se přidává roztok siřičitanu vápenatého nebo vápenné mléko, čímž se vytvoří pektan vápenatý, který učiní plody pevnějšími. U málo kyselého ovoce lze použít jako konzervant kyselinu citrónovou. [65]

Při výrobě džemů ze surovin konzervovaných SO_2 je nutno jej odstranit povařením. Pektin se přidává práškový spolu s cukrem v poměru 1:5 a potom se směs vaří, aby se pektin rozpustil a nabobtnal. Pokud se použije roztok pektinu, přidává se až ke konci vaření. Do sklenic se džem plní buď ihned po vaření, nebo po částečném ochlazení. Další konzervace se mohou provádět namočením vložek uzávěrů v kyselině sorbové nebo termosterilizací ihned po plnění při teplotě okolo 90 °C tak, aby se po ochlazení v obalu vytvořilo požadované vakuum. Neprodyšné uzávěry se uzavírají v parním nebo vakuovém prostoru. [65]



Obrázek 16 Zimolezový džem [32]

2.3.3.3 Výroba marmelád

Marmeláda je výrobek z rozdrceného a přepasírovaného ovoce zahuštěného vařením s cukrem na rosolovitou až hustě kašovitou konzistenci. Používají se obdobné suroviny jako na výrobu džemů, ale místo pulpy se použije protlak. Marmelády se vyrábí jednoplokové, dvojplokové a víceplokové. U dvoj- a víceplokových se přidává 50 až 60 % jablečné dřeně. Během vaření se směs přeslazuje. Vařením se odstraní oxid siřičitý, potom se přidá práškový nebo tekutý pektin, cukr a po rozpuštění škrobový sirup. Dále se přidá kyselina a potravinářské barvivo. Unikající aromatické látky se zachytávají a před plněním do obalů se vracejí nazpět. Výroba se uskutečňuje v atmosférických a vakuových diskontinuálních nebo kontinuálních odparkách. [65]



Obrázek 17 Roláda se zimolezovou náplní - možnost využití marmelády [32]

2.3.3.4 Výroba rosolů

Ovocné rosoly neboli želé, se vyrábějí z chemicky konzervovaných šťáv (sukusů) anebo ze sterilizovaných šťáv. Před výrobou se sukus filtruje, odstraní se oxid siřičitý, vaří se s cukrem, pektinem a přidává se kyselina. Běžně se používají šťávy s vysokým obsahem pektinu, v opačném případě se musí přidat pektin technický. [65]

2.3.3.5 Výroba ovocných vín

Ovocná vína jsou alkoholické nápoje vyrobené alkoholickým kvašením upravených ovocných šťáv. Od hroznového vína se liší tím, že je lze při zpracování ředit vodou. Vyrábí se z čerstvé šťávy, ze šťávy konzervované oxidem siřičitým, z ovocných koncentrátů, nebo ze šťáv přirozeně prokvašených a konzervovaných oxidem siřičitým. Přidává se cukr, sladový extrakt, kyselina citrónová, ethanol, amonné, fosforečné a draselné soli, kulér a koření. Šťáva se z ovoce získává lisováním a její kvalita se zvyšuje lehkým nakvašením nebo ohřátím dřeně. Šťáva se odkaluje odstředěním. Ovoce s malým obsahem kyselin lehce podléhá octovému kvašení, a proto se po odkalení pasterizuje. Přípravuje se tzv. zákvas, což je ovocná šťáva upravená vodou, kyselinami, cukrem a živinami (sladový extrakt a autolyzované kvasinky). pH zákvasu bývá 3,5 až 4,8 a obsah cukru 25 %. Optimální obsah alkoholu konečného produktu musí být vyšší než 10 % (ideálně 10 až 12 %), aby byla zajištěna jeho stabilita. Před kvašením zákvasu se provádí jeho síření, aby se zabránilo oxidaci, k úpravě pH a k podpoření tvorby glycerolu při kvašení a zabránění rozvoji nežádoucí mikroflóry. Používají se kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, které rostou optimálně při 20 až 25 °C. Při spontánním kvašení se kvašení účastní i jiné kultury, a to *Saccharomyces apiculatus*, *Hansenula anomala* Sydow, *Pichia membranaefaciens* Hansen, *Mycoderma vini* nebo *Candida mycoderma* Rees. Proces kvašení probíhá ve třech fázích, a to rozkvašení, bouřlivé kvašení a dokvašení. Spontánní kvašení probíhá při teplotě 15 až 20 °C po 4 až 6 týdnů. Inokulum čistých kultur se do zákvasu přidává v množství 3 až 5 %. Kvašení může probíhat kontinuálně nebo diskontinuálně. Po úspěšném zkvašení se dále provádí školení vína, které se skládá z dolévání vína, stáčení, síření, čiření, filtrace a stabilizace. Cílem dolévání je snížit kontakt vína se vzdušným kyslíkem a stáčením se oddělení víno od kalů a kvasinek. Číří se taninem, želatinou, hexakvanoželeznatým draselným a bentonitem. Stabilizuje se přídatkem kyseliny sorbové nebo pasterizací. Poté se víno dezertuje, což je úprava koncentrace cukru a ethanolu na předepsanou hodnotu. Obvykle je žádoucí 14 až 20 % ethanolu a 80 až 120 g cukru na 1 litr. [65]

2.4 Metody stanovení vybraných účinných látek zimolezu

Nejvýznamnější látkou v plodech zimolezu jsou bezesporu anthokyany, jejichž význam byl popsán v kapitole 2.2.2.

2.4.1 Metody stanovení anthokyanů

Základními kroky stanovení anthokyanů jsou extrakce, purifikace, separace a detekce.

2.4.1.1 Extrakce a purifikace

Anthokyany jsou polární molekuly, proto mezi nejčastěji používaná rozpouštědla patří vodné směsi ethanolu, methanolu, acetonitrilu nebo acetonu. Extrakce methanolem je o 20 % účinnější než extrakce ethanolem, a dokonce o 73 % účinnější než extrakce vodou, ale kvůli

toxicitě methanolu se v potravinářském průmyslu preferuje ethanol. Dále lze také použít *n*-butanol nebo propylenglykol [44,52,57]

Anthokyany nejsou v alkalickém ani v neutrálním prostředí stabilní, proto se extrakční rozpouštědla okyselují, a to kyselinou chlorovodíkovou v koncentraci méně než 1 %. Dále lze použít také kyselinu octovou, trifluoroctovou a mravenčí. Je nutno vyhýbat se silným kyselinám, protože by acylované anthokyany mohly být hydrolyzovány, případně by mohlo dojít k destrukci glykosidické vazby v určitých místech. [44]

Kromě fenolických látek bývají extrahovány i jiné sloučeniny (např. cukry, organické kyseliny, proteiny), proto je směs nutno přechistit, k čemuž slouží metody jako extrakce pevnou fází (SPE - solid phase extraction), extrakce kapalnou fází (LLE - liquid-liquid extraction) nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC - high performance liquid chromatography). [44,52,57]

Podstatou SPE je zachycení molekul látky na tuhém sorbentu, který protéká přes vzorek. Při extrakci se využívá chemických vlastností molekul, které v důsledku mezimolekulových interakcí ulpívají na sorbentu. SPE se provádí v kolonách C18, kde jsou anthokyany silně vázány díky svým OH skupinám a následně separovány od ostatních sloučenin zvyšováním polaritity různými rozpouštědly. [44,65]

2.4.1.2 Separace

Ze separačních metod se pro anthokyany nejvíce hodí metoda HPLC s následnou UV-VIS (ultraviolet-visible) detekcí nebo detekcí v diodovém poli. Další preferovanou identifikační metodou je hmotnostní spektrometrie (MS - mass spectrometry) a nukleární magnetická resonance (NMR - nuclear magnetic resonance). Hmotnostní spektrometrie je separační technika, která převádí vzorek na ionizovanou plynnou fázi a vzniklé ionty separuje podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje. K ionizaci vzorku anthokyanů se nejčastěji používá ionizace elektrosprejem (ESI - electrospray ionization), ostřelování rychlými atomy (FAB - fast atom bombarded) a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI - atmospheric pressure chemical ionization). [44,57]

Z planárních technik lze pro identifikaci použít papírovou (PC - paper chromatography) nebo tenkovrstvou chromatografii (TLC - thin-layer chromatography). [57]

Kromě chromatografických metod lze také použít elektromigrační separační metody. [57]

2.4.1.3 Chromatografické metody

Chromatografie je metodou kvalitativní a kvantitativní analýzy vzorku. Principem je vnášení vzorku mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, a to fázi stacionární (nepohyblivou) a pohyblivou mobilní fázi. Pohybem mobilní fáze přes stacionární fázi je vzorek touto soustavou unášen a složky vzorku jsou stacionární fází zachycovány. Tímto se při pohybu zdržují. Více se zdrží složky, které jsou stacionární fází poutány silněji a tak dochází k postupné separaci. [57]

Kapalinová chromatografie

V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina. Jsou využitelné všechny možné mechanismy separace – adsorpce, rozdělování na základě různé rozpustnosti, iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii. Podle uspořádání stacionární fáze rozlišujeme kolonovou a tenkovrstvou či papírovou kapalinovou chromatografii. Nejrozšířenější technikou je kapalinová rozdělovací chromatografie (LLC -

liquid-liquid chromatography) a dále kapalinová adsorpční chromatografie (LSC - liquid-solid chromatography). [57]

Adsorpční kapalinová chromatografie (LSC)

Adsorpční kapalinová chromatografie využívá interakcí mezi složkami vzorku a tuhou fází (adsorbentem) a prostředím mobilní fáze. Nejpoužívanějším adsorbentem je polární adsorbent silikagel (hydratovaný oxid křemičitý s proměnlivým stupněm hydratace) nebo oxid hlinitý. Při volbě mobilní fáze se vychází z toho, že na polárních adsorbentech roste eluční činnost od méně polárních k polárnějším rozpouštědlům. [57]

Kolonová kapalinová chromatografie v systémech s obrácenými fázemi (reverzní)

Vedle účinných kolon a celkové kvality instrumentace rozhoduje o hloubce separace při vysokoúčinné kapalinové chromatografii především použitý chromatografický systém, tj. kombinace stacionární a mobilní fáze. Relativní distribuce solutu mezi stacionární a mobilní fází je určována řadou jevů, k nimž lze počítat adsorpci na tuhých sorbentech či na mezifázovém rozhraní, relativní rozpustnost solutu v obou fázích, specifické interakce, solvataci či tvorbu asociátů nebo komplexů v jedné nebo obou fázích, případně i další efekty. Podle relativní polarit y stacionární a mobilní fáze rozlišujeme chromatografii v systémech s normálními fázemi, kde je stacionární fáze polárnější než fáze mobilní, a chromatografii v systémech s obrácenými fázemi, kde má mobilní fáze větší polaritu než fáze stacionární. Při kolonové kapalinové chromatografii v systému s obrácenými fázemi se jako tuhých stacionárních fází (sorbentů) používá především nepolárních uhlovodíkových fází imobilizovaných na anorganických nosičích. Dále je možno také použít i čistého uhlíku, organických polymerů či náplní s chemicky vázanými arylovými či středně polárními (např. etherovými, nitrilovými či diolovými) fázemi a v čistě vodných fázích dokonce i nemodifikovaného silikagelu. Jako mobilních fází se nejčastěji využívá vodných roztoků jednoho či více organických rozpouštědel, nejčastěji methanolu, acetonitrilu a tetrahydrofuranu. Aplikací možnosti chromatografie v systému s obrácenými fázemi chemicky vázaných stacionárních fází jsou velmi široké. Lze chromatograficky separovat nejrozumnější typy látek, počínaje nepolárními uhlovodíky až po zcela nepolární sulfokyseliny a malé anorganické ionty, včetně biopolymerů a dalších molekulárních látek. Ve srovnání s chromatografií používající kapalnou stacionární fázi se tato metoda vyznačuje podstatně vyšší reprodukovatelností a separační účinností i možností aplikace gradientové eluce, a proto není divu, že chromatografie na nepolárních chemicky vázaných fázích chromatografii v systému kapalina-kapalina téměř vytlačila a odhaduje se, že v současnosti se používá nepolárních chemicky vázaných fází asi v 80 % aplikací vysokoúčinné kapalinové chromatografie. [57]

Eluce může probíhat buď isokraticky nebo jako gradientová lineární eluce. Při isokratické eluci je kolona promývána roztokem o neměnném složení. V průběhu gradientové eluce se složení mobilní fáze postupně mění s časem podle předem zadaného programu tak, aby eluční síla mobilní fáze postupně vzrůstala. Méně zadržované látky se eluují mobilní fází s nižší eluční silou při dobré úrovni vzájemné separace, zatímco eluce látek se silnou afinitou ke stacionární fázi se urychlí při zvýšené eluční síle mobilní fáze v závěrečné fázi gradientové eluce. V systémech s obrácenými fázemi při gradientové eluci se tedy pracuje s rostoucí koncentrací organického rozpouštědla ve vodní mobilní fázi. Vedle lineárních gradientů se

příležitostně používá i gradientová eluce s nelineární časovou změnou složení mobilní fáze, případně gradientů složených z několika lineárních úseků o různé strmosti, které na sebe navazují. Různé strmosti gradientu se používá v oblasti, kde se eluují obtížněji separovatelné soluty, kdežto úseků s vyšší strmostí je možno použít pro urychlení eluce snadno separovatelných látek. K těmto úkonům slouží tzv. směšovací zařízení. [57,65]

2.4.1.4 Zařízení pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC)

Klasické kolonové provedení nemá potřebnou účinnost, ale stalo se základem HPLC. Kapalinový chromatogram se skládá z pěti hlavních částí, které plní tyto funkce: transport mobilní fáze (zásobník mobilní fáze a vysokotlaké čerpadlo s čidlem pro měření tlaku), dávkování vzorku (manuální nebo automatické), separace látek (kolona), detekce látek a registrace signálu a vyhodnocení chromatografického záznamu (průtočný detektor, zapisovač, integrátor, případně počítač a tiskárna) [57,65]

Čerpadlo

Čerpadlo slouží k zajištění konstantního průtoku mobilní fáze, který bývá regulovatelný v rozsahu od 0,1 do 10 ml/min. Všechny části čerpadla, které jsou ve styku s mobilní fází, musí být zhotoveny z takových materiálů, aby nedocházelo ke kontaminaci mobilní fáze nebo ke korozi těchto částí, k čemuž se hodí nerezová ocel, titan či některé keramické materiály. Nejčastěji se používají čerpadla dvojčinná pístová, čerpadla zapojená v sérii a čerpadla využívající dvou a více pístů. Zařízení pro gradientovou eluci umožňuje plynule během analýzy měnit složení mobilní fáze při konstantním průtoku. Gradientová zařízení se mohou skládat ze dvou čerpadel, která jsou elektronicky řízena tak, aby se v časovém průběhu jednotlivá čerpadla podílela na celkovém průtoku požadovaným dílem. [57,65]

Dávkovače vzorku

Bývají používány injekční stříkačky z inertního materiálu (nerezová ocel, titan, některé polymery) ovládané ručně nebo automaticky. Injekční stříkačky přinášejí nevýhody z hlediska těsnosti a udržení tlaku, proto bývají v současné době nahrazeny dávkováním obtokovým dávkovacím kohoutem. [66]

Používají se buď manuální smyčkové dávkovače na principu přepínacích ventilů, nebo automatické dávkovače, které umožňují dávkovat vzorek do kolony bez přerušení toku mobilní fáze. Komerčně se vyrábějí dávkovače s různými objemy smyček od 0,2 μ l až do 2000 μ l, které umožňují dávkovat velmi malé objemy vzorků. Např. v mikrokolonové chromatografii lze použít časového ovládání ventilů, při němž se ventily přepnou do polohy pouze na dobu zlomku sekundy, takže do kolony se dávkuje pouze část objemu vzorku ze smyčky, úměrná době přepnutí. K tomuto účelu lze použít elektricky nebo pneumaticky ovládaných dávkovacích ventilů. [57]

Kolony

Kolony používáme pouze náplňové. Pro většinu rutinních analýz jsou zhotoveny z nerezové oceli. Kolony pro analytické využití jsou poměrně krátké, zpravidla 10, 15 nebo 25 cm. Vnitřní průměr je 4,6 nebo 5 mm, vnější průměr 1/4 palce (palec = coul = 2,54 cm). Běžný průtok eluentu je 1 až 2 ml/min. Náplňový materiál pro analytické kolony má průměr 3 až 10 μ m (kratší kolony jsou plněny jemnější náplní). [66]

Jako ochrana hlavní kolony jsou hojně používány předkolony umístěné mezi čerpadlo a dávkovací zařízení nebo ochranné kolony umístěné mezi dávkovací zařízení a analytickou kolonu. Způsobují jen malé rozšíření pásů a chrání kolonu před nečistotami a nerozpustnými materiály. [66]

K účinné separaci je třeba použít dostatečně malých zrníček sorbentu, která kladou prostupující kapalině značný odpor, a proto je nutno pracovat při vysokém tlaku. [66]

Detektory

Detektory v HPLC by měly být selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fázi. Průtočná cela detektoru musí snést tlak mobilní fáze a udržet těsnost. Nejpoužívanějšími detektory jsou fotometrické, refraktometrické a fluorescenční. [66]

Fotometrické detektory patří k nejběžnějším detektorům. Měří absorpenci eluátu vycházejícího z kolony. Pro optimální citlivost detektoru musí být zajištěna dostatečná absorpční dráha průtočné kyvety, jíž prochází paprsek. Jednodušší detektory měří při jedné vlnové délce v ultrafialové oblasti (například 254 nm – rtuťová výbojka), složitější dovolují nastavení vlnové délky pomocí monochromátoru. Nejdokonalejší jsou schopny pomocí diodového pole (diode array detector – DA/DAD) nebo CCD (charge coupled device) prvku proměřit absorpční spektrum v určené oblasti vlnových délek a uložit ho do paměti. Detekční limit je až 10^{-10} g/ml. Citlivost je pro různé látky různá a při zvolené vlnové délce závisí na velikosti molárního absorpčního koeficientu látky. [66]

Refraktometrický detektor (refractive index detector – RI) měří rozdíly mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Obsahuje-li eluát složku, objeví se výchylka. Tento typ detektoru není příliš citlivý (detekční limit je 10^{-7} g/ml), ale je velmi univerzální. Při jeho použití je třeba přísně udržovat konstantní teplotu. [66]

Fluorescenční detektor je založen na principu fluorescence, schopnosti látek absorbovat ultrafialové záření a pak vysílat záření o vyšší vlnové délce, které se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího záření. Detektor má detekční limit 10^{-12} g/ml analytu. Je vysoce selektivní a lze jej kombinovat s fotometrickým detektorem. [66]

FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) detektor je univerzálním detektorem. Zpracovává infračervená spektra složek v mobilní fázi. [66]

Elektrochemické detektory jako **vodivostní** nebo **voltametrické** lze použít tam, kde jsou v roztocích obsaženy ionty, respektive složky oxidovatelné nebo redukovatelné na polarizovatelné elektrody. [66]

Hmotnostní spektrometr jako detektor poskytuje nejpřesnější informaci o identitě analyzované látky a jeho využití v posledních letech prudce vzrůstá. Je použitelný jak v kapalinové, tak i v plynové chromatografii. [57,65]

2.4.1.5 Elektromigrační separační metody

Z elektromigračních separačních metod se používá kapilární elektroforéza (CE - capillary electrophoresis), kapilární zónová elektroforéza (CZE - capillary zone electrophoresis) nebo micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC - micellar electrokinetic capillary chromatography). [57]

Kapilární elektroforéza (CE)

Kapilární elektroforéza je relativně nová analytická metoda, která se vyznačuje výbornou hmotnostní citlivostí, vysokým rozlišením, nízkou spotřebou vzorku a minimální tvorbou

odpadu (1 až 2 ml/den). Elektroforéza spočívá v migraci elektricky nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Toto elektrické pole se vytváří vkládáním konstantního stejnosměrného napětí mezi elektrody. [57,65]

Kapilární zónová elektroforéza (CZE)

Kapilární zónová elektroforéza neboli kapilární elektroforéza ve volném roztoku (FSCE - free solution capillary electrophoresis) je separace založená na rozdílech v náboji analytu a provádí se jako volná elektroforéza bez nosiče v tenké kapiláře. Prostředí mezi elektrodami je tvořeno základním elektrolytem, který zajišťuje dostatečnou elektrickou vodivost v celém systému. Vzorek je dávkován do určitého místa tohoto systému. Kationty migrují k zápornému pólu, anionty ke kladnému pólu a neutrální molekuly a částice se nepohybují. Vlivem odlišné rychlosti migrace složek vzorku se v průběhu separace vytvářejí oddělené zóny jednotlivých složek. [57,65]

Anthokyany se stanovují na základě jejich absorpčního maxima, které je při 520 nm, čímž se odlišují od ostatních flavonoidů. Jejich retence klesá s rostoucí polaritou, tzn. s počtem hydroxylových skupin na flavyliovém jádře. Přítomnost cukrů zvyšuje retenci anthokyanů. Anthokyany s diglykosidy jsou obvykle eluovány před monoglykosidy. Acylace také zvyšuje retenční čas anthokyanů ve srovnání s obdobnými neacylovanými deriváty. Běžné pořadí eluce bývá: delfinidinové, kyanidinové, petunidinové, pelargonidinové, peonidinové a nakonec malvinidinové deriváty. [57]

2.4.2 Příklady stanovení anthokyanů v *L. caerulea* kapalinovou chromatografií

Podle [67] byl pro extrakci anthokyanů z rostlinné matrice použit methanol s přídavkem 0,5 objemového % kyseliny tetrafluoroctové. Poté byla provedena separace pomocí HPLC a kolony 250 × 4 mm. Gradientová eluce analytů využila mobilní fáze následujícího složení A: voda a kyselina mravenčí v poměru 9:0,5 a B: voda, methanol a kyselina mravenčí v poměru 4:5:0,5. Průtok mobilní fáze byl 0,75 ml/min, vzorky byly dávkovány po 15 µl.

Tabulka 11 Lineární gradient

t [min]	A [%]	B [%]
0	90	10
3	70	30
22	40	60
24	0	100
33	0	100
34	90	10

Dále byly anthokyany zimolezu separovány také tenkovrstvou chromatografií na deskách pokrytých 0,1 mm celulosou F (firma Merck). K eluci byla použita mobilní fáze tvořená směsí kyseliny mravenčí, koncentrované kyseliny chlorovodíkové a vody v objemových poměrech 25:24:51.

Detekce byla provedena spektroskopicky při vlnových délkách 200 – 600 nm po 2 nm krocích. Relativní množství každého anthokyanu bylo zjištěno jako procento celkové plochy píků v chromatogramu. Plochy píků byly zaznamenávány jako průměrná hodnota adsorpce sledované pro každý druhý nm mezi 500 a 540 nm. Touto metodou byl stanoven

kyanidin-3-glukosid jako nejvíce zastoupený z přítomných anthokyanů, a to v relativním množství 89 %. [67]

Podle [29] byla provedena extrakce polyfenolů a anthokyanů rozmícháním 5 g vzorku s 20 ml acetonu, sonikací po dobu 10 minut a posléze filtrací na Büchnerově nálevce. Filtrační koláč byl dvakrát promyt 10 ml 70% vodného roztoku acetonu. Filtrát se smíchal s 80 ml chloroformu a poté byl centrifugován po 20 minut. Vodná frakce byla ponechána k odpaření ve vakuu při 40 °C po 15 minut, dokud nebyl odstraněn veškerý aceton. Extrakt byl doplněn okyselenou vodou na 25 ml.

Následovala purifikace anthokyanů za využití SPE kolonek Sep-Pak. Kolonky byly aktivovány methanolem a 0,01% roztokem HCl, poté byly naneseny 2 ml vodného extraktu vzorku zimolezu. Anthokyany a polyfenoly se adsorbovaly v koloně, přičemž cukry, kyseliny a další ve vodě rozpustné látky byly odstraněny promytím 10 ml 0,01% roztoku HCl. Kolonka byla vysušena plynným dusíkem. Polyfenoly byly eluovány 5 ml etylacetátu a anthokyany 5 ml methanolu s 0,01% HCl. Methanolová frakce byla koncentrována rotační odparkou při 40 °C, dokud nebyl odstraněn všechen methanol. Anthokyany byly rozpuštěny v okyselené vodě.

Následovala kyselá a zásaditá hydrolýza anthokyanů. 5 ml 2 mol/l kyseliny chlorovodíkové bylo přidáno ke vzorku ve zkumavce se šroubovacím uzávěrem, a ty se hydrolyzovaly po 30 minut při 100 °C. Poté byly ihned zchlazeny v ledové lázni. Hydrolyzát byl přečištěn na SPE kolonce s C18 fází stejně, jak bylo popsáno výše. Alkalická hydrolýza byla provedena následovně: 1 ml přečištěného vzorku anthokyanů byl ve zkumavce smíchán s 10% roztokem hydroxidu draselného a po 8 minutách byl ponechán v tmavém prostředí při laboratorní teplotě. Poté bylo pro neutralizaci přidáno 5 ml 2 mol/l kyseliny chlorovodíkové a hydrolyzát byl přečištěn stejně jako při kyselé hydrolýze.

Hydrolyzované anthokyany byly separovány HPLC (Perkin-Elmer série 400 s DAD 1040A detektorem a Hewlett-Packard HPLC Chemstation software). Vzorky byly dávkovány autodávkovačem Agilent 1100 po 50 µl.

Anthokyaniny byly separovány na koloně Prodigy ODS-3, 250 × 4,6 mm, 5 µm, (Phenomenex, Torrance, USA). Jako předkolona byla použita Allsphere ODS-2, 10 × 4,6 mm (Alltech, Deerfield, USA). Pro gradientovou eluci byly použity mobilní fáze A: 100% acetonitril a B: 1% kyselina fosforečná, 10% ledová kyselina octová a 5% acetonitril v objemovém poměru 1:1:1.

Tabulka 12 Lineární gradient

t [min]	A [%]	B [%]
0	10	90
20	30	70

Detekce byla provedena UV-VIS spektrometrií a hmotnostní spektrometrií za použití ionizace elektrosprejem.

Touto metodou bylo separováno 6 různých anthokyaninů, přičemž nejvíce byl zastoupen kyanidin-3-glukosid (79-88 %). [29]

2.4.3 Zamyšlení nad separací anthokyanů pro praktické využití a příklady separace čistých anthokyanů z praxe

Limitujícím faktorem je stabilita a intenzita barvy anthokyanů, která závisí na jejich molekulární struktuře a jejich intra- a intermolekulárních vazbách. Anthokyaniny jsou také známé svojí citlivostí na teplo. Byly provedeny experimenty extrakce anthokyanů z borůvek, které využívaly acetonovou extrakci s oxidem siřičitým jakožto extraktantem. Purifikace byla provedena reextrakcí s roztokem chloroform/aceton v poměru 1:2 a zakoncentrováním zvýšením teploty. Finální extrakt obsahoval 46,5 mg/100g nepoškozených anthokyanů, což je 13 % až 23 % z původního stanovení.

V jiné studii byla provedena obnova a zakoncentrování anthokyanů extraktu z výlisků z hroznů. Vodný extrakt byl připraven přidáním vody do čerstvých slupek z hroznů (1:3 vzorek:voda při teplotě 80 °C). Surový extrakt byl eluován methanolem. Teplota adsorpce a desorpce byla 25 a 50 °C. Zde bylo získáno 96 až 100 % původního množství anthokyanů. Aby se minimalizoval nežádoucí mikrobiální rozklad anthokyanů během extrakce, byla použita metoda založená na mikrofiltraci keramickou membránou a reverzní osmózou. Bylo použito 0,01 mol/l kyseliny dusičné jako extraktant. Výsledný kyselý extrakt byl zakoncentrován 9,4krát a obsahoval 422 mg/l nepoškozených anthokyanů, což je 77 % z původního množství. [44]

3 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo popsat vlastnosti zimolezu kamčatského (*Lonicera kamtschatica*), rozebrat jeho chemické složení a biologickou hodnotu jeho nejvýznamnějších látek a navrhnout možné využití jeho plodů pro potravinářské účely.

Rostlina byla zařazena do taxonomického systému a byl popsán její výskyt ze zeměpisného hlediska.

Byly zmíněny některé dosavadní vyšlechtěné odrůdy zimolezu kamčatského a jeho klonů a kříženců a byly nastíněny metody vyhodnocování těchto odrůd. Jako nejvhodnější byly shledány odrůdy ‚Altaj‘, ‚Fialka‘, ‚Amfora‘, ‚Amur‘, ‚Viola‘ a ‚Morena‘.[13,15]

Za nejvýznamnější látky v plodech zimolezu lze považovat vitamin C a anthokyany, kterým byla věnována hlavní pozornost. Podle studie, která zkoumala obsah těchto látek v odrůdě ‚Gerda/25‘ a jejich klonech v letech 2005, 2006 a 2007, a jejíž výsledky byly shrnuty v tabulce 10, byla stanovena průměrná hodnota obsahu vitaminu C všech těchto klonů na 33,1 mg kyseliny askorbové na 100 g čerstvých plodů zimolezu. Nejvyšší obsah vitaminu C byl zjištěn u klonu č. 19 z roku 2006, a to 92,3 mg/100 g čerstvých plodů. Průměrná hodnota anthokyanů byla stanovena jako 923,3 mg celkových anthokyanů na 100 g čerstvých plodů zimolezu a nejvyšší obsah anthokyanů byl prokázán rovněž u klonu č. 19, tentokrát z roku 2007, a to jako 1 918 mg/100 g plodů. V porovnání s hodnotami v tabulce 8 (Obsah anthokyanů v různých rostlinných plodech), dosahuje tento klon nejvyšší hodnoty obsahu anthokyanů ze všech zmíněných rostlinných plodů. V porovnání průměrné hodnoty obsahu anthokyanů je zimolez stále na špičce a jeho množství anthokyanů je srovnatelné s plody temnoplodce a bezu. Nejvíce zastoupeným anthokyanem je kyanidin-3-glukosid a to z 79 až 88 %. [29,43,52]

Byl zmíněn význam vitaminu C, který spočívá převážně ve schopnosti minimalizovat oxidační stres následkem likvidace volných radikálů jejich redukcí.

Dále byly popsány hlavní pozitivní funkce anthokyanů v lidském organismu, mezi které patří například antimutagenní účinky, prevence proti onemocněním nervové a cévní soustavy nebo ochrana proti poškození jaterních buněk.

Dále bylo rozebráno dosavadní využití zimolezu ve světovém průmyslu. Největším producentem výrobků ze zimolezu je jednoznačně Japonsko, které používá jeho plody pro výrobu marmelád, limonád, zmrzlin, sladkých nudlů a mnoha dalších výrobků. Zimolez je zde propagován jakožto součást zdravé výživy pod názvem „haskap“. Toto pojmenování je používáno i v USA a v Kanadě a je docela možné, že se stane i mezinárodně uznávaným univerzálním heslem pro bobule této rostliny.

V poslední kapitole byly představeny možné metody stanovení anthokyanů v bobulích, přičemž za nejvhodnější lze považovat vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC).

Anthokyany jsou látky poměrně nestálé a jejich extrakce za účelem dalšího zpracování může být problém, nicméně při správném provedení lze docílit extrakce až 77 % čistých anthokyanů z původně přítomných v rostlinném materiálu. [44]

4 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

[1] *Edible blue honeysuckle gardeners* [online]. 2010 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <<http://ediblebluehoneysuckle.wordpress.com/>>.

[2] PALÍKOVÁ, Irena. *Biologická aktivita bobulovitých plodin Lonicera caerulea L. a Vaccinium macrocarpon Ait.*. Olomouc, 2009. 114 s. Dizertační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta.

[3] JANICK, Jules ; PAULL, Robert E. . *The encyclopedia of fruit & nuts*. Oxfordshire : Cabi Publishing , 2008. 954 s.

[4] ŽÁKOVÁ, Zuzana. *Plody kamčatských borůvek (Lonicera kamtschatica) jako nový zdroj chemických látek v lidské výživě*. Zlín, 2010. 72 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.

[5] NEČAS, Tomáš a kol.. *Multimediální učební skriptum ovocnictví* [online]. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2004 [cit. 2011-04-28]. Zimolez, s. . Dostupné z WWW: <http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/eltronic_ovoc/_private/ovoc_1/data/zimolez.pdf>.

[6] SVARCOVA, Irena. *Berry fruits as a source of biologically active compounds: the case of Lonicera caerulea*. Olomouc, 2007. 12 s. Oborová práce. Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University.

[7] DUBOIS, Jean-Jaques B.; BLAZICH, Frank A. *Lonicera L. : honeysuckle*. In *Woody Plant Seed Manual* [online]. [s.l.] : USDA Forest Service, 1974 [cit. 2011-04-27]. Dostupné z WWW: <<http://www.nsl.fs.fed.us/wpsm/lonicera.pdf>>.

[8] *Subtropické rostliny : Kamčatská borůvka - Lonicera kamtschatica* [online]. 2011 [cit.2011-04-28]. Další známé subtropické rostliny. Dostupné z WWW: <<http://www.subtropickerostliny.estranky.cz/clanky/dalsi-zname-subtropicke-rostliny.html>>.

[9] MARKOVÁ R., 2001. Study of vegetative, growing and economic character of genus *Lonicera subsect. caerulea* Rehd. Proc. 9th Inter. Conf. of Horticulture, Lednice, 3-6 September: V. 1: 130-135.

[10] *Popínavé rostliny* [online]. [cit. 2011-05-01]. Okrasné dřeviny. Dostupné z WWW: <<http://www.zahrada-zizka.cz/obr/lonicera%20peryclimenumserotina.JPG>>.

[11] *Honeyberry (Lonicera kamtschatica)* [online]. . [cit. 2011-05-01]. J. Parker. Dostupné z WWW: <http://www.jparkers.co.uk/images/new_products/FR0269.JPG>.

- [12] *Molbiol.ru* [online]. 2006 [cit. 2011-05-01]. Жимолость камчатская (*Lonicera kamtschatica* (Sevast.) Pojark.). Dostupné z WWW: <<http://molbiol.ru/pictures/218088.html>>.
- [13] PAPRŠTEIN, František. Technologie pěstování zimolezu (*Lonicera* sp.) : metodika. Holovousy : Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, 2009. 36 s. ISBN 978-808-7030-080.
- [14] *Zahradnictví Chovanec* [online]. 2008 [cit. 2011-04-28]. Kamčatská borůvka. Dostupné z WWW: <<http://www.zahradnictvi.cbnet.cz/boruvka.htm>>.
- [15] *Rukověť zahrádkáře 2009* [online]. Praha : Český zahrádkářský svaz , 2008 [cit.2011-0430]. Dostupné z WWW: <<http://czsos.cz/rukovet/rukovet.htm#2009>>.
- [16] HEJDUK, Josef. *Pelargonie* [online]. 2006 [cit. 2011-04-27]. Kamčatská borůvka. Dostupné z WWW: <www.pelargonie.cz/boruvka1.html>.
- [17] ZAJÍC, Vladimír. *Ekozahrady* [online]. [200?] [cit. 2011-04-27]. Zimolez kamčatský. Dostupné z WWW: <http://www.ekozahrady.com/zimolez_kamcatsky.htm>.
- [18] ČERNOCH, Zdeněk. *Katalog rostlin : Lonicera kamtschatica* [online]. 2010 [cit. 2011-05-02]. Exotické rostliny. Dostupné z WWW: <<http://www.exotickerostliny.cz/cs/katalog-rostlin-othermenu-95/36-zimolez/114-zimolez.html>>.
- [19] MENCLOVÁ, Alena. *Abeceda Zahrady* [online]. Mladá fronta, 2009-11-04 [cit. 2011-04-27]. Zimolez kamčatský není borůvka. Dostupné z WWW: <<http://abecedazahrady.dama.cz/default.aspx?article=1908>>.
- [20] Two new Haskap cultivars released. *Agriview* [online]. March 2010, 12, 5, [cit.2011-04-27]. Dostupný z WWW: <http://www.agriculture.gov.sk.ca/agv_march_2010>.
- [21] *Zahradnictví Krulichovi* [online]. 2011 [cit. 2011-04-27]. *Lonicera Kamtschatica* - "Altaj". Dostupné z WWW: <<http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Lonicera-kamtschatica----Altaj-----kamcatska-boruvka>>.
- [22] BORS, Bob. Blue Honeysuckle. In *Blue Honeysuckle* [online]. Saskatoon, Saskatchewan, Canada: Department of Plant Sciences, University of Saskatchewan, 2006 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <http://www.fruit.usask.ca/articles/blue_honeysuckle2.pdf>.
- [23] BORS, Bob. Comparing Haskap to other Berries. In *Haskap Canada Association* [online]. Saskatoon, Saskatchewan, Canada : Department of Plant Sciences University of Saskatchewan, 2009 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <<http://www.haskap.ca/BobBorsLectures/Haskap%20Sister%20crops.pdf>>.

[24] Haskaps. *Prairie tech propagation* [online]. 2011, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <http://prairietechpropagation.com/index.php?option=com_content&view=article&id=56%3Ahaskaps&catid=15%3Aplant-list&Itemid=71>.

[25] Zpráva o trhu ovoce. *Státní zemědělský intervenční fond : Tržní informační systém* [online]. 2007, 35. – 36. týden, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous/CmDocument?rid=%2Fapa_anon%2Fcs%2Fzpravy%2Ftis%2Fzpravy_o_trhu%2F06%2F1246723133328.pdf>.

[26] New Haskap Varieties from the University of Saskatchewan. U of S Fruit Program [online]. 2007, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <http://www.fruit.usask.ca/articles/new_varieties.pdf>.

[27] MAŁODOBRY, Monika ; DZIEDZIC, Ewa ; BIENIASZ, Monika . Evaluation of the yield and some components in the fruit of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *edulis* Turcz. Freyn.). *Polish Society for Horticultural Science*. 2010, Ann. 22/1, s. 45-50.

[28] FERNÁNDEZ, Felicidad . Minor crops: An alternative for the UK fruit industry?. In *Nuffield International* [online]. UK : Nuffield Farming Scholars, 2006 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <http://www.nuffieldinternational.org/rep_pdf/1254340937Felicidad_Fernandez_Nuffield_Report.pdf>.

[29] CHAOVANALIKIT A., THOMPSON M.M., WROLSTAD R.E., 2004. Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.). *J. Agric. Food Chem.* 52(4): 848-852.

[30] BORS, Bob. Haskap Breeding at the University of Saskatchewan. *U of S Fruit Program* [online]. 2006, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <<http://www.fruit.usask.ca/articles/organic.pdf>>.

[31] THOMPSON, Maxine. Haskap Arrives in North America. *Home Orchard Society* [online]. 2006, no. 42, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <<http://www.homeorchardsociety.org/article/42/>>.

[32] LEFOL, Éric B. . *Haskap Market Development -The Japanese Opportunity-*. In [online]. Saskatoon, Saskatchewan, Canada : Edwards School of Business, University of Saskatchewan, 2007 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <<http://www.haskap.ca/Studies/Haskap%20Market%20dvlp%20August%2027.pdf>>.

[33] BORS, Bob. Breeding of *Lonicera Caerulea* L. for Saskatchewan and Canada. Международная научно-методическая дистанционная конференция : Состояние и перспективы развития культуры жимолости в современных условиях [online]. 2009, [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <lonicera-conference.narod.ru/articles/Bors.pdf>.

[34] TRAJKOVSKI, V., HJALMARSSON, I. 2007. *The value of national fruit gene banks*. Žemes Ūkio Mokslai. 14(4): 28-32

[35] ŠIMKO, Jozef. *Obsah antokyanínov v jedlých zemolezoch Lonicera kamtschatica (Sevast.) Pojark a Lonicera edulis Turcz. ex Freyn. v rôznych štádiach zrelosti plodov..* Nitra, 2009. 10 s. Autoreferát dizertačnej práce. Vedecká rada Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

[36] *Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. : Z obsahu* [online]. 2005-2011 [cit. 2011-05-02]. Inovace pěstování ovocných plodin. Dostupné z WWW: <<http://www.vsuo.cz/index.php?page=86>>.

[37] MYJAVCOVÁ R, MARHOL P, KŘEN V, ŠIMÁNEK V, ULRICHOVÁ J, PALÍKOVÁ I, PAPOUŠKOVÁ B, LEMR K, BEDNÁŘ P. Analysis of anthocyanin pigments in *Lonicera (Caerulea)* extracts using chromatographic fractionation followed by microcolumn liquid chromatography-mass spectrometry *Journal Chromatography A*. 2010 IF2009 = 4,101 Granty: MSM 6198959216, FT-TA3/024

[38] HAMPL, František; RÁDL, Stanislav; PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. Druhé rozšířené vydání. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.

[39] BELITZ, H., -D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. *Food Chemistry*. 4th revised and extended ed. Heidelberg : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. 1070 s. ISBN 978-3-540-69933-0

[40] DE MAN, John M. *Principles of Food Chemistry*. Third Edition. Gaithersburg, Maryland : Aspen Publishers, 1999. 595 s. ISBN 0-8342-1234-X.

[41] COMBS, Gerald F. Jr. *The Vitamins : Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. 3rd Edition., Elsevier, 2007. 608 s. ISBN 978-0-12-183493-7.

[42] *The Natural Food Hub* [online]. 2001 [cit. 2011-04-22]. Natural food-Fruit Vitamin C Content. Dostupné z WWW: <http://www.naturalhub.com/natural_food_guide_fruit_vitamin_c.htm>.

[43] MATUŠKOVIČ, J. JURÍKOVÁ, T. JURÍK, I. ŠIMKO, J. GAZDÍK, Z.: The content of anthocyanins and ascorbic acid in the genofond of 22 clones of *Lonicera Kamtschatica* (Sevast.) Pojark. *Gerda/25. Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, vol. 55, 2009, N. 2, pp. 88–94.

[44] CASTANEDA-OVANDO, Araceli, PACHECO-HERNANDEZ, Lourdes, PAEZ-HERNANDEZ, Elena, RODRIGUEZ, Jose A, GALAN-VIDAL, Carlos Andres, Chemical studies of anthocyanins: A review, *Food Chemistry*, Volume 113, Issue 4, 15 April 2009, Pages 859-871, ISSN 0308-8146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001. Dostupné z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T6R-4TD4J0W-G/2/4056bb0f9ec5be04829970dfa28be70b>>.

[45] DAAYF, Fouad; LATTANZIO, Vincenzo. *Recent Advances in Polyphenol Research : Volume I*. United Kingdom : Blackwell Publishing, 2008. 393 s. ISBN 978-1-4051-5837-4.

[46] DELGADO-VARGAS, Francisco; PAREDES-LÓPEZ, Octavio . *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*: CRC Press, 2003. 327 s. ISBN 978-1-58716-076-9.

[47] *Food-info* [online]. Netherlands : Wageningen University, 2011 [cit. 2011-04-28]. Anthocyanins and anthocyanidins. Dostupné z WWW: <<http://www.food-info.net/uk/colour/anthocyanin.htm>>.

[48] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-012-1.

[49] PRIOR, R.L., Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage, *The American Journal of Clinical. Nutrition*. 78 (2003), pp. 570S–578S

[50] BRIDLE P, TIMBERLAKE C. F. Anthocyanins as natural food colours — selected aspects. *Food Chemistry* 1997;58(1-2):103-109.

[51] Fine, AM, Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev* 5:144-51, 2000. Dostupné z WWW: <<http://www.thorne.com/altmedrev/.fulltext/5/2/144.pdf>>

[52] GOULD, Kevin; DAVIES, Kevin; WINEFILED, Chris. *Anthocyanins : Biosynthesis, Functions and Applications*. New York : Springer Science+Business Media, LLC, 2009. 330 s. ISBN 978-0-387-77334-6

[53] STERLING, Marilyn. *Biolink Group* [online]. 2001 [cit. 2011-04-28]. Anthocyanins. Dostupné z WWW: <<http://www.biolink.no/anthocyanins/category143.html>>.

[54] HEINRICH, Jan; ŠVARCOVÁ, Irena; VALENTOVÁ, Kateřina. *Plody Lonicera caerulea: perspektivní funkční potravina a zdroj biologicky aktivních látek*. [s.l.], 2008. 10 s. Referát. Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc

[55] Informační centrum bezpečnosti potravin, Ústav zemědělských a potravinářských informací. *A-Z Slovník pro spotřebitele* [online]. [200?] [cit. 2011-04-27]. Potravinářská barviva. Dostupné z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=76567>>.

[56] *Chemie v jídle* [online]. 2010 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <<http://www.chemievjidle.cz/>>.

[57] FOREJTAROVÁ, D. *Stanovení anthokyanových barviv ve vybraných druzích ovoce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 84 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D

[58] Thiamine. In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 20 August 2001, last modified on 25 April 2011 [cit. 2011-04-30]. Dostupné z WWW: <http://en.wikipedia.org/wiki/Thiamine>

- [59] BORS, Bob. *International Haskap* [online]. Saskatoon, Saskatchewan, Canada : University of Saskatchewan, 2007 [cit. 2011-04-28]. Dostupné z WWW: <www.vegetolab.com>.
- [60] PETERKA, Aleš. *Haskap : nejnovější ovocná plodina pro kanadské prerie* [online]. 30. srpen 2007 [cit. 2011-04-27]. Portál MS KIS. Dostupné z WWW: <<http://www.mskis.cz/?path=m1%7Cmt166%7Cmo4899>>.
- [61] BORS, Bob. Growing Haskap in Canada. *U of S Fruit Program* [online]. 2009, [cit. 2011-04-16]. Dostupný z WWW: <<http://fruit.usask.ca/articles/growinghaskapinCanada.pdf>>.
- [62] REIMER, Peter. Haskap Wines at the U of S Fruit Program. *U of S Fruit Program* [online]. 2011, [cit. 2011-04-28]. Dostupný z WWW: <<http://www.fruit.usask.ca/Documents/Haskap%20Wine.pdf>>.
- [63] *Haskap Service* [online]. 2010 [cit. 2011-05-03]. Products. Dostupné z WWW: <haskap.jp/products/>.
- [64] Haskap. In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 2010, last modified on 2010 [cit. 2011-05-02]. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Haskap>>.
- [65] DRDÁK, M., *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. 1. vyd. Alfa. Bratislava. 1989. ISBN 80-05-00121-5 s. 304
- [66] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [67] JORDHEIM, M.; GISKE, N. H.; ANDERSEN, Ø. M. Anthocyanins in Caprifoliaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 2007, 35, 153–159

5 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

pol.	polovina
st.	století
tj.	to je
tzn.	to znamená
L.	<i>Lonicera</i>
VIR	всероссийский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова (Vavilov Institute of Plant Industry)
ČR	Česká republika
angl.	anglicky
rus.	rusky
jap.	japonsky
L.	Linné
L.k.	<i>Lonicera kamtschatica</i>
Pall.	Pallassi
Sevast.	Sevastopol
Turcz.	Turczaninov
Plekh.	Plekhanov
Pojark.	Pojarkova
tzv.	takzvaně/takzvaný
Dr.	doktor
prof.	profesorka
např.	například
atd.	a tak dále
LDL	low density lipoprotein
DDD	doporučená denní dávka
Ab	arrabidin
Cy	kyanidin
Dp	delfinidin
Pg	pelargonidin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
HDL	high density lipoprotein
SPE	solid phase extraction
LLE	liquid-liquid extraction
HPLC	high performance liquid chromatography
UV-VIS	ultraviolet-visible
MS	mass spectrometry
NMR	nuclear magnetic resonance
ESI	electrospray ionization
FAB	fast atom bombarded
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
PC	paper chromatography
TLC	thin-layer chromatography
LLC	liquid-liquid chromatography
LSC	liquid-solid chromatography

CE	capillary electrophoresis
CZE	capillary zone electrophoresis
MECC	micellar electrokinetic capillary chromatography
FSCE	free solution capillary electrophoresis
DA	diode-array
DAD	diode-array detector
CCD	charge coupled device
RI	refractive index
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy

6 PŘÍLOHY

Tabulka 13 Seznam výrobků s přidanými anthokyany [56]

<i>Caprio</i>	Apple-Raspberry
<i>Danone</i>	Activia tvarohová – borůvka
<i>Danone</i>	Activia – višně
<i>Danone</i>	Fantasia – jahoda
<i>Dr. Oetker</i>	Kuličky – duhové
<i>Figaro</i>	Višně
<i>Klasa</i>	Linecké rohlíčky polomáčené s ovocnou náplní
<i>Madeta</i>	Fitness tvaroh s jogurtem – třešeň
<i>Nelly's</i>	Peanut Chocs
<i>Olma</i>	Pierot – černé třešně
<i>Olma</i>	Revital Active – jahoda
<i>REJ</i>	Srdíčko s jahodovou příchutí
<i>Relax</i>	Select – brusinka
<i>Toma</i>	Ovocný koktejl – guava a liči
<i>Wrigley's</i>	Orbit – red fruit
<i>Zott</i>	Jogobella light – lesní ovoce
<i>Zott</i>	Jogobella – lesní směs
<i>Zott</i>	Jogobella – višně