Struktura antioxidantů a antioxidační aktivita cideru

Tereza Kováčová

Bakalářská práce
2012/2013

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Tereza KOVÁČOVÁ**
Osobní číslo:	**T09019**
Studijní program:	**B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Chemie a technologie potravin**
Forma studia:	**prezenční**
Téma práce:	**Struktura antioxidantů a antioxidační aktivita cideru**

Zásady pro vypracování:

1. **Chemické složení a výroba cideru**
2. **Nejdůležitější zástupci antioxidantů přítomných v cideru**
3. **Literární rešerše na stanovení antioxidační aktivity u cideru**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] CHOI, L. H., NIELSEN, S. S. The Effects of Thermal and Nonthermal Processing Methods on Apple Cider Quality and Consumer Acceptability. Journal of food quality. 2005, 28 (1), 13 ? 29. ISSN: 0146-9428.
[2] TORRES, B., TIWARI, B. K., PATRAS, A., WIJNGAARD, H. H., BRUNTON, N., CULLEN, P. J., O?DONNELL, C. P. Effect of Ozone Processing on the Colour, Rheological Properties and Phenolic Content of Apple Juice. Food Chemistry. 2011, 124 (3), 721-726. ISSN: 0308-8146.
[3] DEVIC, E., GUYOT, S., DAUDIN, J-D., BONAZZI, C. Kinetics of Polyphenol Losses During Soaking and Drying of Cider Apples. Food and Bioprocess Technology. 2010, 3 (6), 867-877. ISSN: 1935-5130.
[4] GARCÍA, Y. D., VALLES, B. S., LOBO, A. P. Phenolic and Antioxidant Composition of by-Products from the Cider Industry: Apple Pomace. Food Chemistry. 2009, 117 (4), 731-738. ISSN: 0308-8146.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Pavel Hanuštiak**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Tereza Kováčová Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1)];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2)];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 7.5.2013

Tereza Kováčová

[1] zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:
(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.
(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.
(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.
[2] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:
(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).
[3] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:
(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.
(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.
(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá ciderem, jeho výrobou, chemickým složením a antioxidační aktivitou. Zaměřuje se na charakteristiku přírodních antioxidantů (vitamín C a E, karotenoidy, fenolické kyseliny, flavonoidy, a další). V této práci jsou popsány metody stanovení antioxidační aktivity cideru (DPPH, FRAP) a obsah jednotlivých antioxidantů v tomto nápoji.

Klíčová slova: cider, antioxidant, DPPH, FRAP

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with cider, his production, the chemical composition and the antioxidant activity. It focuses on the characteristics of the natural antioxidants (vitamin C and E, carotenoids, phenolic acids, flavonoids, and others). In this bachelor thesis, we describe methods of determining the antioxidant activity of cider (DPPH, FRAP), and the contents of each antioxidants in this drunk.

Keywords: cider, antioxidant, DPPH, FRAP

Chtěla bych poděkovat panu Ing. Pavlu Hanuštiakovi, Ph. D., za jeho odborné vedení, rady a připomínky při psaní bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat svému dědečkovi, rodičům, Martinovi a Julkovi za podporu při studiu.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně …… ……

podpis studenta

OBSAH

ÚVOD **10**
1 CIDER **11**
1.1 LEGISLATIVA 11
1.2 ODRŮDY JABLEK PRO VÝROBU CIDERU 11
1.3 VÝROBA CIDERU 12
1.3.1 Třídění ovoce 12
1.3.2 Praní ovoce 12
1.3.3 Drcení ovoce 13
1.3.4 Lisování 13
1.3.5 Kvašení 14
1.3.6 První stáčení 16
1.3.7 Hlavní kvašení 16
1.3.8 Druhé stáčení 16
1.3.9 Pasterizace 16
1.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ CIDERU 17
2 ANTIOXIDANTY **20**
PŘÍRODNÍ ANTIOXIDANTY 21
2.1 KYSELINA L-ASKORBOVÁ 21
2.2 VITAMÍN E 22
2.3 KAROTENOIDY 24
β-karoten 25
2.4 FENOLICKÉ LÁTKY 25
2.4.1 Jednoduché fenoly 26
2.4.2 Fenolové kyseliny 26
2.4.3 Flavonoidy 28
2.4.3.1 Katechiny (flavan-3-oly) a leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly) 29
2.4.3.2 Flavanony a flavanonoly 30
2.4.3.3 Flavony 30
2.4.3.4 Flavonoly (dihydroflavony) 30
2.4.3.5 Antokyanidiny 31
2.4.3.6 Chalkony a dihydrochalkony 32
2.4.4 Proantokyanidiny 33
2.5 MINERÁLNÍ LÁTKY S ANTIOXIDAČNÍM ÚČINKEM 33
2.5.1 Zinek 33
2.5.2 Měď 34
2.5.3 Selen 34
3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA **35**
3.1 MĚŘENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY 35
3.1.1 Metoda DPPH 35
3.1.2 Metoda FRAP 35
3.1.3 Metoda ABTS 36
3.1.4 Metoda ORAC 36
3.1.5 Test na celkové polyfenoly 36

3.2 ANTIOXIDAČNÍ SLOŽENÍ CIDERU 37
3.2.1 Celkový obsah polyfenolů 37
3.2.2 Fenolické kyseliny 38
3.2.3 Flavan-3-oly 38
3.2.4 Prokyanidiny 38
3.2.5 Dihydrochalkony 39
3.2.6 Flavonoly 39
3.3 ANTIOXIDAČNÍ SLOŽENÍ VEDLEJŠÍCH PRODUKTŮ Z MOŠTOVÉHO PRŮMYSLU 41
ZÁVĚR 42
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 43
SEZNAM OBRÁZKŮ 49
SEZNAM TABULEK 50

ÚVOD

Cider je alkoholický nápoj vyrobený z jablek, která jsou bohatým zdrojem polyfenolových sloučenin. Polyfenolové sloučeniny řadíme mezi tzv. exogenní antioxidanty, které jsou přijímány potravou. Jablka mohou osahovat až 2 g polyfenolových sloučenin na 1 kg hmotnosti. Fenolové sloučeniny působí jako antioxidanty a jsou schopny likvidovat volné radikály. Oxidační poškození, zapříčiněné volnými radikály bývá spojováno s nárůstem počtu chronických onemocnění, včetně rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění. Proto by fenolické látky ve funkci antioxidantů mohli poskytovat ochranu proti těmto nemocem.

První návody k pěstování a šlechtění původně divokých jabloní, stejně jako předpisy pro výrobu jablečných vín, sahají do doby vlády Karla Velikého (768 – 814). Biskupové a šlechtici v Normandii a v Bretani nařizovali vysazovat jabloně všude, kde je to možné. Sklizně jablek byli obrovské a zpracovávala se na mošt a víno. V roce 1066, po dobytí Anglie normany, se výroba cideru proslavuje také v Anglii. Předpokládá se, že výrobu cideru nebo podobného nápoje znali, ovšem až po vpádu normanů došlo k jeho popularizaci. O jablečném víně jako cideru se poprvé zmiňuje Žaltář cambridgský v roce 1150. Ovšem první vědecký spis (De vino et pomaceo) napsal mistr Julien Le Paulmier, osobní lékař Karla IX. a Jindřicha III., v roce 1588. V 17. století všechny britské lodě vozili sebou i soudky s ciderem, který jim sloužil jako prevence proti kurdějím.

Stanovení antioxidační aktivity je možné provést řadou různých metod. Pro měření antioxidační aktivity cideru bylo využito metod DPPH a FRAP. Metoda DPPH je založena na eliminaci volných radikálů. Metoda FRAP je založena na hodnocení redoxních vlastností látek.

1 CIDER

Největší spotřeba cideru je ve Velké Británii, kde ročně zkonzumují 382 miliónů litrů. Protože přidávají cukr, vyrábí cider o stupňovitosti 8° a cider částečně nahrazuje ve Velké Británii drahá vína. Ve Francii se zkonzumuje 128 miliónů litrů za rok. Dalším významným producentem cideru je Španělsko. Asturie, která se nachází na atlantickém pobřeží severního Španělska, je španělský region proslavený výrobou cideru (cca 80 % celkové výroby země). Mimo území Evropy se cider vyrábí v Kanadě a Spojených státech amerických [1, 2].

1.1 Legislativa

Cider je nápoj vyrobený úplným nebo částečným alkoholovým kvašením čerstvé, koncentrované nebo sušené jablečné šťávy, ke které byla přidána voda. Při výrobě cideru je přípustné dodávat k jablečné šťávě přídavek vody, cukru a nejvýše 25 % objemových hruškové šťávy, a to před i po kvašení. Přípustné je též přidání čerstvé nebo koncentrované jablečné šťávy po kvašení, aromatizace přírodními aromatickými látkami z ovoce, přídavek regulátorů kyselosti a upravení obsahu oxidu uhličitého jeho přidáním nebo úplným či částečným odstraněním [3].

Cider má obsahovat nejméně 1,2 % a nejvíce 8,5 % obj. alkoholu a nejvíce 1,4 g/l těkavých kyselin [3].

1.2 Odrůdy jablek pro výrobu cideru

Dobrý cider není nikdy vyroben z jedné odrůdy jablek. Jablka určená na výrobu cideru se rozdělují do čtyř skupin [1]:

- Sladká – z českých odrůd sem řadíme např. Prima, Doublet, Diadém, Rubín, Bohemia, Golden delicious.
- Hořkosladká – podílejí se na stabilizaci obsahu alkoholu v cideru. Měla by být základem všech jablečných směsí pro výrobu cideru. Z českých odrůd by bylo možné použít např. Red delicious, Florina, Spartan, Boskopské.
- Hořká – obsahují hodně tříslovin, které ulehčují vyčištění cideru a dodávají plnost chuti. Tato jablka by měla tvořit asi třetinu směsi. Z českých odrůd se sem řadí Topas, Starking, Gold star, Angold a Gloster.

- Kyselá – obsahují více kyseliny jablečné. Dodávají cideru svěžest a kromě toho jej chrání před nemocemi a ztmavnutím. Do směsi jablek by se měla přidávat pouze v omezeném množství, neměla by tam však chybět. Kyselá jablka z českých odrůd jsou např. Melodie, Rosana, Otava, Melrose, Ontario.

Pro výrobu cideru vyvážené chuti proto výrobci spojují odlišné odrůdy. Vliv na chuť vyrobeného nápoje má také zralost ovoce, jeho stav, způsob uskladnění i teplota při výrobě [1].

Podle doby zrání můžeme odrůdy jablek rozdělit na letní, podzimní až ranně zimní a zimní. Letní jablka se nadají dlouho uchovávat, musejí být zpracována v období, kdy je ještě velmi horko. Výsledkem kvašení je cider, který se označuje jako suchý (sec nebo brut). Podzimní až ranně zimní jsou pro výrobu nejvhodnější. Dávají cider polosuchý (demi sec). Zimní jablka mohou být pro výrobu cideru použita, až když jsou polotvrdá, tzn. že po sklizni musí ještě částečně dozrát. Cider z nich je sladký (doux) [1].

Tab. 1 Typy ciderů podle obsahu alkoholu [1]

Typ	**Obsah alkoholu**
suchý (brut nebo sec)	více než 5 %
polosuchý (demi sec)	3 – 5 %
sladký (doux)	méně než 3 %

1.3 Výroba cideru

1.3.1 Třídění ovoce

Jablka musí být dobře vyzrálá a obsahovat harmonický poměr cukrů a kyselin. Proto se zjišťuje obsah kyselin a cukrů ještě před zpracováním. Vyhazuje se ovoce nahnilé, zavadlé, plesnivé či jinak poškozené. Jednotlivé vytříděné druhy se smíchají v poměru, které udělí cideru požadovanou chuť [1, 4].

1.3.2 Praní ovoce

Jablečná slupka může být znečištěna zeminou, postřiky a mechanickými nečistotami. Praní jablek se provádí v kartáčových, sprchových nebo bubnových pračkách. Sprchový oplach tekoucí pitnou vodou musí trvat minimálně 5 vteřin. Pokud jsou na ovoci znát zbytky

ovocnářských postřiků, je třeba použít k mytí vodu o teplotě 30 °C a poté ovoce opláchnout studenou pitnou vodou [1, 5].

1.3.3 Drcení ovoce

Cílem drcení je vhodného rozrušení celistvosti plodů, jejich pletiva a buněk, aby pak při lisování bylo získáno, co nejvíce šťávy. Rozdrcené nebo nahrubo nastrouhané ovoce uvolňuje šťávu při lisování mnohem rychleji. Ta odtéká rychleji z takových částic, které mají po rozdrcení větší vnitřní i vnější plochu. Příliš jemná až kašovitá drť při lisování není vhodná. Při lisování se z ní může vytvořit homogenní, skoro nepropustný výlisek, který šťávu uvnitř zadržuje [5].

K drcení jablek jsou vhodné pilkové nebo talířové drtiče. Před lisováním se provádí úprava drtě. Úprava jablečné drtě se provádí tzv. loužením, což je vyluhování jablečné drti macerací ve vlastní šťávě nebo ve vodě. Funkce loužení spočívá v rozkladu pektinových látek, které mají funkci mezibuněčného pojiva. Rozložením pektinů se ovocná pletiva rozpadají, snižuje se viskozita šťávy, takže je lisování snadnější a zvyšuje se výlisnost. Při běžných teplotách by měla být doba loužení 6 – 10 hodin [1, 5].

1.3.4 Lisování

Lisování se provádí pomocí hydraulických nebo pneumatických lisů. Při lisování musí odtékat maximální množství samotoku. Lisuje se přerušovaným přetlakem, aby šťáva, která je prakticky nestlačitelná mohla snadněji odtékat [5].

Výtěžnost šťávy závisí na tom, jak jsou jablka v daném roce šťavnatá. Výtěžnost šťávy při použití hydraulického lisu může být až 70 %. Obvykle kolísá mezi 65 – 80 litry ze 100 kg jablek [1].

Je-li pH jablečného džusu vyšší než 3,8, měla by být upravena kyselost šťávou z kyselých jablek nebo přídavkem kyseliny jablečné [6].

Měření hustoty

Kvalita zpracovaných jablek se promítá do moštu. Podle naměřené hustoty, lze usuzovat, jaká jablka byla zpracována. Cukernatost se zjišťuje hustoměry, moštoměry či refraktometry [1].

Ke stanovení obsahu cukru v ovocné šťávě lze použít např. Oechsleho hustoměr, který stanovuje hustotu šťávy (°Oe), Klosterneuburský moštoměr, který ukazuje obsah cukru

v hmotnostních % (°Kl), nebo refraktometru, jímž se stanoví obsah refraktometrické sušiny refraktometrické sušiny ve šťávě v °RS [4].

Tab. 2 Vztah mezi kvalitou jablek a hustotou [1]

hustota	**kvalita jablek**
1,047 – 1,056	podprůměrná
1,057 – 1,065	průměrná
1,066 – 1,070	dobrá
> 1,070	výtečná až excelentní

Síření

Mošt se pravidelně síří před každou manipulací, kde je nebezpečí oxidace, např. před čiřením, filtrací, nebo lahvováním. Oxid siřičitý působí konzervačně a zajišťuje odstranění nežádoucích mikroorganismů. Např. pro octové bakterie je 50 mg SO_2/l letální dávka, zatímco kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* snášejí dávku až 6-krát vyšší. K vysíření nádob se používají buď sirné plátky nebo disiřičitan draselný ($K_2S_2O_5$). Síření sirnými plátky představuje síření plynným oxidem siřičitým. Dále se používá 2 % roztok oxidu siřičitého (20 g SO_2/l). Roztok se připravuje rozpuštěním 70 g disiřičitanu draselného v 1 litru vody. Do vody je třeba přidat 2 g kyseliny citronové, která oxid siřičitý uvolňuje. V průmyslové výrobě se využívá síření kapalným SO_2 [1, 7].

1.3.5 Kvašení

Tradičně cider kvasil a zrál v dubových kádích nebo sudech. Dnes mnoho velkých výrobců používá tanky z nerezové oceli. Mnoho výrobců v Anglii a Francii vyrábí cider spontánním kvašením. Kvasinky jsou totiž obsaženy na slupce jablka i v dužnině. V Anglickém cideru při kvašení převažují kvasinky *Saccharomyces cerevisiae, Kloeckera apiculata* a *Saccharomycodes ludwigii*. Ve Francouzkém moštu převládají kvasinky *Saccaromyces cerevisiae, Hanseniaspora valbyensis*, a *Metchnikowia pucherrima*. Dále byly izolovány kvasinky rodů *Zygosaccharomyces, Torula, Candida, Pichia, Brettanomyces, Hansenula* a jiné druhy rodů *Saccharomyces* a *Kloeckera* [6].

Kvasné nádoby se plní do $^3/_4$ obsahu. Nad hladinou moštu, tak vzniká volný prostor pro pěnu z kvašení. Do pěny se strhávají i nečistoty. Během několika dní pěna ztuhne a vytvoří hnědý klobouk. Činnost nežádoucích mikroorganismů je potlačována zvyšující se koncentrací etanolu, sířením a omezeným přístupem vzduchu [1, 5].

Při spontánním kvašení se rozmnožují všechny mikroorganismy, které se z povrchu ovoce dostanou do šťávy a kterým příznivé podmínky umožňují využití cukru ve šťávě k rozmnožování a kvašení. Kromě malého množství vinných kvasinek se do šťávy dostávají jiné kvasinky a spory bakterií a plísní. Celá tato pestrá směs se pak zúčastňuje kvasného procesu. V první fázi samovolného kvašení dochází nejprve k rozvoji aerobních mikroorganismů (křísotvorné kvasinky, octové bakterie…). Teprve s nárůstem tvorby CO_2 a při dosažení 5 – 6 % obj. etanolu dojde ve šťávě k pomnožení vinných kvasinek, které převládnou [7].

Hlavními sloučeninami, které se vytvářejí při kvašení, jsou etanol, CO_2, organické kyseliny (jablečná, jantarová, mléčná), estery a vyšší alkoholy. V anglickém cideru kvašení probíhá při teplotě 20 – 25 °C po dobu 1 – 4 týdnů. Při výrobě francouzského cideru se udržuje teplota nižší: 15 – 20 °C po dobu 1 – 3 měsíců. Tyto nízké teploty mají významný vliv na přirozeně přítomné kvasinky. Francouzští výrobci cideru na počátku kvašení záměrně mošt filtrují nebo odstřeďují, aby zamezili růstu kvasinek a snížili množství živin přítomných ve šťávě. Tím zajistí pomalejší kvašení a zachování zbytkového cukru v konečném produktu [6, 8].

Samočištění

Při samočištění se cider čistí. Samočištění je velmi výraznou etapou při výrobě cideru., zvláště proto, aby se zachovala sladká chuť a nebyl příliš pěnivý. Při samočištění nečistoty klesají ke dnu (odumřelé kvasinky, jadérka, zbytky zeminy) nebo stoupají vzhůru (kousky dužniny…). Samočištění je ovšem daleko komplexnější fenomén. Ve všech plodech jsou obsaženy dusíkaté látky, zastoupené převážně bílkovinami a pektinové látky. Dusíkaté látky jsou důležitou živinou pro kvasinky. Rychlost kvašení a hloubka prokvašení (tj. zda bude veškerý cukr přeměněný na alkohol) jsou závislé na přítomnosti snadno využitelného dusíku. Pektinové látky jsou během zrání a skladování suroviny rozkládány pektolytickými enzymy na pektin rozpustný ve vodě. Pektin v moštu pomalu koaguluje, stoupá nahoru k hladině a strhává sebou mikroorganismy a nečistoty plovoucí v moštu, stejně tak jako 30 – 40 % dusíkatých látek. Výsledkem je vyčištěný mošt, ovšem chudý na dusík. Díky tomu nebudou mít kvasinky dostatek dusíkatých látek a nepřemění veškerý cukr na alkohol. Cider bude mít díky tomu sladkou chuť a nižší obsah alkoholu [1].

1.3.6 První stáčení

Po třech až osmi dnech se přestává tvořit hnědý klobouk, tvořený pěnou a nečistotami, a začíná se objevovat bílá pěna, prostupující trhlinami hnědého klobouku. Bílou pěnu tvoří oxid uhličitý tvořený kvasinkami. V tomto okamžiku je nutné přistoupit k prvnímu stáčení. Na dně nádoby jsou usazené odumřelé kvasinky a nahoře pod bílou pěnou je mošt čirý. Po prvním stáčení se získá čirý produkt s dostatečným obsahem dusíkatých látek a kvasinek [1].

1.3.7 Hlavní kvašení

Ve vyčištěném moštu, zbaveném části kvasinek a dusíkatých látek, se obnoví kvašení. Toto kvašení je ovšem pomalejší [1].

Zrání

Během kvašení probíhá zároveň i zrání. Cider při zrání prochází jablečno-mléčnou konverzí, přičemž bakterie mléčného kvašení převádějí kyselinu jablečnou na kyselinu mléčnou. Ostrá kyselost kyseliny jablečné z jablek je nahrazena jemnější kyselostí kyseliny mléčné. Na této přeměně se podílí zejména bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Pediococcus* [6].

1.3.8 Druhé stáčení

Po dvou až třech měsících se provádí druhé stáčení. Druhé stáčení má stejný cíl jako první: snížit obsah kvasinek a dusíkatých látek a tím zpomalit kvašení. Druhé stáčení většinou stačí k uklidnění bouřlivého kvašení. V případě přírodních ciderů je někdy zapotřebí i třetí stáčení. V průmyslové výrobě se po lahvování provádí pasterace [1].

1.3.9 Pasterizace

Cider má vysoký obsah zbytkového cukru. Toho výrobci dosahují dvěma způsoby. První je stáčení až do vyčerpání živin (hlavně dusíku) pro kvasinky. Druhým způsobem je pasterace, při které dojde k usmrcení zbylých mikroorganismů [8].

Ačkoli pasterizací dosáhneme bezpečný výrobek pro spotřebitele, zapříčiňuje také zhoršování mnoha kvalitativních a nutričních vlastností. V cideru vytváří teplo nevětší změny v přítomných enzymech, barvě a chuti. Přítomné enzymy jsou většinou pasterizací inaktivovány a vitamíny jsou primárně ztraceny oxidací. Pigmenty jablek jako chlorofyl, karote-

noidy, antokyany a jiné fenolické látky jsou degradovány. Také hodnota pH má tendenci klesat po tepelné úpravě. Např. celkový obsah kyselin ve vzorku byl 0,432 % a po 21 dnech po pasterizaci celkový obsah kyselin klesl na 0,349 % [9].

1.4 Chemické složení cideru

Chemické složení cideru úzce souvisí s odrůdou zpracovaných jablek, s postupem výroby a podmínkami při zpracování [8].

Dominantní senzorické vlastnosti jablek a jejich produktů jsou chuťové pocity sladkosti a kyselosti, způsobené cukry (glukosa, fruktosa, sacharosa) a kyselinou jablečnou, respektive hlavními složkami jablek. Ostatní chuti jako jsou hořkost a trpkost, jsou způsobeny fenolickými látkami, které jsou přítomny v menším množství než cukry a kyseliny [10].

Důležitou roli hrají také mastné kyseliny, které přispívají k dotváření chuti a aromatu nápoje jako prekurzory těkavých látek (alkoholy, estery). Kromě toho mají mastné kyseliny pozitivní vliv na tvorbu a stabilizaci pěny. Nejvýznamnějšími zástupci mastných kyselin ve většině ciderů jsou kyselina kapronová, kaprylová, laurová a myristová [11].

V Asturii jsou odrůdy jabloní určených pro výrobu moštů tzv. dvouleté plodiny, což znamená, že každé dva roky je cider vyroben z asturijské odrůdy moštových jablek, zatímco v následujícím roku je surovina dovážena z jiných oblastí Španělska a dalších zemí, jako je Francie a východní Evropa. Asturijský cider je odlišný od Francouzských a Anglických ciderů. Je suchý a kyselý s vyváženým aroma a je popisován jako svěží s moštovou a nakyslou příchutí, zatímco francouzské mošty jsou sladkohořké s jablečným aroma [2].

V porovnání s francouzským výrobním procesem je asturijský přírodní cider získáván pomalým lisováním (2 – 3 dny), bez síření, samovolným kvašením a zráním v barelech bez přístupu vzduchu po kratší dobu. Ve Francii je fermentační proces zpomalován, aby byl získán sladký konečný produkt [2].

Po dobu delší než čtyři roky byly analyzovány vzorky ciderů vyrobených z asturijských moštových jablek v lichých letech (1995, 1997) a jablečných moštů vyrobených ze směsi anglických a francouzských jablek v letech sudých (1996, 1998) [2].

Etanol je hlavní těkavou složkou alkoholických nápojů. V jablečných moštech redukuje patrnou kyselost, zvyšuje sladkost a má celkový zjemňující účinek na další chuťové charakteristiky. Obsah alkoholu ve vzorcích se pohyboval v rozsahu 5 – 7 % obj. Hodnoty

v sezóně 1998 byly nejnižší. Tyto nízké hodnoty mohou souviset se špatnými klimatickými podmínkami v daném roce [2].

Acetaldehyd je nejdůležitější karbonylová sloučenina obsažená v nápoji a je produkována kvasinkami při kvašení. Když je acetaldehyd přítomen v přebytku dostává nápoj nežádoucí aroma, které je možno maskovat přídavkem SO_2. Chuťový práh acetaldehydu v cideru byl stanoven na 30 mg/l. Rozdíly ve tvorbě acetaldehydu závisí zejména na druhu nebo kmeni kvasinek, ale také na faktorech, jako jsou teplota, přítomnost kyslíku a množství SO_2. Další významné těkavé sloučeniny vznikající při kvašení jsou metanol, etylacetát, 2-metyl-1-propanol, 1-propanol, 2-metyl-butanol a 3-metyl-butanol [12].

Tab. 3 Hodnoty pH, obsahu alkoholu a kyselin v asturijském přírodním cideru [2]

sezóna	**pH**	**obsah alkoholu (% obj.)**	**celkový obsah kyselin (g kyseliny octové/l)**
1995	3,77	6,4	3,72
1996	3,81	6,5	3,80
1997	3,85	6,1	3,85
1998	3,75	5,3	3,75

Kaboxylové kyseliny jsou důležitou složkou jablečných šťáv (kyselina jablečná, šikimová) a jablečných moštů (kyselina mléčná, octová, jantarová). Jejich koncentrace určuje hodnotu pH, ovlivňuje chuť a náchylnost cideru k mikrobiálnímu kažení. Kyselina jablečná, základní kyselina v jablkách byla analyzována jako zbytková kyselina ve všech testovaných ciderech. Je to způsobeno jablečno-mléčnou konverzí během kvašení. Během té se mléčným kvašením mění kyselina jablečná na kyselinu mléčnou. Tato konverze snižuje trpkost a pozitivně přispívá k mikrobiální stabilitě jablečných moštů. Kyselina šikimová je obvykle mléčným kvašením redukována na dihydrošikimovou kyselinu a její koncentrace se během zrání moštu snižuje. Kyselina jantarová je hlavní karboxylová kyselina produkovaná kvasinkami během alkoholového kvašení. Její přítomnost v cideru dodává nápoji hořkoslanou příchuť. Tvorba kyseliny octové může nastat ve všech stupních výroby cideru v důsledku rozmnožení jiných mikroorganismů schopných metabolismu na řadě substrátů přítomných v moštu. Obyčejně se kvašení šťávy provádí původní flórou a tvorba kyseliny octové octovými kvasinkami převládá. Obsah kyseliny octové v cideru vyšší než 2,20 g/l, je koncentrace nevhodná ke konzumaci [2].

Tab. 4 Obsah organických kyselin (g/l) v asturijském přírodním cideru [2]

sezóna	kyselina šikimová	kyselina jablečná	kyselina mléčná	kyselina octová	kyselina jantarová
1995	6,67	0,02	4,41	1,53	0,90
1996	5,96	0,11	3,66	1,03	0,17
1997	2,66	0,11	3,19	1,32	0,53
1998	5,91	0,02	3,34	1,37	0,50

Cukry jsou důležitou složkou cideru, protože přispívají k chuti a jsou důležitou nutriční složkou. Analýza cukrů může být použita k detekci falšování cideru přidáním kukuřičného, třtinového nebo řepného cukru do jablečné šťávy. Z analyzovaných cukrů ve vzorcích asturijského cideru (glukosa, fruktosa, sacharosa) byla nalezena pouze fruktosa s obsahem menším než 1 g/l, protože bylo vždy dokončeno kvašení. Sladká chuť je u asturijského přírodního cideru považována za vadu. Sorbitol je hlavní polyalkohol syntetizovaný v listech jabloní a převáděný na cukr v ovoci. Během kvašení ho mikroorganismy nevyužívají a v cideru přispívá k plnosti chuti. Glycerol je druhotný produkt alkoholového kvašení a přispívá k zjemnění chuti. Nízký obsah nebo absence glycerolu v kvašených nápojích je obvykle spojována s mikrobiologickými poruchami zapříčiněnými bakteriemi mléčného kvašení a má negativní vliv na senzorickou kvalitu cideru [2, 13].

Tab. 5 Obsah reziduí cukru a polyalkoholů (g/l) v asturijském přírodním cideru [2]

sezóna	fruktosa	glycerol	sorbitol
1995	0,17	3,21	5,99
1996	0,94	3,15	6,38
1997	0,15	3,20	5,53
1998	0,40	2,59	4,46

2 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou látky, které prodlužují přirozenou údržnost potravin. Chrání potraviny před znehodnocením způsobeným oxidací, jejímž projevem je žluknutí přítomných tuků a dalších, snadno se oxidujících složek potravin. Oxidace vyvolává v potravinách další chemické změny, které negativně ovlivňují jejich výživovou, hygienicko-toxikologickou a senzorickou hodnotu (vůni, chuť, barvu) [14].

Antioxidanty ovlivňují proces oxidace tak, že [14]:

1. Reagují s volnými radikály (pak jsou antioxidanty primární) nebo redukují vzniklé hydroperoxidy (antioxidanty sekundární)
2. Váží do komplexů katalyticky působící kovy
3. Eliminují přítomný kyslík

K primárním antioxidantům se řadí askorbová kyselina a její deriváty, tokoferoly, flavonoidní látky (chalkony) a fenolové kyseliny. Z fenolových kyselin jsou to zejména substituované skořicové kyseliny, jejich estery, glykosidy a amidy.

K sekundárním se řadí např. cystein, peptidy obsahující cystein, metionin, lipoová kyselina a další se přirozeně vyskytující látky [14].

Další klasifikace antioxidantů je podle původu [14]:

1. Přírodní (vitamíny C a E, fenolické látky, minerální látky, karoteny)
2. Syntetické (BHA, BHQ)

Volné radikály mohou napadat téměř všechny biomolekuly, ale hlavně biomembrány, proteiny a nukleové kyseliny. Jsou zodpovědné za řadu patologických procesů a je prokázáno spojení mezi volnými radikály a vznikem závažných onemocnění jako je parkinsonova a alzheimerova choroba, ateroskleróza, kardiovaskulární onemocnění nebo chronický únavový syndrom [15].

Antioxidanty mohou reagovat s volnými radikály autooxidačního řetězce, hlavně s peroxylovými radikály. Při reakci se vytvoří hydroperoxid nebo jiný neradikálový produkt. Antioxidant přejde do formy volného radikálu, který však bývá dosti stálý, takže není schopen pokračovat v iniciační reakci. Při reakci se antioxidant spotřebovává. Když je všechen antioxidant spotřebován, začne autooxidace probíhat tak, jakoby žádné antioxidanty nebyly přítomny. Antioxidanty tedy nemohou úplně zastavit autooxidační reakci, jen ji zpomalit, v ideálním případě až na rychlost iniciační reakce [16].

Přírodní antioxidanty

Antioxidační vlastnosti vykazuje řada rostlinných materiálů. Po staletí se k prodloužení údržnosti potravin používají převážně různé bylinky a koření. Zvláště účinné jsou šalvěj, rozmarýn, oregano, tymián, hřebíček, kurkuma a také ovesná mouka. Přírodní antioxidanty (získávané z rostlin hlavně jako extrakty) mají často omezené použití, neboť mohou vykazovat vůni po použitých rostlinách nebo nahořklou chuť [14].

K přírodním antioxidantům patří [17]:

- Fenoly
- Fenolové kyseliny a jejich deriváty
- Lignany
- Kurkuminoidy
- Diterpeny a chinony
- Triterpeny a steroly
- Flavonoidy
- Alkaloidy
- Sirné peptidy a proteiny
- Ostatní (vitamíny C a E, karotenoidy….)

2.1 Kyselina L-askorbová

Kyselina L-askorbová je γ-lakton hexonové kyseliny s endiolovou strukturou. Ze čtyř možných izomerů vykazuje aktivitu vitamínu C pouze kyselina L-askorbová. Názvem vitamín C se označuje celý reverzibilní redoxní systém, který zahrnuje také L-askorbyl radikál a kyselinu L-dehydroaskorbovou [18].

Nejvíce vitamínu C najdeme v černém rybízu, kiwi, zelené paprice, šípcích a citrusových plodech. Z živočišných potravin jsou významným zdrojem pouze játra. Snadno se ničí vařením, protože se rychle oxiduje na kyselinu L-dehydroaskorbovou, která snadno otevírá laktonový kruh, což má za následek ztrátu biologické aktivity [19].

Vitamín C je důležitým redukčním činidlem. Redukuje Fe^{3+} na Fe^{2+} a Cu^{2+} na Cu^{1+}. Umožňuje tak vstřebávání železa ze střeva a využití přechodných prvků v aktivním centru hydrolas. Askorbát je nutný jako kofaktor enzymů při syntéze kolagenu a při přeměně dopaminu na noradrenalin. Má protinádorový, antisklerotický a protizánětlivý účinek. Jak

samostatný, tak v kombinaci s dalšími antioxidanty (Zn, vitamín E, β-karoten) askorbát snižuje krevní tlak [20].

Askorbová kyselina má díky svým vlastnostem (vitamín, antioxidant, chelatační činidlo) široké použití jako především v konzervárenské a kvasné technologii a v technologii masa. Jako antioxidant se používá ve vodě rozpustná sůl askorbové kyseliny natrium-askorbát (v praxi nazývaný askorbát sodný) a lipofilní sloučenina 6-palmitoyl-L-askorbová kyselina (L-askorbyl-6-palmitát), která současně inhibuje tvorbu nitrosaminů v nakládaném mase a masných výrobcích. Dále se přidává k ovocným džusům, konzervovanému a mrazírensky skladovanému ovoci jako prevence nežádoucích změn aroma vyvolaných oxidací. Při loupání, krájení a sušení ovoce, zeleniny a brambor se používá jako inhibitor reakcí enzymového hnědnutí, často v kombinaci s kyselinou citronovou. Použití askorbové kyseliny při výrobě vína umožňuje snížit množství použitého oxidu siřičitého k síření [16].

Askorbová kyselina i její isomery a deriváty mohou reagovat s volnými radikály. Reakci askorbové kyseliny s peroxylovým radikálem mastné kyseliny, lze schématicky znázornit následující rovnicí [16]:

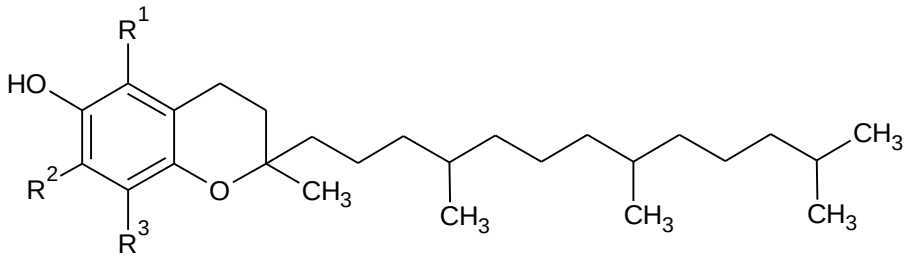
$$H_2A + R - O - O\bullet \rightarrow R - O - OH + HA\bullet$$

Vzniklý askorbyl radikál již není schopen vyvolat další řetězovou reakci, disproporcionuje na askorbovou a dehydroaskorbovou kyselinu a tak zpomaluje oxidaci. Kyselina askorbová je obecně účinnějším antioxidantem, použije-li se v kombinaci s tokoferoly. Ty potom přednostně reagují s volnými radikály a vzniklé radikály tokoferolů jsou kyselinou askorbovou redukovány zpět na tokoferoly [16].

2.2 Vitamín E

Tokoferoly čili vitamíny E jsou deriváty tokolu, obsahující heterocyklus chromanu s izoprenoidním postraním řetězcem. Nejúčinnějším je α-tokoferol (5,7,8-trimetyltokol). Vitamínů E je známá celá řada, liší se od α-tokoferolu počtem a polohou metylových skupin [18].

Tokoferoly jsou citlivé na kyslík a snadno se oxidují. Jejich citlivost stoupá s počtem metylových skupin v molekule tokolu, současně však klesá jejich antioxidační účinnost [21].



Obr. 1 Tokol

Tab. 6 Tokoferoly [21]

	R[1]	**R[2]**	**R[3]**
tokol	H	H	H
α-tokoferol	CH_3	CH_3	CH_3
β-tokoferol	CH_3	H	CH_3
γ-tokoferol	H	CH_3	CH_3
δ-tokoferol	H	H	CH_3

Vitamín E je rozpustný pouze v tucích a zabraňuje oxidaci lipidových složek buněčných membrán, krevních tuků, cholesterolu a dalších tukových látek v organismu. Nedostatek tohoto vitamínu je běžný u starých lidí a typickým projevem jsou tzv. stařecké skvrny [18].

Bohaté zdroje na vitamín E jsou ořechy, za studena lisované oleje z rostlin, obilné výrobky, semena a jádra semen, vaječný žloutek a luštěniny [18].

Mechanismus antioxidačního účinku vitamínu E je obdobný účinku ostatních lipofilních (např. fenolových) antioxidantů. Autooxidaci lipidů inhibují tím, že reagují s peroxylovými radikály za vzniku hydroperoxidu a radikálu tokoferolu. Vzniklý radikál tokoferolu není dostatečně reaktivní a nemůže proto štěpit další molekulu [16].

$$T - OH + R - O - O\bullet \rightarrow R - O - OH + T - O\bullet$$

V terminační fázi autooxidační reakce se radikál tokoferolu stabilizuje nevratnou reakcí buď s peroxylovým radikálem nebo v přítomnosti většího množství tokoferolu reagují tyto radikály mezi sebou za vzniku dimeru [16].

2.3 Karotenoidy

Karotenoidní barviva tvoří skupinu žlutých, oranžových, červených a fialových pigmentů, které ve většině případů doprovázejí chlorofyly v rostlinách, nacházíme je však i v mikroorganismech a v živočišných organismech. Karotenoidy jsou nerozpustné ve vodě, avšak v tucích a organických lipofilních rozpouštědlech se rozpouštějí. Jsou to nenasycená polyenová barviva složené z izoprenových jednotek. Aktivitu vitamínu A vykazuje asi 50 přirozeně se vyskytujících sloučenin ze skupiny karotenoidů, které se nazývají provitamíny A. Provitamíny A jsou tetraterpeny nebo tetraterpenoidy (jejich kyslíkaté deriváty), které obsahují v molekule 40 atomů kyslíku [16, 21].

Až dosud bylo v potravě identifikováno přes 600 karotenoidových barviv. Mezi nejznámější patří α, β, γ-karoten, lykopen, lutein; přičemž například lykopen je účinnějším antioxidantem než β-karoten [19].

Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny [14]:

- Uhlovodíky nazývané karoteny (α, β, γ-karoten, lykopen, fytoen)
- Kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenů, které se nazývají xantofyly (lutein, zeaxantin, 5,6-epoxylykopen)

V živých organismech jsou široce rozšířeny a vykonávají tam řadu klíčových funkcí. U živočichů mají funkci vitamínů, vizuálních pigmentů, signálních molekul při dělení buněk, růstu a diferenciaci tkání a kontrole reprodukce. U rostlin fungují jako hormony, pigmenty, vonné látky a plní řadu obranných funkcí [16].

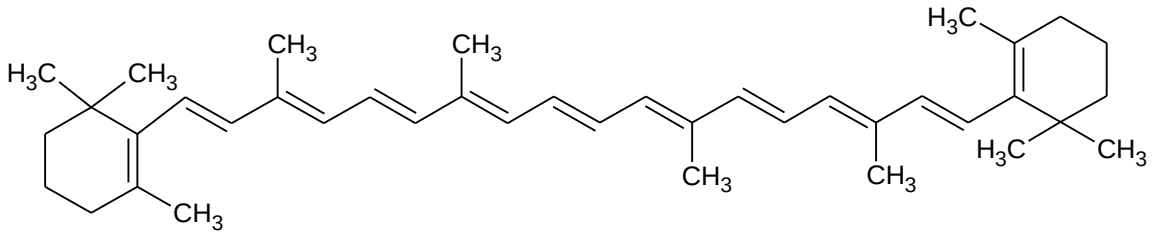
Karotenoidy se nacházejí hlavně ve špenátu, mrkvi, petrželi, brokolici, kapustě, zelí a rajčatech. V živočišných materiálech je obsah karotenoidů ovlivněn krmením, způsobem chovu, ročním obdobím nebo plemenem. Živočišné zdroje karotenoidů jsou mléko, máslo, vejce, sýr a hovězí játra [21].

Mechanismus antioxidačního působení karotenoidů se liší od mechanismu působení vitamínu E. Předpokládá se, že peroxylový radikál vznikající při autooxidaci lipidů není redukován na hydroperoxid, ale je zachycen konjugovaným systémem a vznikají relativně stabilní radikály [16].

β-karoten

β-karoten je v přírodě nejrozšířenějším provitamínem A, obvykle je v přírodních materiálech doprovázen α-karotenem a malým množstvím γ-karotenu. Molekula *β*-karotenu je tvořena dvěma *β*-jonovými kruhy spojenými čtyřmi isoprenoidními jednotkami. Nejbohatšími zdroji *β*-karotenu jsou mrkev, meruňky, papája, mango, nektarinky, broskve, špenát, brokolice, hrách, kapusta a řeřicha. Je spojován s prevencí srdečních infarktů, nepravidelného srdečního rytmu, mrtvice a rakoviny, zvláště pak rakoviny plic. *β*-karoten rovněž působí jako ochrana před fotooxidací, protože potlačuje negativní vliv volných kyslíkových radikálů, které vznikají v kůži důsledkem UV záření [19].

Doporučená denní dávka *β*-karotenu je 10,8 mg. Absorbce jednotlivých provitamínů není vždy kvantitativní. Velmi závisí na složení potravy a způsobu přípravy pokrmů, zejména na přítomnosti tuků. Množství *β*-karotenu potřebné pro vznik 1μg retinolu je 4μg (je-li provitamín přítomen v mléce, margarínu, rostlinných olejích nebo živočišných tucích), 8μg (nachází-li se ve vařené listové zelenině nebo karotce připravené na tuku) nebo dokonce 12μg (je-li přítomen v karotce uvařené ve vodě) [16].



Obr. 2 β-karoten

2.4 Fenolické látky

Fenolické látky se uplatňují jako vonné látky, chuťové látky, přírodní barviva nebo obranné látky rostlin (fytoalexiny). Mají antimikrobiální a antioxidační účinky. Některé jsou toxické. Karcinogenní účinky mají některé kumariny [14].

Vzhledem k jejich k jejich širokému rozšíření a vysoké koncentraci v rostlinách jsou běžnou součástí lidské stravy. Nejběžnějšími rostlinnými polyfenoly jsou fenolické kyseliny, flavonoidy a lignany. V současnosti roste zájem o studium těchto přírodních látek, protože jejich příjem v potravě je dáván do souvislosti se snížením výskytu závažných nemocí, jako je rakovina a kardiovaskulární choroby. Zvýšený příjem červeného vína, které je

zvláště bohaté na polyfenoly, je jedním z pravděpodobných vysvětlení tzv. francouzského paradoxu, tedy relativně vysokým obsahem tuků v potravě a nízkou úmrtností na kardiovaskulární choroby. Mohou také působit proti vzniku krevních sraženin a tímto způsobem snižovat riziko infarktu myokardu nebo mozkové mrtvice [22].

Jejich denní příjem byl odhadnut na 1 g je výrazně vyšší než je příjem antioxidačních vitaminů. Rovněž v testech antioxidační aktivity polyfenoly často předčí vitamíny nebo endogenní antioxidanty jako je např. kyselina močová. Hlavními zdroji polyfenolů jsou především nápoje (víno, káva, čaj, ovocné džusy), čokoláda a ovoce. Jablka obsahují až 2 g polyfenolových sloučenin na 1 kg hmotnosti. Na celkovém příjmu polyfenolů se flavonoidy podílí asi ze dvou třetin, fenolové kyseliny přibližně jednou třetinou a ostatní polyfenoly (např. lignany a stilbeny) tvoří minoritní podíl [22, 23].

Fenolové sloučeniny mohou jako primární antioxidanty interferovat s oxidací lipidů tak, že reagují s radikály hydroperoxidů nebo alkoxylovými radikály vzniklými oxidací lipidů a poskytují jim atom vodíku, čímž přeruší řetězovou radikálovou reakci. Jako produkty vznikají fenoxylové radikály antioxidantu [17].

$$ArOH + R - O - O\bullet \rightarrow R - O - OH + ArO\bullet \quad nebo \quad ArOH + RO\bullet \rightarrow R - OH + ArO\bullet$$

Tyto radikály reagují s volným hydroperoxylovým nebo alkoxylovým radikálem v terminační fázi reakce [17].

$$R - O - O\bullet + ArO\bullet \rightarrow R - O - Ar + O_2 \; nebo \; RO\bullet + ArO\bullet \rightarrow R - O - OAr$$

2.4.1 Jednoduché fenoly

Antioxidační a také antimikrobiální účinky mají některé jednoduché fenoly (zejména hydrochinon, guajakol, isoeugenol a salicylaldehyd), které se vyskytují jako složky kouře používaného odedávna k uzení potravin [17].

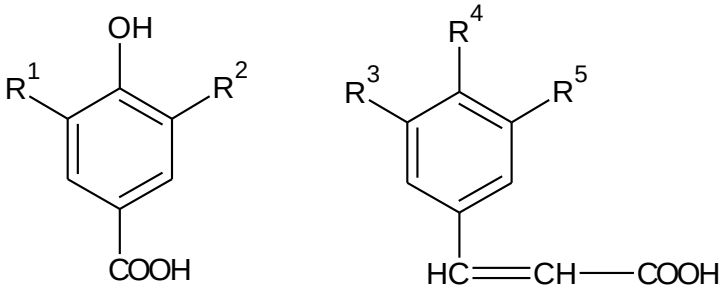
2.4.2 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou běžnou součástí všech rostlinných materiálů. Patří sem benzeová kyselina a její deriváty a skořicová kyselina a její deriváty. Některé kyseliny, např. 2-hydroxybenzeová (salicylová), 4-hydroxybenzeová aj., jsou složkami kouře používaného pro uzení potravin [14].

Jejich antioxidační aktivita závisí na počtu hydroxylových skupin v molekule. Aktivnějšími antioxidanty jsou obecně skořicové kyseliny a *o*-difenoly (např. kávová kyselina a její

ester kyselina chlorogenová nebo ester kávové a 3,4-dihydroxyfenylmléčné kyseliny známý jako rosmarinová kyselina). Uvedené kyseliny se vyskytují ve volné formě jen v nízkých koncentracích. V přírodě jsou převážně zastoupeny ve formě esterů nebo jako glykosidy. Kromě antioxidačních účinků vykazují fenolické kyseliny také antibakteriální, antimutagenní, antikarcinogenní a protizánětlivé účinky [14, 21, 24].

Obsah hlavních fenolových kyselin se v průběhu růstu a zrání plodů kvantitativně mění. V jablkách je v době sklizně asi 12 mg/kg čerstvé hmotnosti *p*-kumarové, 85 mg/kg kávové a 4 mg/kg ferulové kyseliny. V době zralosti je obsah těchto kyselin 1,9; 10,4 a 0,4 mg/kg [25].



Obr. 3 Kyselina p-hydroxybenzeová a kyselina skořicová

Tab. 7 Deriváty kyseliny p-hydroxybenzeové [25]

Deriváty kyseliny *p*-hydroxybenzeové	**R^1**	**R^2**
kyselina *p*-hydroxybenzeová	H	H
kyselina protokatechová	OH	H
kyselina gallová	OH	OH
kyselina vanilinová	H	OCH_3
kyselina syringová	OCH_3	OCH_3

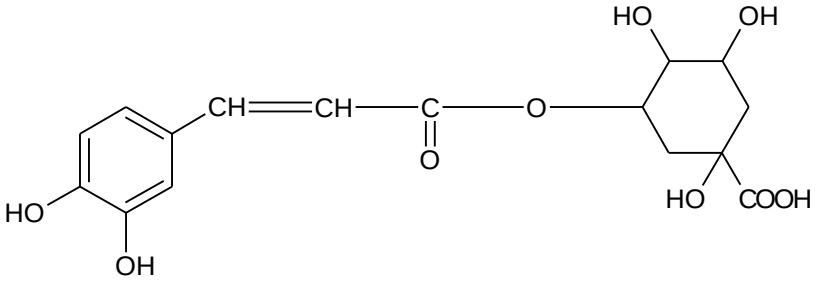
Tab. 8 Deriváty kyseliny skořicové [25]

Deriváty kyseliny skořicové	**R^3**	**R^4**	**R^5**
kyselina skořicová	H	H	H
kyselina *p*-kumarová	H	OH	H
kyselina kávová	H	OH	OH
kyselina ferulová	H	OH	OCH_3
kyselina sinapová	OCH_3	OH	OCH_3

Deriváty kyseliny skořicové jsou značně termolabilní, zvláště v kyselém prostředí. Jejich hlavními degradačními produkty jsou 4-vinyl-, 4-metyl-, 4-etyl-, 4-isopropyl-, 4-propenyl-, 4-formylfenoly, které se uplatňují jako významné složky aromatu bílkovinných hydrolyzátů [21].

Chlorogenová kyselina

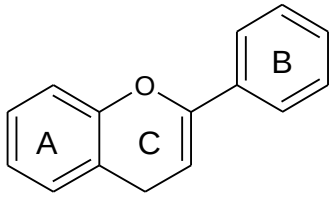
Chlorgenová kyselina (3-caffeoylchinová kyselina) je derivátem kávové a chinové kyseliny. Bohatým zdrojem této kyseliny jsou brambory, jablka, hrušky, meruňky, broskve a káva. Šálek kávy obsahuje 50 – 150 mg kyseliny chlorogenové [21, 26].



Obr. 4 Kyselina chlorogenová

2.4.3 Flavonoidy

Flavonoidní látky nebo-li flavonoidy jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů tvořené flavanovým skeletem. Flavanový skelet se skládá ze dvou substituovaných benzenových kruhů (A a B) a pyranového kruhu C, napojeného na kruh A. Množství všech flavonoidních látek se odhaduje na 5000 a stále se v různých rostlinných zdrojích nacházejí nové sloučeniny [14, 27].



Obr. 5 Flavonový skelet

Účinnost flavonoidů se liší v závislosti na jejich molekulární struktuře. Mezi nejpočetnější druhy patří flavony, které se nacházejí především v ovoci, listech, stoncích a kořenech zeleniny, v luštěninách a černém čaji. Flavonoidy posilují účinky vitamínu C a chrání další prvky, které podléhají snadno oxidaci [19].

Vyskytují se jako vonné látky nebo častěji glykosidy, acylované glykosidy, ale také jako polymery. Schopnost vázat těžké kovy spolu se schopností terminovat radikálové oxidační reakce propůjčuje flavonoidům vlastnosti antioxidantů [14].

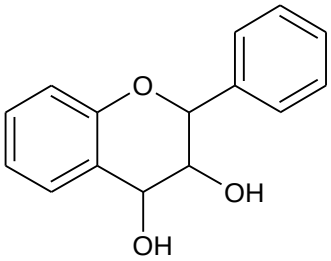
Podle stupně oxidace C_3 řetězce a jeho substituce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů [14]:

- Katechiny (flavan-3-oly)
- Leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly)
- Flavanony
- Flavanonoly
- Flavony
- Flavonoly (dihydroflavony)
- Antokyanidiny
- Chalkony a dihydrochalkony
- Aurony

2.4.3.1 Katechiny (flavan-3-oly) a leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly)

Katechiny jsou prekurzory kondenzovaných tříslovin izolované z přírodních zdrojů jako optické antipody (+)-katechin a (-)-epikatechin. Oba tyto katechiny se vyskytují v rostlinných materiálech většinou společně, v různých koncentracích a různých poměrech. Nevyskytují se glykosidicky vázané, ani esterifikované s výjimkou vinných hroznů a čaje. Katechin je světle růžový a na vzduchu hnědne, proto byl využíván k barvení bavlny a kůží na hnědo [21, 28].

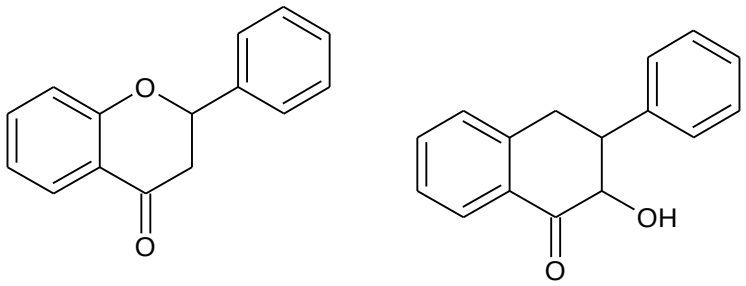
Také leukoantokyanidiny lze považovat za prekurzory tříslovin [21].



Obr. 6 Flavan-3,4-diol

2.4.3.2 Flavanony a flavanonoly

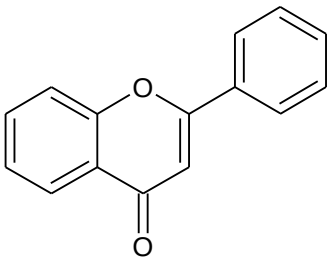
Flavanony a flavanonoly jsou bezbarvé až světle žluté. Ve vyšších koncentracích se nacházejí pouze v citrusovém ovoci. Nejvýznamnějšími aglykony jsou flavanony hesperetin a naringenin [14].



Obr. 7 Flavanon a flavanonol

2.4.3.3 Flavony

Je známá struktura asi 300 přírodních flavonů. Vyskytují se v rostlinách ve formě glykosidů nebo esterů. Jsou rozpustné ve vodě a jsou podstatně méně reaktivní než antokyanidiny. Jejich barva je žlutá, v přírodě jsou ovšem překrývány intenzivnějšími barevnými látkami. Základem flavonových barviv jsou hydroxyderiváty flavonu, obsahujícího ve flavonovém skeletu oxoskupinu [27].



Obr. 8 Flavon

2.4.3.4 Flavonoly (dihydroflavony)

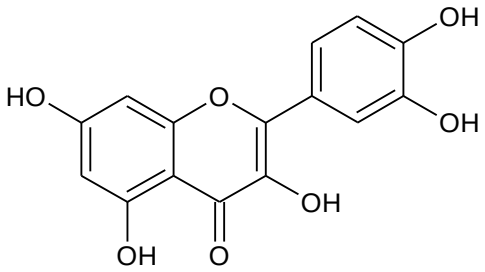
Flavonoly jsou žlutá barviva. Nejznámějším zástupcem je kvercetin. Patří k nejrozšířenějším flavonům a poprvé byl izolován z vnitřní kůry dubu (*Quercus velutina*). Vyskytuje se v cibuli, čaji, v pylu kukuřice a v chmelu. Kvercetin je aglykonem kvercitrinu [28, 29].

Dalšími důležitými flavonoly jsou kemferol, rutin a myricetin. Všechny tyto látky mají pozitivní vliv na permeabilitu kapilár. Rutin se proto používá ve farmaceutických prepará-

tech a potravinových doplňcích. Využívá se k léčení zvýšené lomivosti a propustnosti krevních vlásečnic, poruch funkce žil dolních končetin a hemeroidech. Flavonoly se vyskytují hojně v rostlinné říši, jejich bohatým zdrojem jsou například borůvky, černý bez, červený rybíz a jahody [14, 27, 28].

Významným zástupcem flavonolů je také morin, který se používá v chemické laboratoři. Postřikují se s ním destičky TLC, aby je bylo možné detekovat UV světlem. Morin v ultrafialovém světle fluoreskuje a tam, kde je na desce skvrna adsorbované látky, je tato fluorescence zhášena [28].

V jablkách se vyskytují jako nejvýznamnější glykosidy kvercetinu isokvercitrin (kvercetin-3-glukosid), rutin (kvercetin-3-rutinosid), hyperin (kvercetin-3-galaktosid), kvercitrin (kvercetin-3-rhamnosid) a avikularin (kvercetin-3-arabinofuranosid). V menším množství jsou zde přítomny 3-glukosidy kemferolu a myricetinu [14, 30].



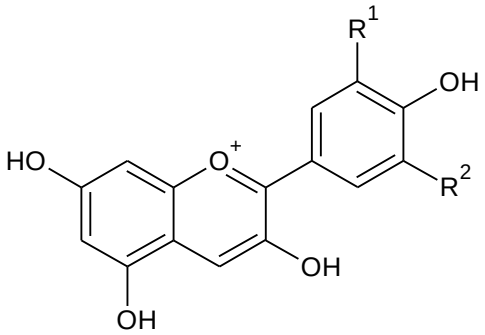
Obr. 9 Kvercetin

2.4.3.5 Antokyanidiny

Dosud bylo identifikováno asi 300 různých antokyanů. Antokyany jsou glykosidy různých aglykonů, které se nazývají antokyanydiny. Volné aglykony antokyanidiny se vyskytují v rostlinných pletivech zřídka. Cukernou složkou antokyanů bývá glukosa, galaktosa, rhamnosa nebo arabinosa [14, 27].

Antokyanidiny jsou modrá, fialová a červená barviva nejen květů, ale i plodů ovoce a zeleniny. Na jejich barevnost má vliv struktura molekuly. Antokyanidiny s větším počtem hydroxylových skupin mají spíše modrý odstín, deriváty s methoxyskupinami mají spíše červený odstín. Pro barvení potravin se využívá hlavně barviv izolovaných z červených hroznů révy vinné. Nevýhodou však je, že intenzivní barvu mají v prostředí o pH < 3,5; proto se hodí zejména pro barvení kyselých potravin. Nejhojnější výskyt antokyanů je v hroznech révy vinné, černém bezu, ostružinách, jablkách a hruškách, višních a v červeném zelí. Nejrozšířenějšími antokyanidiny jsou pelargonidin, kyanidin, delfinin,

petunidin a malvidin. Tato barviva však nejsou stálá, podléhají řadě změn v závislosti na své struktuře, pH prostředí, teplotě, působení světla, SO_2 a také působení některých enzymů [14, 31].



Obr. 10 Antokyanidiny

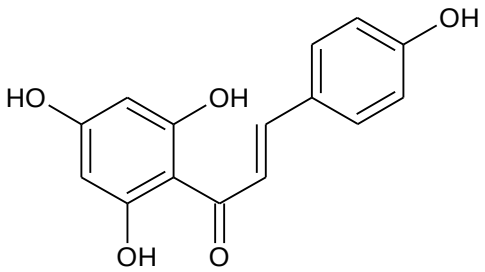
Tab. 9 Antokyanidiny [21]

	R^1	**R^2**
pelargonidin	H	H
kyanidin	OH	H
delfinin	OH	OH
petunidin	O – CH_3	OH
malvidin	O – CH_3	O – CH_3

2.4.3.6 Chalkony a dihydrochalkony

V potravinách je omezený výskyt chalkonů a dihydrochalkonů. Chalkon naringenin se nachází ve slupce rajčat a může být přítomen také ve šťávách a kečupu. Další chalkony (liquiritigenin a isoliquiritigenin) se nacházejí v lékořici [32].

Dihydrochalkony jsou typické látky obsažené v jablkách a produktech z nich vyrobených (jablečný džus, cider, výlisky jablek). Nejznámějším glykosidem floretinu je floretin-6-glukosid, který se nazývá florizin. V jabloních má funkci inhibitoru klíčení semen a má hořkou chuť. Přítomnost těchto charakteristických flavonoidů jablek slouží k detekci jablečných šťáv v jiných ovocných šťávách [17, 32, 33].



Obr. 11 Chalkon

2.4.4 Proantokyanidiny

Proantokyanidiny (prokyanidiny) se řadí mezi kondenzované třísloviny. Jsou to oligomerní nebo polymerní sloučeniny vycházející z flavan-3-olů. Základní strukturní jednotkou těchto látek je (+)-katechin, (+)-gallokatechin, (-)-epikatechin a (-)-epigallokatechin. Prokyanidiny se řadí do dvou základních skupin: prokyanidiny skupiny B (dimery) a C (trimery). Prokyanidiny skupiny B jsou v přírodních zdrojích nejrozsáhlejší skupinou. Prokyanidin B1 se nachází např. grepu a brusinkách, prokyanidin B2 v jablcích a třešních, prokyanidin B3 v jahodách a chmelu. Dalšími významnými zdroji je čokoláda, čaj a červené víno. Kromě antioxidačního účinku, působí preventivně při zánětlivých onemocněních, vzniku zhoubného bujení a poškození kardiovaskulárního systému [34].

2.5 Minerální látky s antioxidačním účinkem

2.5.1 Zinek

V těle dospělého člověka je obsaženo 1,3 – 3,0 mg zinku. Je známo více než 200 enzymů, které obsahují zinek. Např. alkoholdehydrogenasa, laktátdehydrogenasa, superoxiddismutasa. Má význam při udržování pH a tvorbě HCl v žaludku. Zinek je také důležitý pro tvorbu a působení insulinu, se kterým tvoří komplexy. Je inhibitorem enzymů štěpících nukleové kyseliny. Je obsažen v mouce, chlebě a pekařských výrobcích, v luštěninách, mase a rybách [16, 35].

Nedostatek zinku v dětském věku má za následek zpomalený růst a nedostatečný vývoj mužských pohlavních orgánů. Doporučená denní dávka je 10 – 15 mg pro dospělého člověka [16].

Obsah zinku v jablkách je 0,2 – 4,9 mg/kg [16].

2.5.2 Měď

Tělo dospělého člověka obsahuje asi 100 – 180 mg mědi, což odpovídá průměrné koncentraci cca 1,7 mg/kg tělesné hmotnosti. Je esenciálním stopovým prvkem pro člověka a ostatní živočichy. Měďnaté ionty jsou součástí aktivních center řady enzymů (např. cytochrom-c-oxidasa, superoxiddismutasa). Měď je nezbytná také pro efektivní využití železa a pro biosyntézu některých biologicky významných sloučenin, jako je ceruloplazmin [16].

Glykoprotein celuroplazmin má v molekule navázáno 6 atomů mědi. Funkcí celuroplazminu je transport železa. Oxiduje dvojmocné železo na dvojmocné. Oxidace železa je podmínkou pro přesun železa ze zásob (z feritinu a z buněk) na transferin [20]. Nedostatek mědi proto vede podobně jako nedostatek železa k anemii [16].

Měď je v malém množství součástí všech buněk. Spolupůsobí při biosyntéze hemoglobinu a myoglobinu. Významnými zdroji mědi jsou vnitřnosti, maso, žloutek, listová zelenina, luštěniny, lesní jahody, borůvky a hrozny [35].

Obsah mědi v jablkách je 0,24 – 0,63 mg/kg. Doporučená denní dávka mědi pro dospělého jedince 1,5 – 3 mg [16].

2.5.3 Selen

Selen je esenciálním stopovým prvkem. Ukázalo se, že může v organismu do jisté míry nahradit vitamín E, protože je taktéž účinným inhibitorem autooxidace lipidů. Selen je součástí mnoha enzymů (např. glutathionperoxidasa, jodthyronin-5-dejodasa). Glutathionperoxidasa umocňuje účinky vitamínu E, vyskytuje se v erytrocytech a zajišťuje odstraňování hydroperoxidů z poškozených membrán. Jodthyronin-5-dejodasa vstupuje do metabolismu jodu a hormonů štítné žlázy [16, 21].

Tělo dospělého člověka obsahuje asi 15 mg selenu. Doporučená denní dávka je 55 μg pro ženu a 70 μg pro muže. V posledních letech se hovoří o nedostatečném přísunu selenu do organismu. Deficitní obsah selenu v organismu může zvyšovat riziko kardiovaskulárních onemocnění, karcinomů a dalších poruch, které jsou způsobené volnými radikály. Deficit selenu negativně ovlivňuje činnost jater, funkce imunitního systému, růst a plodnost [16, 36].

Zdroje bohaté na selen jsou mořské ryby, měkkýši, korýši, sladkovodní ryby a vnitřnosti. V malém množství se nachází v mléce, mase a vaječném žloutku [16].

3 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Antioxidační aktivita je definována jako schopnost sloučeniny (směsi látek) inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin (např. zabraňovat oxidaci lipidů) [37].

3.1 Měření antioxidační aktivity

Většinu přírodních antioxidantů přijímáme jako součást složitých směsí, jejichž složky mohou reagovat s různými radikály různými mechanismy. Proto se snažíme charakterizovat antioxidační aktivitu směsných vzorků jako celku. Pro vzájemné porovnání antioxidačních účinků různých směsí byl zaveden pojem celková antioxidační aktivita (total antioxidant activity, TAA). Nejčastější metodou pro stanovení celkové antioxidační aktivity je metoda TEAC (Trolox equivalent antioxidant activity), která určuje antioxidační aktivitu vzorku ekvivalentní určitému množství standardu troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina) [38].

Pro měření antioxidační aktivity se využívá spousty metod. Jejich rozmanitost souvisí s tím, že antioxidanty působí různými mechanismy. Nejčastěji jsou metody založeny na přímé reakci s radikály (zhášení, vychytávání) nebo reakci s přechodnými kovy. Nejběžnější metody pro stanovení antioxidační aktivity potravin a nápojů jsou DPPH, FRAP, ABTS nebo ORAC [39].

Pro měření antioxidační aktivity cideru byly použity metody DPPH, FRAP a test na veškeré polyfenoly pomocí činidla Folin-Ciocalteu. Do analýz byla také zařazena separace jednotlivých polyfenolů na principu HPLC [40, 41].

3.1.1 Metoda DPPH

Tato metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpikrylhydrazylem – DPPH [1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl]. Při reakci dojde k redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikralhydrazin). Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky nebo detekcí HPLC. Spektrofotometricky se sleduje pokles absorbance při 517 nm. Použití detekce HPLC, při které je hodnocen pík radikálu DPPH, je výhodné u barevných vzorků [39].

3.1.2 Metoda FRAP

Metoda FRAP je založena na principu redoxní reakce. Při této metodě redukují antioxidanty ze vzorku komplex Fe^{3+}-2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) (Fe^{3+}-TPTZ), který má slabě

nahnědlou barvu a po redukci vzniká modře zbarvený železitý komplex. Měří se nárůst absorbance při 593 nm. Měření probíhá pří nízkém pH (3,6), nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky. Metoda FRAP pouze zachycuje schopnost látek redukovat Fe^{3+}, což se nemusí shodovat se skutečnou antioxidační aktivitou vzorku [15, 39].

3.1.3 Metoda ABTS

Principem ABTS testu je sledování inaktivace radikálového kationu $ABTS^{\bullet+}$ vznikajícího oxidací 2,2'-azinobis(3-etylbenzothiazolin-6-sulfonátu), kde aktivačním činidlem je AAHP, tj. 2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid, H_2O_2 v přítomnosti peroxidasy, hexakyanoželeznatan tetradraselný $K_4[Fe(CN)_6]$ nebo peroxodisíran draselný $K_2S_2O_8$. $ABTS^{\bullet+}$ má silnou absorbanci ve viditelné oblasti 600 – 750 nm (roztok je zelený) a antioxidační aktivita může být snadno stanovena spektrofotometricky. Tato metoda je označována také jako TEAC vzhledem k tomu, že výsledná antioxidační aktivita vzorku je srovnávána s antioxidační aktivitou syntetické látky troloxu. Antioxidační aktivita je definována jako koncentrace troloxu se stejnou antioxidační aktivitou, jako má 1 mM koncentrace stanovovaného vzorku [37, 39, 42].

3.1.4 Metoda ORAC

Metoda ORAC spočívá ve vytvoření peroxidového radikálu fykoeritrinu oxidací činidlem ABAB (2,2'-azobis-2-metyl-propionamidin). Radikál se stanovuje kvantitativně fluorimetricky a hodnotí se rychlost úbytku signálu po přidání testovaného vzorku [43].

3.1.5 Test na celkové polyfenoly

Veškeré fenolické sloučeniny se oxidují činidlem Folin – Ciocalteu, které se skládá ze směsi kyseliny fosfowolframové ($H_3PW_{12}O_{40}$) a fosfomolybdenové ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Tato směs se během oxidace fenolů redukuje na směs modrých oxidů wolframu (W_8O_{23}) a molybdenu (Mo_8O_3). Modré zbarvení oxidů má maximální sorpci při 750 nm a jejich množství je úměrné množství původně přítomných fenolů [44].

3.2 Antioxidační složení cideru

Jablka jsou dobrý zdroj fenolových sloučenin a obsahují jejich 5 různých podskupin [40]:

- Hydroxyskořicové kyseliny
- Flavan-3-oly
- Flavonoly
- Anthokyany
- Dihydrochalkony

Antokyany jsou nositeli červené barvy slupky jablek. Hlavním antokyanem je kyanidin-3-galaktosid, z dalších jsou přítomny kyanidin-3-arabinosid, kyanidin-3-glukosid, ve stopách se nachází kyanidin-3-xylosid. Z flavan-3-olů jsou přítomny (+)-epikatechin, (-)-epikatechin, (+)-gallokatechin, (-)-epigallokatechin. Z dihydrochalkonů resp. jejich glykosidů se v jablkách nachází především floretin-6-glukosid (florizin). Z fenolových kyselin jsou v jablkách obsaženy kyseliny *p*-kumarová, kávová, ferulová, sinapová a kyselina chlorogenová [14].

Přechod těchto látek do cideru je závislý na způsobu zpracování moštových jablek. S výjimkou nepřítomnosti antokyanů, bylo prokázáno, že mají mošty podobný profil obsahu fenolů, jako jablka. Rozdílem je přítomnost volné kyseliny kávové, *p*-kumarové, kvercetinu a floretinu. To naznačuje, že jsou některé deriváty při výrobě jablečného moštu rozštěpeny za tvorby aglykonu. Flavonoly se z větší části nachází ve slupce a proto je jejich výskyt v moštu zanedbatelný. To naznačuje, že aktuálně používané metody výroby cideru neposkytují dostatečně účinnou extrakci fenolů ze slupky jablek. Odpad z výroby jablečného moštu obsahuje vysoké množství fenolů a má vysokou antioxidační aktivitu [40, 45].

3.2.1 Celkový obsah polyfenolů

V čerstvém ovoci a jablečném moštu byl zjištěn celkový obsah polyfenolů v rozsahu od 154 mg/l do 970 mg/l. Rozložení fenolů v jablečném moštu je ovlivněno různými faktory, včetně odrůdy jablek, metod extrakce, zpracování a enzymatického ošetření. [46]

Celkový obsah polyfenolů v anglickém cideru se pohyboval v rozmezí od 44 mg/l do 1559 mg/l. Tento velmi široký rozptyl mohl být způsoben rozdílnou odrůdou jablek a technologií výroby. Obsah polyfenolů obsažených v asturijském cideru se pohyboval v rozmezí od 446 do 1180 mg ekvivalentů kyseliny gallové/l [40, 41].

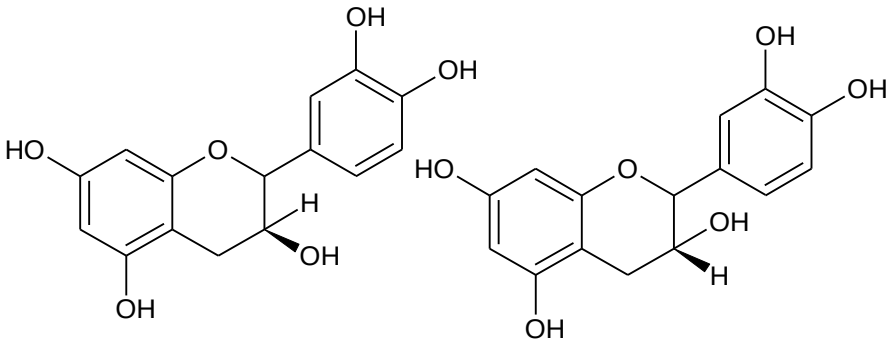
Vliv výběru odrůdy jablek na antioxidační aktivitu se posuzoval u dvou vzorků ciderů od jednoho výrobce. Oba tyto cidery jsou jednoodrůdové a vyrobené stejným postupem výroby. První cider je vyroben z moštových jablek odrůdy Cox a obsah polyfenolů činil 44 mg/l. Jeho antioxidační aktivita je tedy mnohem nižší než cideru vyrobeného z odrůdy jablek Somerset redstreak a jehož celkový obsah polyfenolů byl 1559 mg/l. Tato studie signalizuje, že může výběr vhodné odrůdy jablek sehrát hlavní roli v množství fenolů obsažených v cideru [40].

3.2.2 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny představují hlavní skupinu fenolů nacházejících se v cideru. Celkový obsah fenolických kyselin v asturijském cideru se pohyboval v rozmezí od 28,0 mg/l do 184,0 mg/l. Největší zastoupení v tomto cideru měla kyselina hydrokávová, hydrokumarová a iso-chlorogenová. Obsah kyseliny chlorogenové činil 1,1 mg/l a byl 13x nižší než obsah kyseliny chlorogenové v anglických ciderech a 24x nižší, než její obsah nalezený ve francouzském cideru [40, 41].

3.2.3 Flavan-3-oly

Ve všech ciderech byla prokázána přítomnost (+)-katechinu a (-)-epikatechinu. Ve všech ciderech převládal epikatechin. V anglickém cideru se pohybovala jeho koncentrace v rozmezí od 1 mg/l do 106 mg/l; v asturijském od 5,4 mg/l do 22,3 mg/l [40, 41].



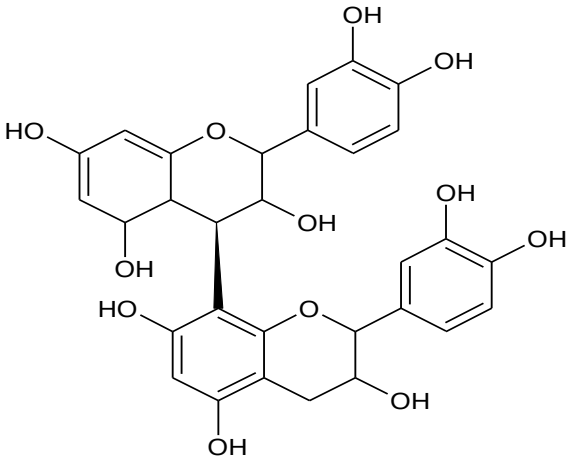
Obr. 12 Katechin a epikatechin

3.2.4 Prokyanidiny

Obsah prokyanidinů v anglickém cideru byl v rozsahu od 8 mg/l do 722 mg/l. Stupeň polymerace byl v rozsahu od 2,5 do 3,5. Stupeň polymerace má vliv na chuťové vlastnosti cideru. U prokyanidinů se stupněm polymerace 2 – 5 převažuje nahořklá chuť, zatímco u

prokyanidinů se stupněm polymerace 6 – 10 svíravá chuť. Obě chutě jsou příznačné pro tradiční anglický cider vyrobený ze sladkohořkých jablek [40].

V jablečném moštu obecně se stupeň polymerace těchto látek pohybuje od 4 do 11 jednotek. V asturijském jablečném cideru byl obsažen prokyanidin B2 a trimer C1 [33, 41].



Obr. 13 Prokyanidin B2

3.2.5 Dihydrochalkony

Hlavní dihydrochalkon jablek floretin se v cideru vyskytuje pouze jako glykosid. Ve všech ciderech byl stanoven florentin-6-glukosid (florizin) ve vyšší koncentraci než florentin-6-xyloglusid. Obsah florizinu v anglickém cideru se pohyboval v rozmezí od 2 mg/l do 21 mg/l; v asturijském cideru od 12,9 mg/l do 53,6 mg/l [40, 41].

3.2.6 Flavonoly

Všechny cidery mají nízký obsah flavonolů. Jelikož se flavonoly nacházejí převážně ve slupce jablek, ukazuje to na neschopnost používaných výrobních technologií efektivně extrahovat fenoly i z jablečné slupky. V anglickém cideru byly analyzovány 4 flavonoly: kvercetin, kvercitrin (kvercetin-3-rhamnosid), isokvercitrin (kvercetin-3-glukosid) a hyperin (kvercetin-3-galaktosid). Jejich průměrný obsah ve vzorcích ciderů činil 7,8 mg/l; v asturských vzorcích byl průměrný obsah 5,0 mg/l [40, 41].

Tab. 10 Fenolické složení asturijského cideru (mg/l; průměrné hodnoty) [41]

Celkový obsah fenolů (mg ekvivalent kyseliny gallové/l)	**733,0**
kyselina protokatechová	0,8
kyselina hydrokávová	90,0
kyselina iso-chlorogenová	8,0
kyselina chlorogenová	1,1
kyselina kávová	0,1
kyselina hydrokumarová	10,2
deriváty kyseliny kumarové	13,3
kyselina ferulová	0,6
deriváty kyseliny ferulové	0,2
deriváty kyseliny kávové	0,4
celkem fenolických kyselin	**124,0**
(+)-katechin	0,3
(-)-epikatechin	4,0
prokyanidin B2	14,4
trimer C1	23,0
celkem flavan-3-olů	**45,0**
floretin-2-xyloglukosid	5,3
florizin	18,8
celkem dihydrochalkonů	**24,0**
hyperin	1,6
avikularin	0,5
kvercitrin	2,3
neznámý	0,5
celkem flavonolů	**5,0**

3.3 Antioxidační složení vedlejších produktů z moštového průmyslu

V Asturii je vyprodukováno více než 20 000 tun jablečných výlisků za rok. Primárně slouží jako krmivo pro dobytek, i když zároveň zůstávají odpadem a tvoří ekonomický i ekologický problém. Nicméně pro vysoký obsah polyfenolů a vlákniny jsou uznávány jako hodnotný materiál pro nutriční, farmakologické nebo kosmetické účely [47].

Jablečné výlisky obsahují dihydrochalkony (201,0 mg/kg), fenolické kyseliny (192,2 mg/kg), flavan-3-oly (178,7 mg/kg) i flavonoly (127,6 mg/kg). Nejvyšší byl obsah prokyanidinů, jako je trimer C1 a tetramer. Oba tyto prokyanidiny dohromady se vyskytli v koncentraci 442,1 mg/kg [47].

ZÁVĚR

Antioxidanty jsou látky, které prodlužují přirozenou údržnost potravin tak, že je chrání před poškozením způsobeným oxidací. Nejvýznamnějšími antioxidanty v lidské stravě jsou kyselina L-askorbová, vitamin E, karotenoidy a fenolické látky.

Fenolické látky jsou důležitou složkou cideru. Díky antioxidačním, protizánětlivým a anti-karcinogenním účinkům mají polyfenoly pozitivní vliv na zdraví člověka. Významným způsobem ovlivňují také chuť cideru. Fenolické látky dodávají nápojům, jako je cider, pivo nebo čaj, typickou hořkou a trpkou chuť.

Testy DPPH a FRAP bylo zjištěno, že cider obsahuje až 1559 mg fenolických látek/l. Nejvíce zastoupeny byly fenolické kyseliny, dále flavan-3-oly, prokyanidiny a dihydro-chalkony. Flavonoly se vyskytovaly ve všech testovaných vzorcích nejméně. Vysoký obsah flavonolů byl stanoven v jablečných výliscích, což ukazuje na neschopnost úspěšně extrahovat flavonoly z jablek do cideru. Obsah fenolických látek v nápoji je ovlivněn zejména použitou odrůdou jablek, která jsou ve Francii a Anglii speciálně vyšlechtěna pro výrobu cideru. Další faktor ovlivňující obsah fenolických látek je způsob výroby. V malovýrobě se vyrábí cider, který neprochází pasterací a tudíž v něm zůstává více nutričně cenných látek, jako jsou karotenoidy, fenolické látky atd.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] UHROVÁ, H. *Jak se dělá cidre, calvados, pommeau*. Praha: Víkend, 2005, 87 s. ISBN 80-722-2367-4.

[2] PICINELLI, A., SUÁREZ, B., MORENO, J., RODRÍGUEZ, R., CASO-GARCÍA, L., M., MANGAS, J., J. Chemical Characterization of Asturian Cider. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, roč. 48, č. 9, s. 3997 - 4002.

[3] Česká republika. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích. In: *Sbírka zákonů*. 1997.

[4] HANOUSEK, M. *Domácí výroba moštů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2006, 75 s. ISBN 80-247-1445-0.

[5] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4.

[6] JOHANSEN, K. *Cider production in England and France – and Denmark* [online]. [cit. 2013-03-19]. Dostupné z WWW:
<http://www.pomona.dk/Artikel.pdf>

[7] UHROVÁ, H. *Děláme si sami víno: rybízové, jahodové, šípkové, trnkové, révové a jiná ovocná vína, šťávy a mošty.* 1. Vyd. Líbeznice: Víkend, 2002, 93 s. ISBN 80-722-2234-1.

[8] LE QUÉRÉ, J., M., HUSSON, F., RENARD, C., M.G.C., PRIMAULT, J. French cider characterization by sensory, technological and chemical evaluations. *LWT - Food Science and Technology*. 2006, roč. 39, č. 9, s. 1033-1044.

[9] CHOI, L., H., NIELSEN, S., S. The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer akceptability. *Journal of Food Quality*. 2005, roč. 28, č. 1, s. 13-29.

[10] DEL CAMPO, G., BERREGI, I., ITURRIZA, N., SANTOS, J., I. Ripening and Changes in Chemical Composition of Seven Cider Apple Varieties. *Food Science and Technology International*. roč. 12, č. 6, s. 477 - 487.

[11] ABRODO, P., A., CABRALES, I., M., ALONSO, J., J., M., BLANCO-GOMIS, D. Fatty acid composition of cider obtained either by traditional or controlled fermentation. *Food Chemistry*. 2005, roč. 92, č. 1, s. 183 - 187.

[12] HERRERO, M., GARCÍA, L., A., DÍAZ, M., CARAPIC, D., SHIN, D., S., H., BUCK, L., T. The Effect of SO_2 on the Production of Ethanol, Acetaldehyde, Organic Acids, and Flavor Volatiles during Industrial Cider Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. roč. 51, č. 11, s. 3455 - 3459.

[13] GOMIS, D., B., TAMAYO, D., M., ALONSO, J., M. Determination of monosaccharides in cider by reversed-phase liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. roč. 436, č. 1, s. 173 - 180.

[14] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

[15] SOCHOR, J., RYVOLOVA, M., KRYSTOFOVA, O., SALAS, P., HUBALEK, J., ADAM, V., TRNKOVA, L., HAVEL, L., BEKLOVA, M., ZEHNALEK, J., PROVAZNIK, I., KIZEK, R. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules*. 2010, roč. 15, č. 12, s. 8618-8640.

[16] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

[17] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3.* 1. Vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 342 s. ISBN 80-902-3912-9.

[18] ŘEHOŘ, J. *Organická chemie*. 2. Vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1973. ISBN 07-021-73-03-6.

[19] JORDÁN, V., HEMZALOVÁ, M. *Antioxidanty*: *zázračné zbraně: vitaminy, minerály, stopové prvky, aminokyseliny a jejich využití pro zdravý život*. Vyd. 1. Brno: Jota, 2001, 153 s. ISBN 80-721-7156-9.

[20] ŠTÍPEK, S. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada, 2000, 314 s. ISBN 80-716-9704-4.

[21] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. 1. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1983.

[22] SLANINA, J., TÁBORSKÁ, E. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy.* 2004, č. 98, s. 239 – 245.

[23] KAHLE, K., KRAUS, M., RICHLING, E. Polyphenol profiles of apple juices. *Molecular Nutrition*. 2005, roč. 49, č. 8, s. 797 - 806.

[24] MATTILA, P., HELLSTROM, J., TORRONEN, R. Phenolic Acids in Berries, Fruits, and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, roč. 54, č. 19, s. 7193 - 7199.

[25] ČEPIČKA, J., KARABÍN, M. Polyfenolové látky piva – přirozené antioxidanty. *Chemické listy*. 2002, č. 96, s. 90 – 95.

[26] TRNA, J., TÁBORSKÁ, E. *Přírodní polyfenolové antioxidanty* [online]. [cit. 2013-04-02]. Dostupné z WWW:

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:T8E9F2lDfw4J:www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz>

[27] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie III: Od objevu genu ke genovému inženýrství. Rostliny - důležitý zdroj přírodních látek. Mikroorganismy - producenti důležitých látek. Biochemie cizorodých látek.* 1. vyd. Praha: Academia, 1993, 191 s. ISBN 80-200-0471-8.

[28] ČOPÍKOVÁ, J., UHER, M., LAPČÍK, O., MORAVCOVÁ, J., DRAŠAR, P. Přírodní barevné látky. *Chemické listy*. 2005, č. 99, s. 802 – 816.

[29] ČERVINKA, O. *Chemie organických sloučenin 2*. 1. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1987. ISBN 04-630-87.

[30] PRICE, K., R, PROSSER, T., RICHETIN, A., M., F., RHODES, M., J., C. A comparison of the flavonol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; distribution within the fruit and effect of juicing. *Food Chemistry*. 1999, roč. 66, č. 4, s. 489 - 494.

[31] KALAČ, P. *Organická chemie přírodních látek a kontaminantů*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2001, 120 s. ISBN 80-704-0520-1.

[32] TOMÁS – BARBERÁN, F., A., CLIFFORD, M., N. Flavanones, chalcones and dihydrochalcones – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the science of food and agriculture*. 2000, roč. 80, č. 7, s. 1073 – 1080.

[33] ONDREJOVIČ, M., MALIAR, T., POLÍVKA, L., ŠILHÁR, S. Polyfenoly jabĺk. *Chemické listy*. 2009, č. 103, s. 394 – 400.

[34] KOLEČKÁŘ, V., ŘEHÁKOVÁ, Z., BROJEROVÁ, E., KUČA, K., JUN, D., MACÁKOVÁ, K., OPLETAL, L., DRAŠAR, P., JAHODÁŘ, L., CHLEBEK, J., CAHLÍKOVÁ, L. Proanthocyanidiny a jejich antioxidační aktivita. *Chemické listy*. 2012, č. 106, s. 113 – 121.

[35] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*. Vyd. 1. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006, 164 s. ISBN 80-701-3435-6.

[36] HLUŠEK, J., JŮZL, M., ČEPL, J., LOŠÁK, T. Vliv přidávání sloučenin selenu do půdy na obsah sloučenin selenu v hlízách brambor. *Chemické listy.* 2005, č. 99, s. 515 – 517.

[37] ŠULC, M., LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M., DVOŘÁK, P., HORÁČKOVÁ, V. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovní antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. *Chemické listy.* 2007, č. 101, s. 584 – 591.

[38] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. *Chemické listy.* 2009, č. 103, s. 232 – 235

[39] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické listy.* 2004, č. 98, s. 174 – 179.

[40] MARKS, S., C., MULLEN, W., CROZIER, A. Flavonoid and Hydroxycinnamate Profiles of English Apple Ciders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, roč. 55, č. 21, s. 8723 - 8730.

[41] PICINELLI, A., L., GARCÍA, Y., D., SÁNCHEZ, J., M., MADRERA, R., R., VALLES, B., S. Phenolic and antioxidant composition of cider. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, roč. 22, č. 7-8, s. 644 - 648.

[42] KARABÍN, M., DOSTÁLEK, P., HOFTA, P. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarnictví. *Chemické listy.* 2006, č. 100, s. 184 – 189.

[43] ZLOCH, Z., ČELAKOVSKÝ, J., AUJEZDSKÁ, A. *Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační aktivity.* Plzeň, 2004. [online]. [cit. 2013-05-01]. Dostupné z WWW:

<http://www.institut-danone.cz/data/studie/pridelene-granty/2004-03.pdf>

[44] Česká republika. Seznam a popis metod rozboru podle čl. 120g prvního pododstavce nařízení Rady (ES) č. 1234/2007. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2010.

[45] DEVIC, E., GUYOT, S., DAUDIN, J – D., BONAZZI, C. Kinetics of Polyphenol Losses During Soaking and Drying of Cider Apples. *Food and Bioprocess Technology*. 2010, roč. 3, č. 6, s. 867 - 877.

[46] TORRES, B., TIWARI, B., K., PATRAS, A., WIJNGAARD, H., H., BRUNTON, N., CULLEN, P., J., ODONNELL, C., P. Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. *Food Chemistry*. roč. 124, č. 3, s. 721 - 726.

[47] GARCÍA, Y., D., VALLES, B., S., PICINELLI, A., L.. Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry*. 2009-12-15, roč. 117, č. 4, s. 731 - 738.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BHA Butylhydroxyanisol.

BHT Butylhydroxytoluen.

H_2A Kyselina L-askorbová.

R-O-O● Peroxylový radikál.

HA● Askorbyl radikál.

T-OH Tokoferol.

T-O● Radikál tokoferolu.

ArOH Fenolová sloučenina.

RO● Alkoxylový radikál.

ArO● Fenoxylový radikál.

TLC Thin layer chromatography.

TAA Total antioxidant activity.

TEAC Trolox equivalent antioxidant activity.

Trolox 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylová kyselina.

HPLC Hight-performance liquid chromatography.

DPPH 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl.

FRAP Ferric reducting antioxidant potencial.

ABTS 2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid.

ORAC Oxygen radical absorbance capacity.

ABAB 2,2'-azobis-2-metyl-propionamidin.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Tokol [21] 23
Obr. 2 β-karoten [21] 25
Obr. 3 Kyselina p-hydroxybenzeová a kyselina skořicová [25] 27
Obr. 4 Kyselina chlorogenová [21] 28
Obr. 5 Flavonový skelet [27] 28
Obr. 6 Flavan-3,4-diol [21] 29
Obr. 7 Flavanon a flavanonol [21] 30
Obr. 8 Flavon [21] 30
Obr. 9 Kvercetin [27] 31
Obr. 10 Antokyanidiny [21] 32
Obr. 11 Chalkon [14] 33
Obr. 12 Katechin a epikatechin [33] 38
Obr. 13 Prokyanidin B2 [33] 39

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Typy ciderů podle obsahu alkoholu [1] 12
Tab. 2 Vztah mezi kvalitou jablek a hustotou [1] 14
Tab. 3 Hodnoty pH, obsahu alkoholu a kyselin v asturijském přírodním cideru [2] 18
Tab. 4 Obsah organických kyselin (g/l) v asturijském přírodním cideru [2] 19
Tab. 5 Obsah reziduí cukru a polyalkoholů (g/l) v asturijském přírodním cideru [2] 19
Tab. 6 Tokoferoly [21] 23
Tab. 7 Deriváty kyseliny p-hydroxybenzeové [25] 27
Tab. 8 Deriváty kyseliny skořicové [25] 27
Tab. 9 Antokyanidiny [21] 32
Tab. 10 Fenolické složení asturijského cideru (mg/l; průměrné hodnoty) [41] 40