

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Max Semerád

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Rubus idaeus – charakterizace a možnosti stanovení významných látek

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Max Milan Semerád**
Osobní číslo: **C21097**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: ***Rubus idaeus* – charakterizace a možnosti stanovení významných látek**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši zabývající se rostlinou *Rubus idaeus*.
2. Zaměřte se na charakterizaci rostliny a její význam.
3. Dále se věnujte metodám stanovení významných látek včetně přípravy vzorku k analýze.
4. V samostatné kapitole přehledně zpracujte informace získané z odborných publikací věnovaných analýze sloučenin v *Rubus idaeus*, kromě textové formy použijte také formu tabelární.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24. 6. 2024

Max Semerád

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D. za odborné vedení, konzultace a cenné rady, které mi pomohly k vypracování této práce.

Anotace

Práce se zabývá charakterizací rostliny a jejího významu. Dále zpracovává informace získané z odborných publikací, které se věnují analýze sloučenin v malině (*Rubus idaeus*) se zaměřením na metody stanovení významných látek a na jejich pozitivní dopad na lidské zdraví.

Klíčová slova

Rubus idaeus, obsah látek, léčitelství, metody stanovení, výživa

Title

Rubus idaeus – Characterization and methods for determining significant compounds

Annotation

The work deals with the characterization of the plant and its significance. It further processes information obtained from professional publications that focus on the analysis of compounds in raspberries (*Rubus idaeus*), with an emphasis on methods for determining important substances and their positive impact on human health.

Keywords

Rubus idaeus, substance content, healing, determination methods, nutrition

Obsah

Úvod.....	11
1 Obecné teoretické poznatky	12
1.1 Historie	12
1.1.1 Využití rostliny v minulosti	12
1.2 Odrůdy maliníku.....	13
1.3 Botanický popis rostliny	14
1.3.1 Habitus, typ růstu a další vlastnosti.....	14
1.3.2 List.....	15
1.3.3 Květ	15
1.3.4 Plod a semeno.....	16
1.3.5 Kořen.....	16
1.4 Podmínky pěstování a jejich vliv.....	17
1.4.1 Teplota.....	17
1.4.2 Salinita půdy.....	18
1.5 Význam maliníku a jeho produktů	18
1.6 Škůdci a nemoci.....	19
2 Léčivé i další účinky	24
2.1 Antimikrobiální aktivita.....	24
2.1.1 Obecné metody stanovení antimikrobiální aktivity.....	25
2.1.2 Testy antimikrobiálních účinků na mikroorganismech	25
2.2 Antioxidační účinky.....	28
2.3 Protizánětlivé účinky	29
2.4 Chemoprevence	32
3 Chemický profil látek.....	37
3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti.....	37
3.2 Nutričně významné složky	37
3.2.1 Proteiny	39
3.2.2 Tuky.....	39
3.2.3 Sacharidy.....	40
3.2.4 Minerální látky	41

3.2.5	Kyselina askorbová	41
3.2.6	Polyfenolické látky.....	42
3.3	Metody stanovení obsahových látek.....	43
3.3.1	Kapalinová chromatografie (HPLC)	44
3.3.2	Plynová chromatografie	48
3.3.3	Atomová absorpční spektrometrie (s atomizací v plameni)	51
3.3.4	Vyhodnocení chromatografických dat.....	50
3.3.5	Metody úpravy vzorku před analýzou.....	52
4	Závěr	55
5	Seznam použitých zdrojů.....	56

Seznam ilustrací a tabulek

Tabulka 1: Plísňová, virová a bakteriální onemocnění malin	20
Tabulka 2: Antimikrobiální aktivita MBC (minimální baktericidní koncentrace) a MIC (minimální inhibiční koncentrace) malinových extraktů (sanguin H6 a kyselina ellagová [mg/ml]).....	26
Tabulka 3: Inhibiční zóny [mm] pro <i>Rubus fruticosus</i> porovnány proti účinným látkám	27
Tabulka 4: Inhibiční zóny, MIC (minimální inhibiční koncentrace) a MBC (minimální baktericidní koncentrace) extraktů <i>Rubus ulmifolius</i>	27
Tabulka 5: Antioxidační kapacita a celkový obsah fenolů v ovoci vyjádřených jako mg GAE (ekvivalenty kyseliny gallové) na 100 g vzorku	28
Tabulka 6: Chemoprevenční účinky.....	33
Tabulka 7: Fyzikálně-chemické vlastnosti TA (celková kyselost) a TSS (celkové rozpustné pevné látky) malin a ostružin	37
Tabulka 8: Nutriční kompozice malin a ostružin	38
Tabulka 9: Obsah mastných kyselin v malinovém oleji.....	40
Tabulka 10: Celkový obsah fenolických látek (TPC) vyjádřených jako [mg ekvivalentů kys. gallové/100 g ovoce] a monomerních anthokyaninů (TMA) vyjádřených jako [mg ekvivalentů 3 - glukosid kyanidinu/100 g ovoce] v malinách a ostružinách	43
Obrázek 1: Ostružiník maliník (<i>Rubus idaeus</i>)	16
Obrázek 2: <i>Byturus tomentosus</i> – Malinovník plstnatý	21
Obrázek 3: <i>Tetranychus urticae</i> – Sviluška obecná	21
Obrázek 4: <i>Amphorophora idaei</i>	21
Obrázek 5: Vliv extraktů UE (nezralý ethanolový), UH (nezralý vodní), RE (zralý ethanolový) a RH (zralý vodní) z <i>Rubus coreanus</i> na životaschopnost buněk RAW 264.7	29
Obrázek 6: Vliv ethanolových extraktů URCE (nezralé), HRCE (napůl zralé) a RCE (zralé) z <i>Rubus coreanus</i> na životaschopnost buněk RAW 264.7	30
Obrázek 7: Vliv ostružinových extraktů kultivarů <i>R. fruticosus</i> J (jumbo), B (Black Satin) a D (Dirksen) na buňky RAW 264.7	31
Obrázek 8: Vliv extraktu z <i>R. idaeus</i> (RRE) na myši s artritidou.....	32
Obrázek 9: Genotoxicita malinového přípravku (REP) proti buňkám Caco-2	34
Obrázek 10: Genotoxicita sanguinu H-6 (SH-6) proti buňkám Caco-2	34
Obrázek 11: Genotoxicita lambertianinu C (LC) proti buňkám Caco-2	35
Obrázek 12: Antiproliferativní účinky extraktů ReM (s methanolem), ReAM (s kyselým metanolem), ReA (s acetonem) a ReAA (s kyselým acetonem) proti buňkám rakoviny děložního čípku C33A a PBMCs zdravého jedince	35
Obrázek 13: Základní schéma kapalinového chromatografu	45
Obrázek 14: Kolony pro kapalinovou chromatografii.....	46
Obrázek 15: Povrchově porézní částice stacionární fáze.....	46
Obrázek 16: Šesticestný dávkovací ventil – poloha LOAD (vlevo) a poloha INJECT (vpravo).....	47
Obrázek 17: Schéma plynového chromatografu	49
Obrázek 18: Plamenový ionizační detektor	50
Obrázek 19: Blokové schéma metody AAS.....	51
Obrázek 20: Multikatodová lampa fa Photron	52

Seznam zkratk a značek

Terminologie

habitus – typický charakter a vzhled rostlinného druhu (jeho vnější podoba)

mykoheterotrofie – rostlinný parazitismus na houbách

nanofanerofyt – dřevina (keř) s obnovovacími pupeny

diklinie – prostorové oddělení samčích a samičích generativních orgánů

entomofilie – přenos pylu na bliznu pomocí hmyzu

autogamie – samoopylení

autochorie – šíření rostliny vlastními mechanismy

endozoochorie – šíření rostliny prostřednictvím trávicího traktu zvířat

myrmekochorie – šíření rostliny mravenci

klonalita – potenciál pro tvorbu nezávislých klonálních potomků

Enuréza – nekontrolovaný únik moči

Emetikum – léčivo, které vyvolává zvracení

Úvod

„Výživa je vlivným faktorem při řešení současných metabolických onemocnění. Maliny jsou mimořádné bobule s vysokým nutričním a bioaktivním složením. Obsahují řadu hlavních esenciálních minerálů, stopových prvků, vlákninu a další důležité složky“ (Kotuła 2022).

Cílem práce je shrnutí obecných informací týkajících se červené maliny a obecně rodu *Rubus*, pojednání o obsahu významných látek v rostlině a přiblížení obecných analytických metod stanovení těchto látek. Práce se také zaměřuje na léčivé účinky a bioaktivitu rostliny.

1 Obecné teoretické poznatky

1.1 Historie

Maliny a ostružiny sloužily jako potravní a léčivý zdroj pro původní obyvatelé brzy po době ledové. Ostružiny byly zdokumentovány v dílech starých Řeků: Aischylos, Hippokratés, Krataios, Dioskoridés a Galénos; Římanů: Catón, Ovidius a Plinius starší, v asijských léčebných tradicích, tradiční čínské medicíně a také v ájurvédské tradici Indie. Lidové tradice domorodých národů po celém světě také využívaly *Rubus* k mnoha léčebným účelům. Ačkoliv je v moderní době *Rubus* pěstován pro své chutné a vitaminově bohaté ovoce k čerstvé konzumaci nebo zpracování, naši předci používali celou rostlinu a její části.

Nejstarší zveřejněné popisy ostružin lze nalézt v rukopisu Juliana Anicia Codex nebo Vindobonensis Codex. Juliana Anicia Codex je nádherně ilustrovaný rukopis s textovými informacemi a jedná se o jeden z nejstarších dochovaných. Byl původně předán císařské princezně Julianě Anicii v Konstantinopoli kolem roku 512 n. l. V 15. století byl zakoupen císařem Maxmiliánem pro Císařskou knihovnu a byl převezen do Vídně, kde se nyní nachází.

Pěstování malin pro ovoce se stalo běžným v evropských zemích až ve 16. století. Moderní použití zahrnuje konzumaci jako lahodného čerstvého ovoce a zpracování do džemů, želé, pečiva, mléčných výrobků a šťáv (Hummer 2010).

1.1.1 Využití rostliny v minulosti

Mnoho kultur, aniž by znalo konkrétní chemické látky, pozorovalo léčivé vlastnosti *Rubusu* a aplikovalo je různými způsoby.

Použití bylin na západní polokouli sahá až do starověku, až do paleolitu nebo starší doby kamenné, asi 40000 př. n. l. Druhy *Rubusu* byly potravou a léčivou rostlinou pro domorodé národy brzy po dobu ledové. Na Novém světě archeologové našli důkazy o *Rubusu* jako zdroji potravy v Newberry Crater poblíž Bendu v Oregonu. Radiokarbonové datování umísťuje artefakty a zbytky potravin asi do roku 8000 př. n. l.

V Antice byly trnité rostliny zdokumentovány ve spisech Aischyla a Hippokrata, mezi lety 500 a 370 př. n. l. Hippokratés doporučoval výtažek z větví a listů ostružin namočených ve bílém víně jako stahující obklad na rány a při porodních potížích. Maliny byly sklizeny starověkými Řeky již kolem roku 370 př. n. l. Pompeius proslavil maliny z jihovýchodu Tróje, dnešního Turecka, v Římě kolem roku 65 př. n. l. Starověcí Egypťané znali ostružinu, ale nezaznamenali pro ni žádné využití. Egyptská slova pro ostružinu byla „aimoios“ nebo „ametros“ přibližně ve 2. století n. l.

První použití *Rubusu* uvádí, že odvar z větví způsobuje kontrakce, svazuje a barví vlasy. Starověké zmínky o rodu *Rubus* v západních a východních tradicích se nevztahují k bobulím jako potravině; spíše byly stonky, listy a další části rostlin ceněny pro své léčivé vlastnosti. Kmeny, větve, kořeny, listy a květy byly používány k odvarům, nálevům, náplastem, extrakcím do oleje nebo vína a kondenzátům. Odvary z větví byly aplikovány k zastavení průjmů, barvení vlasů, prevenci vaginálního výtoku a jako protijed proti hadím uštknutím. Listy byly žvýkány pro posílení dásní a použity jako náplasti ke zpevnění puchýřů, lupů, prolapsů očí a hemeroidů. Květy třené s olejem snižovaly záněty očí a chladily kožní vyrážky, nálevy s vodou nebo vínem pomáhaly trávicím potížím. Řekové a Římané zaznamenali použití u žen, zatímco Číňané popisovali použití u mužských poruch. Plody *R. chingii* jsou kombinovány v toniku nazvaném fu pen zi, "převrácená mísa s ovocem", a předepisují se při neplodnosti, impotenci, bolestech dolní části zad, špatném zraku a enuréze nebo častém močení. Leechbook Bald popisuje použití ostružin proti úplavici, kombinující starověké lékařské znalosti s pohanským pověřivostí a bylinným učením. Léčivé vlastnosti *Rubusu* pokračují v renesančních a moderních bylinných přípravcích, které schvalují nálevy z listů jako kloktadlo na bolavá ústa, aftózní vředy v krku a jako obklad na rány; kůra obsahující tanin byla tonikem proti průjmům; a extrakt z kořene byl projímavý a emetický. V ovoci *Rubusu* byl prokázán vysoký obsah kyseliny elagové, antokyaninů, celkových fenolů a celkového obsahu antioxidantů. Extrakt z ovoce byl používán jako barvivo a nyní je testován jako antikarcinogenní, antivirotický, antialergický a kosmetický hydratační přípravek. Od starověkých tradic přes tradiční lidové léčitelství po vědecké potvrzení zdraví prospěšných látek je *Rubus* spojován s vlastnostmi podporujícími zdraví. Zajímavé je, že ačkoli starověcí Řekové a Římané měli mnoho tělesných potíží, prioritou v zdraví bylo udržovat mladistvý vzhled; barvení vlasů bylo tedy prioritou. Dalšími použitími byla prevence bolestí břicha a zastavení nadměrných toků tělesných tekutin zejména u žen. (Hummer 2010).

1.2 Odrůdy maliníku

Vzhledem k tomu, že první kultivary malin v pravém slova smyslu pocházejí ze začátku 17. století, se podařilo pomologii do dnešního dne zaregistrovat a systematizovat více než tisíc kultivarů malin (Totic 2014).

Ostružiny jsou botanicky klasifikovány v rodu *Rubus*, podrod *Rubus* (dříve *Eubatus*). Evropské ostružiny (*Rubus fruticosus*) mají své středisko původu na Kavkaze, jsou dobře rozšířeny po celé Evropě a byly introdukovány do Asie, Océánie a Severní a Jižní Ameriky. Podrod *Idaeobatus* zahrnuje evropské maliny (*Rubus idaeus*) a brusinky (*R. chamaemorus*) původní ve jižních evropských horách a byly pojmenovány po hoře Ida, Turecko; Severoamerické maliny (*R. strigosus* Michx., *R. spectabilis* Pursh, *R. parviflorus* Nutt.) a ostružiny (východní, *R. occidentalis* L. a západní, *R. leucodermis* Douglas ex Torr.&A.Gray); a asijské druhy jako je *R. chingii* Hu, *R. coreanus* Miq., *R. crataegifolius* Bunge a *R. parvifolius* L. Tyto druhy

jsou převážně rozšířeny v provinciích Číny Zhejiang, Fujian, Hubei a Guizhou. *Rubus hawaiiensis* A. Gray z Havaje a druhy východní a jižní Afriky patří mezi mnoho druhů užívaných domorodými národy.

Mnoho šlechtitelů v USA a Kanadě vyvinulo rostliny s velkými šťavnatými plody, které mají jemné poměry cukru a kyseliny a složité chutě. Tyto malé nebo měkké plody mají vysokou kapacitu antioxidantů, vysoký obsah anthokyaninů, vysoký obsah vitaminů, jednoduché cukry a vysoký obsah minerálů (Hummer 2010).

1.3 Botanický popis rostliny

1.3.1 Habitus, typ růstu a další vlastnosti

Rod *Rubus*, jeden z nejrozmanitějších v rostlinné říši, obsahuje přibližně 740 druhů, které byly rozděleny do 12 nebo 15 podrodů. Tyto rozmanité druhy jsou původní na šesti kontinentech a byly nalezeny od vrcholků hor po pobřežní lokality při hladině moře. Ačkoli maliny a ostružiny jsou běžné v chladných mírných oblastech severní polokoule, většina druhů *Rubus* je původních na ostrovech Jižního Pacifiku (Hummer 2010).

Běžně jej najdeme v otevřených lesích, křovinách, lesních průsecích, spáleništích a na březích řek v okrajových oblastech lesů, podél cest a stezek. Nejlépe roste na středně dobře odvodněných půdách a toleruje široký rozsah pH půdy a má průměrnou toleranci vůči kyselinám. Lesní malina obvykle tvoří houští, čímž zlepšuje stabilitu půdy a působí proti erozi (Smreciu 2013). Její růst zpravidla dramaticky stoupne po těžbě nebo požáru (Tirmenstein 1990)

Výška [m]: 0,5

Růstová forma: keř

Životní forma: nanofanerofyt

Parazitismus a mykoheterotrofie: autotrofní

Symbiotická fixace dusíku: bez symbiontů fixujících dusík

Původnost v ČR: původní

Zákonná ochrana: není zákonem chráněný

(pladias.cz)

1.3.2 List

Přítomnost a přeměna listu: listy přítomny, nejsou přeměněné

Uspořádání listů na stonku (fylotaxe): střídavé

Tvar listu: složený – lichozpeřený

Palisty: přítomny

Řapík: přítomen

Vytrvalost listů: letní

Anatomie listů: mezomorfni

(pladias.cz)

Listy stonků z prvního roku jsou lichozpeřené, složené ze 3 až 5 vejčitých až kopinatých lístků, s dvojitě pilovitými okraji a listy druhoročních kvetoucích větví jsou tříčetné (Smreciu 2013).

1.3.3 Květ

Doba kvetení [měsíc]: květen-říjen

Fáze kvetení: 6 *Cornus sanguinea*-*Melica uniflora* (začátek časného léta)

Barva květu: bílá

Symetrie květu: aktinomorfní (dvě a více rovin souměrnosti)

Květní obaly: kalich a koruna

Srůst koruny/okvětí: volné

Srůst kalicha: volnolupenný

Typ květenství: hrozen, lata

Diklinie: syncický (oboupohlavný)

Způsob opylení: entomofilie, autogamie

Spektrum opylovačů: včela medonosná, čmeláci, mouchy, motýli (ostatní blanokřídlí, pestřenky, brouci)

(pladias.cz)

Bílé květy visí samostatně nebo v malých skupinách ve složených květenstvích (Moss 1983).

1.3.4 Plod a semeno

Typ plodu: dužnatý plod – souplodí peckoviček

Barva plodu: červená

Způsob rozmnožování: semeny/sporami a vegetativně

Jednotka šíření (diaspora): semeno, plod, plodenství nebo jeho část

Strategie šíření: Cornus (autochorie a endozoochorie)

Myrmekochorie: nemyrmekochorní

(pladias.cz)

Typově se jedná o souplodí. Plod je vejčité a široký asi 1 cm (viz obr. 1). Po dozrání opadává. Semeno je světle hnědé až růžové, ledvinité, s hrbolatým povrchem, dlouhé 1,5 - 3 mm (Moss 1983)

Semena se rozptylují od července do října (Brinkman 1964) a jejich doba životaschopnosti je 60 až 100 let nebo i déle, když jsou pohřbena v půdě (Tirmenstein 1990)



**Obrázek 1: Ostružiník maliník
(*Rubus idaeus*)**

1.3.5 Kořen

Kořenová metamorfóza: kořenový výběžek

Typ orgánu klonálního růstu: kořen s adventivními pupeny (mohou vznikat nezávislí jedinci)

Volně šířitelné klonální potomstvo: chybí

Hlavní kořen: chybí

(pladias.cz)

1.4 Podmínky pěstování a jejich vliv

Zdravé malinové pruty určené k výsadbě musí být pěstovány ve vhodné půdě. Tradičně se maliny pěstují v otevřených plochách a v poslední době se také využívá pěstování ve vysokých tunelech (Totic 2014).

Maliny dokáží růst i v extrémních podmínkách, kde by většina ostatních ovocných druhů prosperovat nedokázala. Jsou právě díky tomu hojně rozšířeny například i po území USA a Kanady (Kotuła 2022).

Ideální klimatické podmínky pro pěstování malin jsou chladnější léta s mírným množstvím srážek během sklizně (konec května a začátek června), vlhké pozdní léto, příznivé pro vývoj nových výhonů, a relativně mírné zimy s teplotami, které nepřesahují -18°C (Haffner et al. 2000).

Pro pěstování jsou nejvhodnější pozemky s orientací na severozápad. Donedávna byly nejlepší odrůdy malin pěstovány ve výšce mezi 400 a 800 metry. Dnes, v důsledku klimatických změn, se tato úroveň posunula na nadmořské výšky přes 2000 metrů. Malinová odrůda Heritage poskytuje nejlepší výnos v nadmořské výšce 1000 metrů, zatímco červené a žluté odrůdy malin (*Rubus idaeus*) v Coloradu (Spojené státy) jsou velmi úspěšně pěstovány v nadmořských výškách až 8500 stop nebo přes 2600 metrů (Keep 1988).

Ačkoli jejím přirozeným prostředím jsou lesy, a ačkoli prospívá lépe v kopcovitých a horských oblastech než v údolích, která jsou náchylnější k následkům sucha, malina poskytuje nejlepší výnos v plném, ale ne silném slunečním světle. Při výběru půdy pro pěstování malin bychom měli vzít v úvahu, že by měla být vysazena v polostínu a že na daném pozemku nebyly vysazeny žádné jiné plodiny po dobu nejméně tří předchozích let (včetně brambor, rajčat, lilků, paprik, jahod, ostružin), což je doba, kterou trvá, než jsou zničena stanoviště různých hmyzu a škůdců, které způsobují houbové a virové choroby (Petrović a Milošević 1998).

1.4.1 Teplota

Účinky teploty po odkvětu na chemické složení plodů malin Glen Ample byly studovány za podmínek kontrolovaného prostředí. Maliny Glen Ample vyrostlé za stejných podmínek byly od 20. července pěstovány (po celé léto) v komorách s denním světlem, s teplotami 12, 18 a 24 $^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) a s přirozenou délkou světelného dne (18–12 h). Hmotnost bobulí významně klesla s rostoucí teplotou (12, 18 a 24 $^{\circ}\text{C}$) a s postupem doby sklizně. Hmotnost bobulí byla původně vysoká při všech teplotách, ale postupně klesala s časem při 24 a 18 $^{\circ}\text{C}$, zatímco při 12 $^{\circ}\text{C}$ zůstala vysoká v průběhu většiny sklizně (Remberg et al. 2010).

1.4.2 Salinita půdy

Výsledky studie (Neocleous, Vasilakakis 2007), ve které byl pozorován růst rostlin odrůdy Autumn Bliss zavlažovaných živnými roztoky s obsahem NaCl, naznačují, že zvyšující se koncentrace soli ve živném roztoku vede k poklesu fotosyntetického tempa a stomatální vodivosti, snížení obsahu chlorofylu a fluorescence listů; poklesu rychlosti transpirace, potenciálu vody v listech, relativního obsahu vody a spotřeby vody rostlinou, přičemž však účinnost využití vody není ovlivněna; poklesu délky a průměru výhonu, procenta zelených listů, plochy listů, rychlosti expanze listů a relativního růstového tempa, zatímco počet listů zůstává nezměněn a procento odumřelých listů stoupá; poklesu čerstvé hmotnosti rostliny a suché hmotnosti a zvýšení poměru kořen/květ; lineárního zvýšení obsahu chloridů a sodíku v rostlině. Kvantifikace odezvy maliny na zvýšené koncentrace NaCl ukazuje, že pokles fotosyntézy je pravděpodobně způsoben poškozením fotosyntetického aparátu spíše než faktory ovlivňující uzavření stomat. Kromě toho byl zřetelně prokázán výrazný toxický účinek chloru, což naznačuje, že účinek poškození solí by mohl být přičítán toxicitě chloru (příjem a transport). V důsledku toho omezení fotosyntetické kapacity a toxicita soli v rostlinných tkáních omezují růst rostliny za solných podmínek.

1.5 Význam maliníku a jeho produktů

Rubus idaeus je velmi důležitý druh malého vytrvalého bobulovitého ovoce. Na základě rozsahu produkce je na třetím místě hned po jahodě a rybízu, a z hlediska ekonomického významu je druhá pouze po jahodě. Malina patří do skupiny produktů, které mají nejvyšší stupeň obchodovatelnosti, a v některých zemích (například v Srbské republice) je přes 99 % celkové produkce určeno k prodeji na trhu. Za vhodných agro-ekologických a technických podmínek (profesionální personál, kapacity pro zpracování a zmrazení, organizovaná nákupní místa, kvalitní silnice a dopravní prostředky, dostatečná pracovní síla potřebná ke sklizni) je možné dosáhnout výnosu až 35 tun na akr. (Totic 2014). Dnešní světová produkce je rozšířena na pěti kontinentech a odhaduje se na více než 400 000 tun ročně. Čtyři hlavní regiony, kde se maliny intenzivně pěstují, zahrnují Ruskou federaci, Evropu (Polsko, Ukrajina, Srbsko, Německo, Velká Británie), Spojené státy americké (Washington a Oregon) a státy tichomořského pobřeží (Britská Kolumbie) a Chile, Nový Zéland a Austrálie. Tyto oblasti nejenže hrají významnou roli v produkci, ale jsou také hlavními dodavateli čerstvých a vysoce kvalitních malin na trhu severní polokoule během zimního období. Důvodem, proč jsou maliny tak široce pěstovány a konzumovány v takovém množství, je jejich jedinečný typ bobulí, které mají mimořádný výživový profil. Maliny jsou velmi bohatým zdrojem fytonutrientů, antokyaninů, flavonoidů, stilbenoidů, fenolových kyselin, tríslovin, lignanů a podobně. Maliny jsou bohatým zdrojem materiálů významných pro regulaci funkce trávicího traktu, vitamínu C, vitamínu E a vitamínu K a hořčiku, folátu,

omega-3 kyselin, mědi a draslíku (Beekwilder et al., 2005). Kromě výše uvedených složek obsahuje výživový profil malin široké spektrum živin, jako jsou sacharidy, cukry, rozpustná vláknina, sodík, minerály a aminokyseliny. S výše uvedenými složkami jsou skutečnou zásobárnou zdraví a generátorem dobré nálady mezi konzumenty, kteří je konzumují a kteří jsou přesvědčeni o jejich léčivých účincích a roli, kterou hrají v ochraně proti mnoha nemocem postihujícím lidi (Totic 2014).

Bobuloviny rodu *Rubus* se konzumují jako čerstvé ovoce nebo (jelikož se jedná o plody poměrně snadno se kazící) jako zpracované produkty např. marmelády, želé, sirupy, šťávy, vína, pivo a dezerty. Úpravou a tepelným zpracováním se však snižuje obsah jak flavonoidů tak anthokyaninů ve šťávě. S ohledem na to, že konvenční tepelné zpracování snižuje obsah těchto složek, jsou zkoumány alternativní technologie. Pro zvýšení kvality lisované šťávy z malin *R. idaeus* se zkoumaly účinky impulzního elektrického pole a zjistilo se, že extrakty z výlisků obsahovaly významně vyšší množství celkových fenolů (až o 22 %) a celkových anthokyaninů (až o 26 %) ve srovnání s nezpracovaným materiálem. U šťávy z ostružiny *R. fruticosus* byl pozorován až dvojnásobně vyšší obsah polyfenolů a anthokyaninů u mikrovlnně/ultrazvukově zpracované šťávy ve srovnání se syrovou šťávou. (Schulz 2019).

1.6 Škůdci a nemoci

Přítomnost různých hmyzích škůdců během období intenzivního růstu a vegetace vytváří mikroklima vhodné pro rozvoj velkého množství kryptogamických chorob, které jsou škodlivé pro výhony. Pokud určitá choroba napadne maliník, může dojít k např.: snížení výnosu, ztráta vysoce kvalitní sklizně a někdy celková a předčasná hniloba. Nejčastějšími příčinami nemocí malin jsou patogenní houby, bakterie, viry. Současné způsoby ochrany malin před chorobami, škůdci a plevely jsou prováděny pomocí agrotechnických a pomotechnických opatření, která přispívají k vitalitě kořenů, výhonů a listů. Mnohým chorobám lze úspěšně předcházet pomocí herbicidů a pesticidů v předepsaných množstvích. V takových situacích jsou výhony a listy postříkovány před začátkem vegetačního období, před květem a po sklizni. Aby se zabránilo ročním plevelům, kromě pesticidů a herbicidů lze použít i plastovou fólii. Použití plastové fólie zvyšuje výnos o 10 až 20 % a urychluje zrání plodů o 2 až 3 dny (Bowen-Forbes et al. 2010). Problémovým se při pěstování malin jeví hlavně nesprávné používání chemikálií k ochraně. To vede ke stopám velmi nebezpečných a převážně karcinogenních látek v ovoci, které jsou buď přijatelné ve velmi nízkých hladinách, nebo nejsou povoleny zákonem. Přirozeně, je to především důsledek používání pesticidů. Pesticidy představují heterogenní skupinu chemikálií s různými biologickými, chemickými a fyzikálními vlastnostmi, kvůli nimž neexistuje univerzální technologie nebo metoda pro přesné stanovení dávek. Zbytky pesticidů nalezené v

malinových plodech mohou i ve velmi malých množstvích způsobit vážné zdravotní problémy a jsou hlavní příčinou karcinogenních onemocnění. To platí zejména pro fungicidy, protože jsou cytotoxické na základě své vnitřní struktury (Totic 2014).

Maliny, jako jiné ovoce, jsou náchylné k mnoha chorobám (popsané v tabulce 1), které jsou způsobeny různými původci (hmyz, škůdci, viry, houby, roztoči, bakterie). Protože maliníky nejsou přemísťovány průměrně po dobu dvou desetiletí po jejich výsadbě, je přirozené, že špatná ochrana umožňuje prosazení faktorů, které způsobují vážné choroby (Green 1971).

Tabulka 1: Plísňová, virová a bakteriální onemocnění malin

(The agricultural society of Valjevo d.o.o. – Valjevo. The Republic of Serbia)

Typ onemocnění	Botanický řád
Houbová onemocnění (mykózy)	
Odumírání malinových větví	<i>Didymella applanata</i>
Rakovina malinové větve	<i>Leptosphaeria coniothyrium</i>
Antraknóza	<i>Elsinoe veneta</i>
Skvrnitost listů	<i>Sphaerulina rubi</i>
Šedá plíseň	<i>Botryotinia fuckeliana de Bary</i>
Verticilliové vadnutí	<i>Verticillium albo-atrum Reinke et Beerth</i>
Padlí	<i>Sphaerotheca macularis</i>
Žlutá rez	<i>Phragmidium rubi idaei</i>
Virová onemocnění (virózy)	
Virus žlutého sítkování	<i>Rubus idaeus yellow net virus-RYNV</i>
Nekrotický virus	<i>Niger rubus idaeus necrosis virus-NRNV</i>
Virus mozaiky listů	<i>Rubus idaeus folium maculo virus-RFMV</i>
Virus skvrnitosti listů	<i>Rubus idaeus folium macula virus-RFMV</i>
Virus chlorózy listových žil	<i>Rubus idaeus chlorosis virus-RCV</i>
Virus zkroucených listů	<i>Rubus idaeus folium crispum virus-RLCV</i>
Virová onemocnění (virózy) - přenos virovými háďátky	
Virus prstencové a čárkové mozaiky jasanu	<i>Arabis musivo virus-AMV</i>
Virus prstencové skvrnitosti	<i>Raspberry ringspot virus-RRV</i>
Virová onemocnění (virózy) - přenos pylem	
Virus zakrslosti plodů	<i>Rubus idaeus fruticosum pumilio virus-RFPV</i>
Zakrslý virus	<i>Rubus stunt-RS</i>
Bakteriální onemocnění (bakteriázy)	
Bakteriální rakovina korun	<i>Agrobacterium tumefaciens Smith and Town</i>
Rakovina malinové větve	<i>Agrobacterium rubi Star and Weiss</i>

Hmyz-škůdci, kteří nejčastěji napadají maliny, jsou např. malinový brouk (*Byturus tomentosus* – obrázek 2), malinový mol (*Lampronia rubiella*), sviluška obecná (*Tetranychus urticae* – obrázek 3), velký malinový roztoč a malý malinový roztoč (*Amphorophora idaei* – obrázek 4 a *Aphis idaei*) (Totic 2014).



Obrázek 2: *Byturus tomentosus* – Malinovník plstnatý

(<https://www.skudci.com/malinovnik-plstnaty>)



Obrázek 3: *Tetranychus urticae* – Svluška obecná

(https://entnemdept.ufl.edu/creatures/orn/twospotted_mite.htm)



Obrázek 4: *Amphorophora idaei*

(<https://bladmeeerders.nl/parasites/animalia/arthropoda/insecta/hemiptera/sternorrhyncha/aphidoidea/aphididae/aphidinae/macrosiphini/amphorophora/amphorophora-idae/>)

Ochrana proti škůdcům je zaměřena na larvy a dospělý hmyz. Karbamid nebo pyrethrinový sprej kombinovaný s některým jiným prostředkem se nejčastěji používá k jejich ničení před květem, ale také ihned po otevření pupenů na malinících. Kromě toho je časté používání olejových chemikálií při ošetřování maliníků během období vegetačního klidu. Dospělý hmyz je ničen pomocí malathionu nebo jiných organofosfátových insekticidů (Wittwer a Castilla 1995).

K odstranění vajec a mladých svilušek jsou obvykle používány miticidy v rané fázi rozvoje choroby. Španělský stromový cvrček (*Oecanthus pellucens*) je velmi vytrvalý typ škůdce, který je účinně ničen pomocí karbarylů. Před jakýmkoli ošetřením těmito insekticidy je však třeba mít na paměti, že insekticidy, které se používají s cílem úspěšně ničit škůdce, často problém neřeší, naopak. Dokud ničí škůdce, narušují také přirozenou rovnováhu, protože ničí i ty členovce, kteří škůdce zabíjejí a maliníkům neškodí. Jedno je však jisté, všichni výše zmínění škůdci, kromě mnoha dalších, způsobují velké materiální škody (až 80% úrody) a velké problémy pro producenty malin a výrobce ochranných chemikálií (Totic 2014).

Aby byly maliníky chráněny před hmyzem a příčinami chorob je nutné organizovat ochranu během celého výrobního procesu, která by zahrnovala identifikaci škůdců, výběr agrotechnických opatření, chemikálií a vhodných postupů pro správné ošetření. Identifikace škůdců na malinících je první fází a důsledkem jejich systematického umístění, které obvykle začíná na začátku března až v dubna, a končí na začátku září. Maliníky by měly být kontrolovány dvakrát týdně po sklizni, protože se v této době objevují různé druhy škůdců. Doporučuje se provádět osm až deset identifikací ročně, což je dostatečné k získání cenných informací pro včasné rozhodnutí a výběr preventivních opatření (Wells a Loy 1999).

Pokud jde o specifické chemické ošetření maliníků, je záležitost mnohem složitější. Například mnoho producentů používá k ochraně malin dithiokarbamát a fungicidy, které jsou podle svého chemického složení deriváty kyseliny dithiokarbamové, aniž by brali v úvahu skutečnost, že jejich použití je omezeno na začátek květu. To znamená, že je ignorováno zákonné omezení jejich přítomnosti v malinovém plodu. Z tohoto důvodu například byly z členských států Evropské unie celé náklady již zmražených malin odeslány zpět do Republiky Srbsko (jeden z nejvýznamnějších producentů a exportérů zmražených malin na světě), protože během kontroly kvality bylo zjištěno překročení povolené hodnoty dithiokarbamátu (Kovačević et al. 2004).

Při ošetřování maliníků s cílem chránit je před škůdci je třeba věnovat zvláštní pozornost omezením ukládaným na používání pesticidů a období, ve kterých jsou používány. Nadměrné dávky pesticidů vedou k oslabení maliníků a špatné kvalitě plodů, protože narušují jejich výživovou strukturu. Z tohoto důvodu je

třeba stanovit základní program ochrany maliníků před chorobami a škůdci založený na používání chemikálií po celý rok, před vegetací, během vegetace a po sklizni (Totic 2014).

2 Léčivé i další účinky

Maliny jsou oblíbenou součástí každodenní stravy. Mají své užití nejen jako čerstvé ovoce a zpracované potraviny. Kromě toho, že jsou potravinami, jsou maliny také populární lidovými léky ve východní Evropě a zájem o jejich léčivé účinky neustále roste (Hummer 2010). Červené maliny se již po staletí používají k léčbě běžného nachlazení, horečky a infekcí podobných chřipce. Plody červených a černých malin se zdají být cennými složkami stravy, které by mohly být použity v profylaxi infekčních onemocnění dýchacích a trávicích cest. Proto mohou být zajímavé pro trhy s doplňky stravy a farmaceutický průmysl. V dnešní době existuje také řada doplňků stravy obsahujících syrové extrakty z červených malin, které se používají k podpoře imunitního systému a snížení trvání infekcí horních dýchacích cest (Krauze-Baranowska 2014).

Maliny a ostružiny obsahují živiny a bioaktivní sloučeniny (vitamíny, minerály, proteiny, cukry a polyfenoly) a jejich biologické účinky naznačují potenciální využití pro lidské zdraví. Díky složení tohoto ovoce je jeho konzumace (ať už čerstvého ovoce nebo jeho produktů) spojená s mnoha zdravotními přínosy včetně prevence zánětů, kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny (Schulz 2019). Konzumace malin může být přínosná nejen při prevenci chronických lidských onemocnění, ale například pomáhá také zlepšit kvalitu života a podporuje zdravé stárnutí (Hummer 2010).

Stonkům rostliny jsou připisovány analgetické vlastnosti. Údajně mohou ulevit při horečkách, průjmech, bolestech žaludku, bolestech při růstu zubů a pomáhají při uzdravování po porodu. Kořeny a stonky lze použít při léčbě infekcí a zejména kořeny také při léčbě astmatu (Johnson et. al. 1995). Čaj z bobulí a listů údajně snižuje ranní nevolnost. Obklad z listů a ovoce se používal k hojení ran, popálenin a bodnutí hmyzem. Listy lze použít jako obličejové tonikum k odstranění ucpaných pórů (Smreciu 2013).

2.1 Antimikrobiální aktivita

Potravinové infekce jsou důsledkem požití potravin kontaminovaných buď infekčními mikroorganismy nebo toxiny produkovanými mikroorganismy. Mikroorganismy mohou vyvolat nepříznivé účinky v tkáních adhezí a narušením buněčných membrán, chemickou modifikací esenciálních proteinů a pronikáním do buněk za uvolňování buněčných toxinů (Friedman 2017).

Mikrobiální kontaminace je jedním z hlavních výzev, kterým čelí potravinářský průmysl, neboť může být škodlivá pro kvalitu potravin, což vede k odpadu a ekonomickým ztrátám (Kumar & Brooks 2017).

Extrakty z morfologicky různorodých částí maliníku vykazovaly vynikající antibakteriální účinky, zejména proti gram-pozitivním bakteriím (Ispiryan et al. 2024).

2.1.1 Obecné metody stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální aktivita přírodních látek může být určována např. biologickými testy. Jedna z oblíbených metod je pomocí difúze aktivní látky do agarového podloží s mikroorganismy. Kapalný agar o teplotě 45 °C obsahující potřebný růstový prostředek je inokulován testovaným organismem a poté nalit do sterilní Petriho misky, kde se ztuží. Do agaru je poté vytvořena díra a naplněna roztokem obsahujícím testovanou látku. Alternativně je na agar umístěn papírový disk (často o průměru 6 mm) impregnovaný testovaným roztokem. Petriho miska by pak měla být umístěna do lednice, aby testovaný roztok mohl difundovat do agaru, než začne inkubace. Díky difúzi aktivních látek vznikne v okolí díry nebo papírového disku gradient koncentrace. Růst mikroorganismů je pak inhibován účinnou koncentrací antibiotika. Zóna inhibice od okraje papírového disku nebo díry je pak spojena s koncentrací antimikrobiální látky v roztoku. Na velikost inhibiční zóny mají vliv faktory jako například: koncentrace antibiotika, objem testovaného roztoku, hustota inokula, podmínky při difúzní fázi před inkubací, tloušťka agarového média, složení média a teplota inkubace. Všechny tyto aspekty musí být zohledněny, jestliže chceme dosáhnout výsledků srovnatelných mezi různými laboratořemi. Byly stanoveny různé definice minimální inhibiční koncentrace (MIC). Je všeobecně přijímáno, že MIC představuje nejnižší koncentraci látky, která inhibuje růst mikroba, a že toto je lepší způsob, jak vyjádřit antibakteriální aktivitu sloučeniny nebo extraktu než minimální smrtící koncentrace. MIC je také způsobem, jak je prezentována aktivita antibiotik. Studie difúze agaru není přijatelná při studiu aktivity rostlinných extraktů, protože polarita aktivních sloučenin výrazně ovlivňuje výsledky (Eloff 2019).

Další metody, využívané na stanovení MIC, jsou metody založené na sériové diluci. Sériová diluce velkých objemů testových roztoků v zkumavkách s následným přidáním mikrobiálních kultur a vizuální pozorování zkalení se používá již mnoho let. Tato metoda vyžaduje velké množství testované sloučeniny. Navíc když jsou rostlinné extrakty přidány do složitých mikrobiálních kultivací, může dojít k precipitaci, což komplikuje výsledky. Také barva extraktů z listů rostlin znesnadňovat kvantifikaci zkalení. Dále jsou využívány také metody založené na indikaci růstu pomocí fluorescence přidáním fluorescein diacetátu do kultury, čímž dojde ke vzniku fluorescenčního produktu, nebo metody využívající tetrazolium soli k indikaci růstu, které se v redukčním procesu mění na formazan (Eloff 2019).

2.1.2 Testy antimikrobiálních účinků na mikroorganismech

Bylo prokázáno (Krauze-Baranowska 2014), že mnoho sekundárních metabolitů nalezených v potravinách a léčivých rostlinách vykazuje antimikrobiální účinky, a výzkum bobulovitých plodů ukazuje na rod *Rubus* jako potenciální zdroj antibakteriálních látek. Byly hodnoceny ethanol-vodní extrakty z čtyř odrůd červených (*Rubus idaeus* 'Ljulin', 'Veten', 'Poranna Rosa') a černých (*Rubus occidentalis* 'Litacz') malin v

rozsahu jejich antimikrobiálních vlastností a obsahu fenolických látek – sanguin H-6, volné kyseliny ellagové a anthokyaninů (tabulka 2).

Tabulka 2: Antimikrobiální aktivita MBC (minimální baktericidní koncentrace) a MIC (minimální inhibiční koncentrace) malinových extraktů (sanguin H6 a kyselina ellagová [mg/ml])

(KRAUZE-BARANOWSKA *et al.* 2014)

	<i>R. occidentalis</i> 'Litacz'		<i>R. idaeus</i> 'Ljulin'		<i>R. idaeus</i> 'Veten'		<i>R. idaeus</i> 'Poranna Rosa'		Sanguin H6		Kyselina ellagová	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Streptococcus</i> group A	32.0	32.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	0.5	0.5	1.0	1.0
<i>Streptococcus</i> group B	>128	>128	32.0	32.0	64.0	128.0	32.0	32.0	>1	>1	>1	>1
<i>Streptococcus</i> group G	64.0	64.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	>1	>1	>1	>1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	32.0	32.0	4.0	16.0	4.0	8.0	16.0	16.0	0.5	0.5	>1	>1
<i>Enterococcus faecalis</i>	64.0	64.0	128.0	128.0	128.0	128.0	16.0	16.0	>1	>1	>1	>1
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.0	1.0	4.0	4.0	0.5	0.5	4.0	4.0	0.03	0.03	0.03	0.03
<i>Bacillus subtilis</i>	32.0	>128	16.0	16.0	32.0	>128	32.0	>128	0.5	>1	0.06	>1
<i>Clostridium sporogenes</i>	4.0	>128	16.0	16.0	4.0	>128	16.0	>128	0.06	>1	0.06	>1
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.0	16.0	8.0	8.0	4.0	8.0	8.0	8.0	0.25	>1	0.5	>1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4.0	8.0	4.0	8.0	4.0	8.0	8.0	8.0	0.125	0.125	>1	>1
<i>Neisseria meningitidis</i>	16.0	16.0	16.0	32.0	32.0	32.0	>128	>128	>1	>1	0.06	>1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	8.0	8.0	4.0	4.0	4.0	8.0	2.0	4.0	0.5	>1	0.015	0.03
<i>Haemophilus influenzae</i>	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0	16.0	16.0	>1	>1	>1	>1
<i>Helicobacter pylori</i>	32.0	32.0	8.0	16.0	8.0	16.0	8.0	32.0	>1	>1	0.125	>1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	128.0	>128	32.0	>128	32.0	128.0	32.0	64.0	>1	>1	>1	>1

Antimikrobiální test byl proveden pomocí patnácti kmenů bakterií, jak Gram-negativních, tak Gram-pozitivních. Antimikrobiální aktivita extraktů se lišila a závisela na analyzovaném kmeni bakterií a kultivaru, s výjimkou *Helicobacter pylori*, ke kterému extrakty vykazovaly stejnou aktivitu inhibice růstu. Dva lidské patogeny, *Corynebacterium diphtheriae* a *Moraxella catarrhalis*, se ukázaly jako nejcitlivější na extrakty malin. Nejvyšší citlivost *Corynebacterium diphtheriae* na extrakty z černých i červených malin může být způsobena jejich citlivostí na sanguin H-6 a kyselinu ellagovou. Antimikrobiální vlastnosti malin jsou přičítány především přítomnosti elagitaninů. Extrakt z černých malin (*R. occidentalis*) byl méně účinný než z červených (*R. idaeus*), protože vykazoval nejnižší minimální baktericidní koncentraci pouze pro *Neisseria meningitidis*. Na druhé straně byl sanguin H-6 a kyselina ellagová aktivní pouze proti 8 resp. 9 bakteriálním kmenům. Tyto výsledky naznačují, že antimikrobiální aktivita těchto bobulí nemůže být přičítána výhradně kyselině ellagové a sanguinu H6, ale také dalším látkám přítomným v těchto ovocích.

Surové methanolické extrakty ostružin *R. fruticosus* byly testovány (Riaz & Rahman 2011) proti 8 bakteriálním kmenům (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus*, *Citrobacter*, *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas aeruginosa*) a 9 patogenním kmenům hub

(*Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. effusus*, *Yersinia aldovae*, *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Trichophyton rubrum*) (viz tabulka 3).

Tabulka 3: Inhibiční zóny [mm] pro *Rubus fruticosus* porovnány proti účinným látkám (Riaz & Rahman 2011)

Typ extraktu	Bakteriální kmeny							
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
z ovoce	-	-	8,1 ± 0,16	-	8 ± 0,08	8 ± 0,14	8 ± 0,09	8 ± 0,11
z listu	8 ± 0,13	-	8,2 ± 0,10	-	-	-	-	-
ze stonku	9,2 ± 0,15	8,9 ± 0,11	8,8 ± 0,11	9,8 ± 0,09	8 ± 0,12	9 ± 0,11	8 ± 0,17	9 ± 0,15
z kořene	8,7 ± 0,11	9,2 ± 0,09	8 ± 0,17	8 ± 0,12	8 ± 0,16	-	10 ± 0,11	-
ampicillin	-	-	-	-	-	-	-	-
amoxicillin	13,8 ± 0,25	12,3 ± 0,12	-	14,6 ± 0,22	14,6 ± 0,19	13,8 ± 0,23	13,2 ± 0,09	8,2 ± 0,15

Antibakteriální aktivity extraktů byly pozorovány proti všem kmenům kromě *S. typhi*, *E. coli* a *P. mirabilis*. Na druhé straně nebyla pro zkoumané kmeny zaznamenána významná antifungální aktivita.

Pro ostružiny *R. ulmifolius* byly methanolické extrakty zkoumány proti 6 bakteriálním kmenům (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus agalactiae* a *Candida albicans*) (viz tabulka 4).

Tabulka 4: Inhibiční zóny, MIC (minimální inhibiční koncentrace) a MBC (minimální baktericidní koncentrace) extraktů *Rubus ulmifolius*

(Hajaji et al. 2017)

Bakterie	Inhibiční zóna [mm]		MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
	extrakt (15 ml)	ampicillin (10 µg)		
<i>E. coli</i>	28 ± 2,8	13,5 ± 2,1	4,03	8,92
<i>Salmonella typhimurium</i>	22,5 ± 2,1	18 ± 1,4	4,13	8,24
<i>Staphylococcus aureus</i>	39 ± 1,4	41,5 ± 0,7	3,22	7,17
<i>Enterococcus faecium</i>	16 ± 1,4	48 ± 2,8	4,76	8,70
<i>Streptococcus agalactiae</i>	50 ± 2,1	33 ± 2,8	2,29	4,38
<i>Candida albicans</i>	39 ± 1,4	36,5 ± 0,7	3,17	7,25

Testované extrakty prokázaly dobrý účinek proti všem patogenům, zejména *E. coli*, *S. agalactiae* a *C. albicans* s inhibičními zónami 28, 50 a 39 mm. Proto *S. aureus* a *E. faecium* byly méně citlivé na testované extrakty (Hajaji et al. 2017).

Studie antimikrobiální aktivity byly prováděny pouze pro *R. idaeus*, *R. occidentalis*, *R. fruticosus* a *R. ulmifolius*. Všechny studie naznačují, že antimikrobiální potenciál malin a ostružin je hlavně spojen s fenolickými sloučeninami těchto plodů. Nicméně jsou potřebné další studie zahrnující izolaci a identifikaci sloučenin zodpovědných za tuto aktivitu (Schulz 2019).

2.2 Antioxidační účinky

V situacích, kde dochází k nerovnováze mezi produkcí volných radikálů a kapacitou antioxidantů, dochází k poškození biomolekul a narušení funkce buněk, což je spojeno s progresí chronických onemocnění, jako jsou rakovina, kardiovaskulární a neurodegenerativní choroby (Azofeifa et al. 2016; Shahidi & Ambigaipalan 2015).

Maliny a ostružiny jsou dobrými zdroji bioaktivních fytochemikálií, zejména fenolických sloučenin (Yang & Choi 2017). Tyto složky obsahují ve své struktuře aromatický kruh s jednou nebo více hydroxylovými skupinami, díky kterým se vyznačují antioxidační kapacitou, která spočívá především ve schopnosti fenolického kruhu stabilizovat a delokalizovat nepárové elektrony (Hidalgo & Almajano 2017). Navíc tyto sloučeniny mohou potlačovat produkci radikálů, zvyšovat endogenní antioxidační kapacitu buněk a ovlivňovat signální dráhy prostřednictvím interakce s enzymy a buněčnými receptory (Giovinazzo & Grieco, 2015).

Antioxidační aktivitu je možné měřit pomocí testů ferrické redukční antioxidační síly (FRAP), kapacity ekvivalentní Troloxu (TEAC) a také metodou podle Folin-Ciocalteu (příklady testovaného ovoce uvedeny v tabulce 5) (Fu et al. 2011).

Tabulka 5: Antioxidační kapacita a celkový obsah fenolů v ovoci vyjádřených jako mg GAE (ekvivalenty kyseliny gallové) na 100 g vzorku

(Fu et al. 2011)

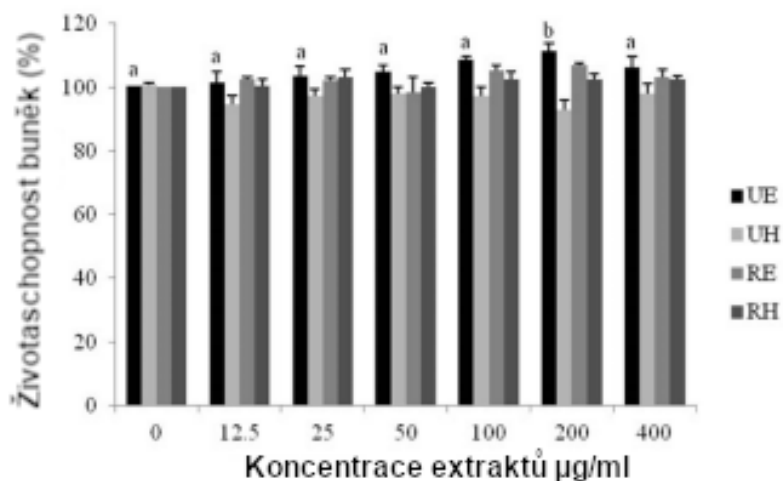
Ovoce	hodnota FRAP [$\mu\text{mol Fe(II)}/\text{g}$]	hodnota TROLOX [$\mu\text{mol Trolox}/\text{g}$]	mg GAE/100 g
Avokádo	2,76 \pm 0,03	1,16 \pm 0,05	21,86 \pm 1,25
Banán	5,33 \pm 0,10	3,44 \pm 0,29	57,13 \pm 3,64
Citrón	6,06 \pm 0,20	2,54 \pm 0,17	61,47 \pm 0,57
Durian	7,41 \pm 0,58	4,98 \pm 0,17	79,15 \pm 3,05
Kiwi	10,75 \pm 0,41	4,60 \pm 0,07	87,54 \pm 1,22
Mango	4,86 \pm 0,19	4,01 \pm 0,09	37,03 \pm 2,06
Vodní meloun	4,02 \pm 0,21	2,64 \pm 0,06	24,66 \pm 1,04

Metoda kapacity antioxidantů ekvivalentní troloxu (TEAC) je populární metodou pro hodnocení schopnosti látky odstraňovat radikály ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)). Za podmínek, za kterých se provádí tento test, nedochází k úplné reakci většiny antioxidantů s radikálem ABTS v daném časovém úseku. To vede k podhodnocení TEAC těchto antioxidantů (Fu et al. 2011).

2.3 Protizánětlivé účinky

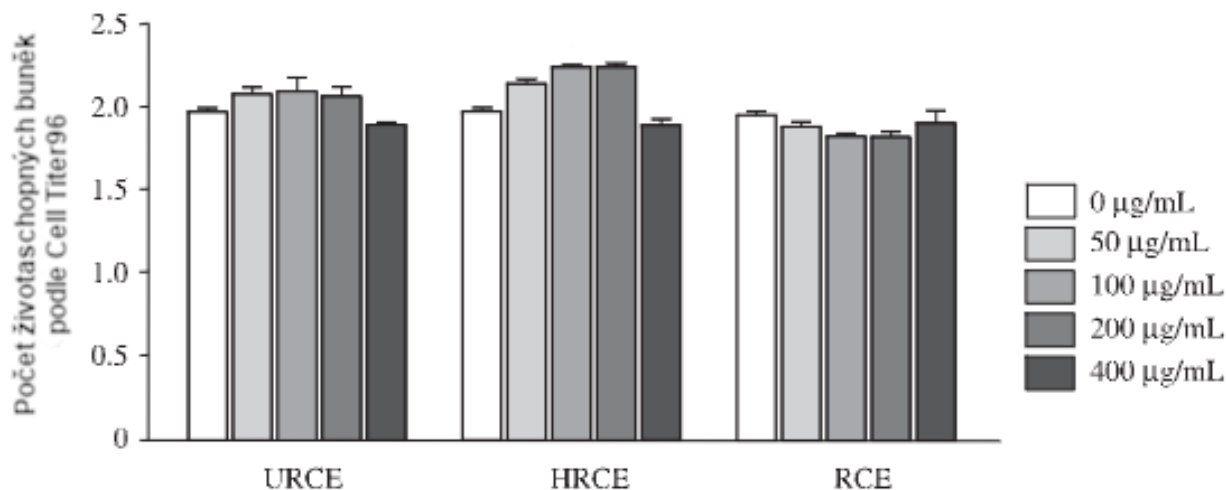
Zánět je ochranná reakce imunitního systému na patogeny, alergeny a další podráždění, stejně jako na poškození tkání. Makrofágy jsou známy jako jedna z hlavních imunitních buněk zapojených do zánětlivých reakcí a vylučují prozánětlivé mediátory, včetně oxidu dusnatého (NO), prostaglandinu E2 (PGE2), faktoru tumoru nekrotizujícího alfa (TNF- α) a interleukinů (Joseph et al. 2014; Wu & Schauss 2012).

Protizánětlivé účinky ovoce a extraktů z malin a ostružin rodu *Rubus* jsou znázorněny na (obr. 5) (Lee et al. 2014) a (obr. 6) (Yang et al. 2008).



Obrázek 5: Vliv extraktů UE (nezralý ethanolový), UH (nezralý vodní), RE (zralý ethanolový) a RH (zralý vodní) z *Rubus coreanus* na životaschopnost buněk RAW 264.7

(Lee et al. 2014)



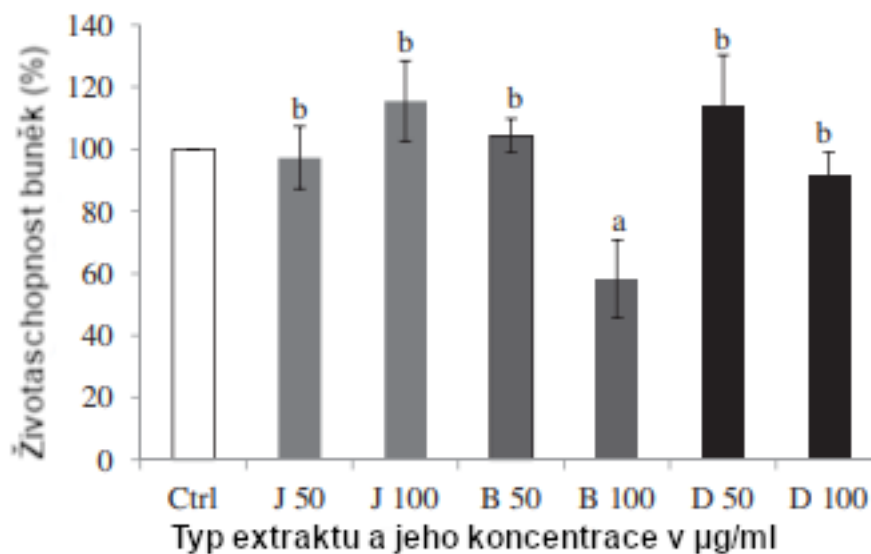
Obrázek 6: Vliv ethanolových extraktů URCE (nezralé), HRCE (napůl zralé) a RCE (zralé) z *Rubus coreanus* na životaschopnost buněk RAW 264.7

(Yang et al. 2008)

Obě tyto studie byly provedeny na myší makrofágové linii RAW 264.7 a ukázalo se, že stupeň zralosti ovoce *R. coreanus* ovlivňuje produkci zánětlivých mediátorů. Ethanolové a vodní extrakty nezralých malin *R. coreanus* (400 µg/ml) snížily expresi prozánětlivých mediátorů, jako je indukovaná syntáza oxidu dusnatého (iNOS), cyklooxygenáza-2 (Cox-2) a cytokiny, stejně jako produkci NO a PGE2, zatímco ethanolové a vodní extrakty zralých malin *R. coreanus* (400 µg/ml) snížily exprese IL-1 β a IL-6 (et al., 2014). Yang et al. 2008 ukázali, že ethanolové extrakty nezralých a polozralých malin *R. coreanus* (400 µg/ml) potlačily produkci NO, PGE2, TNF- α a IL-6, zatímco ethanolový extrakt zralých malin *R. coreanus* (400 µg/ml) neměl inhibiční účinky proti produkci NO a IL-6.

V obou studiích byly účinněji potlačeny zánětlivé reakce u více nezralých plodů ve srovnání s dozralými plody. Tyto výsledky mohou být způsobeny polyfenoly v potravě, které snižují zánětlivé reakce snižováním oxidačního stresu (Ellis et al. 2011; Martin et al. 2014).

Extrakt z ostružin černých *R. fruticosus* (metanol:voda, 80:20, v/v) také vykazoval pozitivní účinky na biomarkery zánětu v buněčné linii makrofágů myší RAW 264.7 (obr. 7).

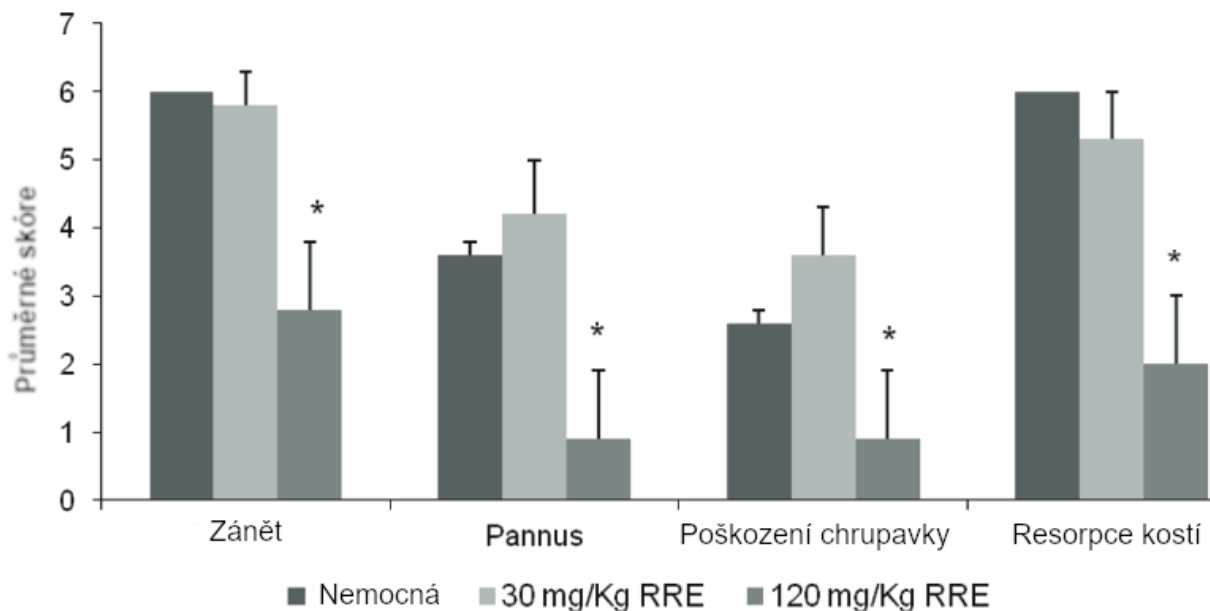


Obrázek 7: Vliv ostružinových extraktů kultivarů *R. fruticosus* J (jumbo), B (Black Satin) a D (Dirksen) na buňky RAW 264.7

(Van de Velde et al. 2016)

Bylo zjištěno (Van de Velde et al. 2016), že extrakt z *R. fruticosus* (50 µg/ml) snížil produkci NO a genovou expresi Cox-2 a IL-6. Vyšší hladiny cyanidin-3-glukosidu nalezené v extraktu ve srovnání s ostatními fenoly mohou být spojeny s tímto pozitivním účinkem.

Byly hodnoceny také protizánětlivé účinky červené ostružiny (*R. idaeus*) (obr. 8) (Jean-Gilles et al. 2012).



**Obrázek 8: Vliv extraktu z *R. idaeus* (RRE) na myši s artritidou
(Jean-Gilles et al. 2012)**

Myši s artritidou indukovanou adjuvanciem byly denně podávány extrakty z červených ostružin (RRE) v dávkách 30 a 120 mg/kg po dobu 30 dnů po injekci adjuvanciem (750 µg suspenze *Mycobacterium tuberculosis* ve squalenu) a denně byl monitorován objem nohou. Při 30 mg/kg RRE nedošlo k ovlivnění edému nohou, zatímco při 120 mg/kg RRE došlo ke snížení o celkových 23 %. Kromě toho kotníky zvířat léčených 120 mg/kg RRE vykazovaly mírný zánět a výraznou resorpci kostí s minimálním pannusem a poškozením chrupavky.

I přes různé testy a koncentrace použitých extraktů studie protizánětlivé aktivity malin a ostružin z rodu *Rubus* ukázaly potenciální vliv fenolového složení (ellagitanniny, flavonoly, fenolové kyseliny a antokyany) na zánětlivé procesy. Kromě toho, když byly porovnávány extrakty nezralých a zralých plodů, nezralé plody byly účinnější než zralé, výsledky pravděpodobně spojeny se zvýšenou koncentrací fenolů v nezralých ovocích (Schulz 2019).

2.4 Chemoprevence

Chronická nadprodukce ROS (reaktivní formy kyslíku – reactive oxygen species) a následný oxidační stres byly spojeny s vývojem rakoviny, protože ROS byly prokázány jako poškozující DNA a podporující mutace, které mohou vést k tvorbě nádorů (Baek et al. 2013). Chemoprevenční vlastnosti jsou definovány jako využití látek, přírodních nebo syntetických, samostatně nebo v kombinaci, k prevenci, zpoždění, inhibici

nebo obrácení karcinogenního procesu a jsou slibnou oblastí výzkumu rakoviny (Hsieh et al., 2013; Nowak et al., 2017).

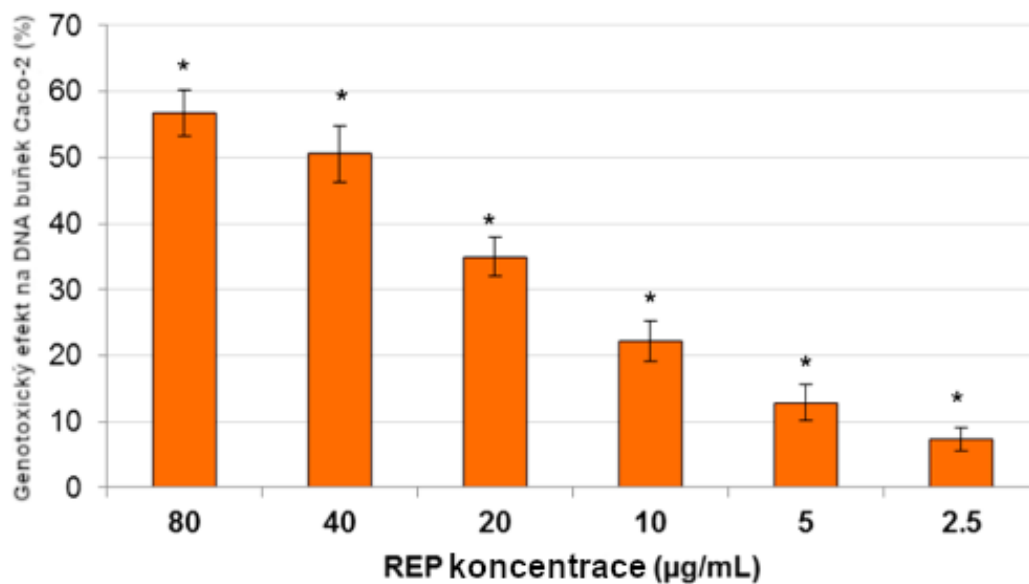
S ohledem na to, že ostružiny *Rubus* a ostružiny jsou vynikajícím zdrojem přírodních antioxidantů, byly studovány chemoprevenční vlastnosti těchto plodů (viz tabulka 6). Hexanové, methanolové a ethylacetátové extrakty malin *R. idaeus* (250 mg/ml) byly testovány na lidských nádorových buňkách MCF-7 (prsu), SF-268 (centrální nervový systém), NCI-H460 (plíce), HCT-116 (tlusté střevo) a AGS (žaludek). Hexanové extrakty vedly k inhibici rakovinných buněk prsu a žaludku o 17 a 22 %, zatímco růst buněk centrálního nervového systému byl inhibován pouze ethylacetátovými extrakty (14 %). Methanolové extrakty nevykázaly žádnou aktivitu při testované koncentraci (Bowen-Forbes et al. 2010). Autoři navrhli, že ochranný účinek nalezený pro hexanové extrakty může souviset s olejem ze semínek malin *R. idaeus*, který má dobrou stabilitu lipidové oxidace.

Tabulka 6: Chemoprevenční účinky

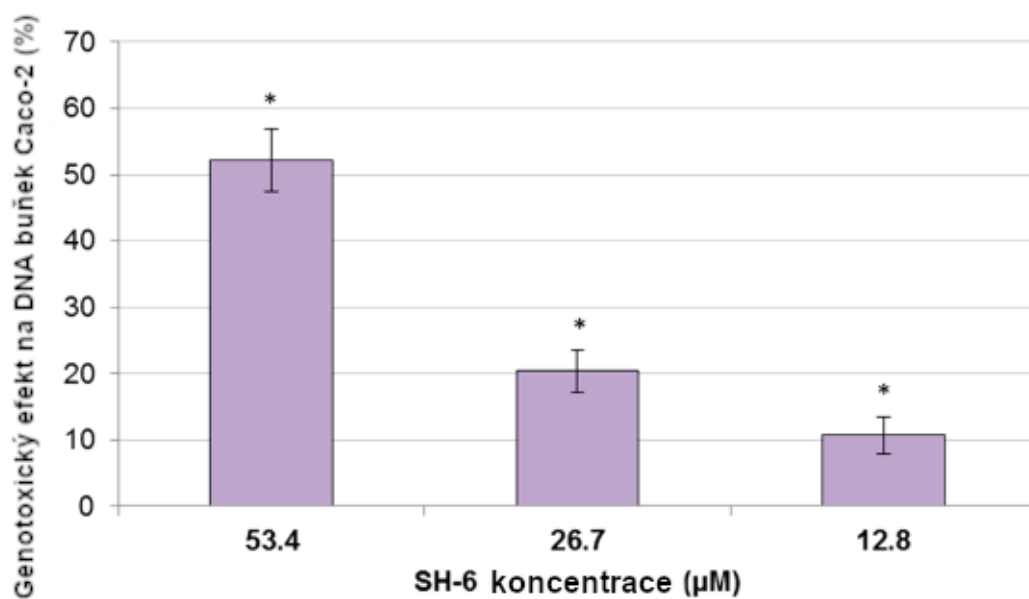
(Bowen-Forbes et al. 2010)

Chemopreventivní aktivita
<p><i>R. idaeus</i> MCF-7 (prsní), SF-268 (centrální nervový systém), NCI-H460 (plicní), HCT-116 (tlustého střeva) a AGS (žaludeční) lidské nádorové buňky SCC-9 a SAS orální nádorové buňky Lidská kolorektální adenokarcinoma caco-2 buněčná linie</p>
<p><i>R. ellipticus</i> C33A a HeLa lidské děložní hrdlo rakovinné buňky</p>
<p><i>R. coreanus</i> DU145 a LNCaP lidské prostatické rakovinné buňky PC-3 a DU 145 lidské prostatické rakovinné buňky Myši</p>
<p><i>R. occidentalis</i> HT-29 rakovinné buňky tlustého střeva</p>

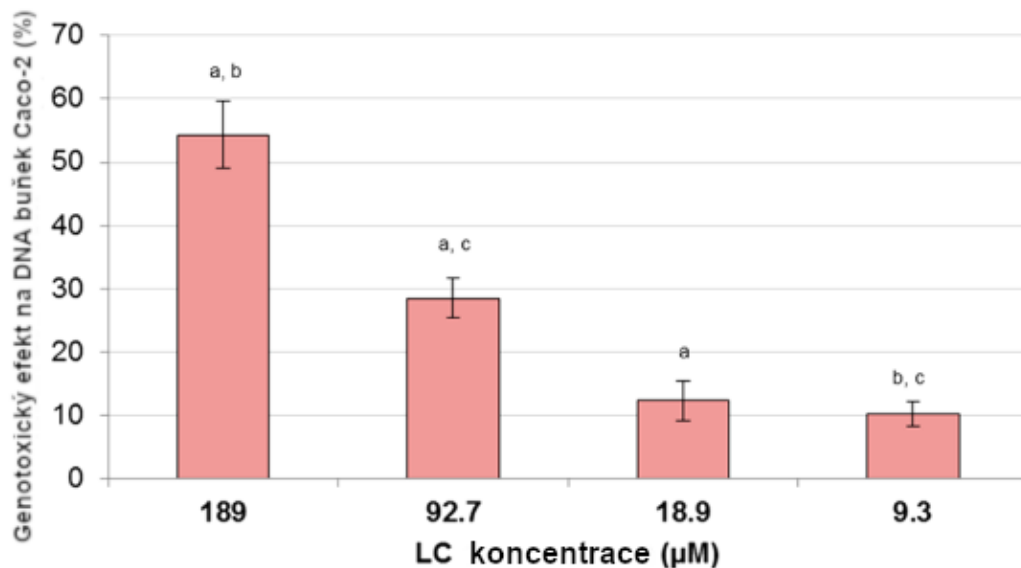
Další studie (Nowak et al. 2017) také studovala antikancerogenní vlastnosti malin *R. idaeus* (viz obr. 9,10 a 11).



Obrázek 9: Genotoxicita malinového přípravku (REP) proti buňkám Caco-2
(Nowak et al. 2017)



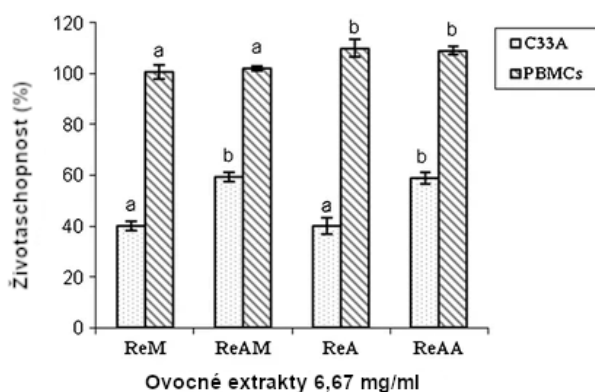
Obrázek 10: Genotoxicita sanguinu H-6 (SH-6) proti buňkám Caco-2
(Nowak et al. 2017)



Obrázek 11: Genotoxicita lambertianinu C (LC) proti buňkám Caco-2
(Nowak et al. 2017)

Tito autoři ukázali, že přípravek malinového elagitanninu (REP) a hlavní individuální elagitanniny malin (sanguin H-6 a lambertianin C) vykazovaly vysokou genotoxicitu proti lidské buněčné linii adenokarcinomu tlustého střeva Caco-2. Genotoxicita se zvyšovala v závislosti na dávce, ale pouze do určité koncentrace, která byla 53,4 mol/l pro sanguin H-6, 80 µg/ml pro REP a 189 mol/l pro lambertianin C.

Byla studována také antiproliferativní aktivita extraktů himálajských žlutých malin (*R. ellipticus*) (viz obr. 12) (Saini et al. 2012).



Obrázek 12: Antiproliferativní účinky extraktů ReM (s methanolem), ReAM (s kyselým metanolem), ReA (s acetonem) a ReAA (s kyselým acetonem) proti buňkám rakoviny děložního čípku C33A a PBMCs zdravého jedince

(Saini et al. 2012)

Extrakty používající 80% vodná rozpouštědla obsahující methanol, kyselý methanol, aceton a kyselý aceton byly testovány na dvou lidských buněčných liniích karcinomu děložního čípku (C33A a PBMCs). Extrakt ukázal silnou antiproliferativní aktivitu proti buněčné lince C33A. Naopak nebyla pozorována žádná inhibiční aktivita proti buněčné linii PBMCs. Pozorovaná antiproliferativní aktivita byla spojena s vysokými hladinami kyseliny gallové a elagové v extraktech malin *R. ellipticus*.

Byl testován také chemoprevenční účinek malin *R. coreanus* (Kim et al. 2012). Byly zhodnoceny účinky vodných extraktů nezralého a zralého ovoce a 50 % ethanolových extraktů nezralého a zralého ovoce na růst prostatických buněk rakoviny DU145 a LNCaP. Ethanolový extrakt z nezralého ovoce vykazoval nejvyšší účinnost při snižování životaschopnosti buněk. Extrakt snížil počet proliferujících buněk a efekt se jevil jako závislý na dávce. Extrakt z nezralých malin *R. coreanus* také prokázal významné inhibiční účinky na migraci buněk, invazi, aktivity matrixových metaloproteináz a snížení metastatického potenciálu. Kim, Lee a Kim 2014 pozorovali tyto účinky na buňkách rakoviny prostaty PC-3 a DU 145, které byly ošetřeny ethanolovým extraktem (100 mg/ml) z nezralých malin *R. coreanus* a navrhovali, že tyto výsledky jsou spojeny s kyselinou protokatechovou, kyselinou skořicovou, kyselinou ferulovou, kyselinou vanilovou a epikatechinem, které byly ve vyšších koncentracích v nezralém než v zralém ovoci.

Pozorované chemoprevenční vlastnosti jsou také spojeny s antioxidanty malin *Rubus* a ostružin, zejména polyfenoly. Chemoterapeutická aktivita těchto látek může být spojena s jejich schopností inaktivovat reaktivní kyslíkové druhy, které se účastní iniciace a progresu rakoviny snížením oxidačního poškození DNA a zvýšením opravy DNA (Nowak et al. 2017; Turrini, Ferruzzi a Fimognari 2015).

3 Chemický profil látek

3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Maliny a ostružiny mají vysoký obsah vody, jak je uvedeno v tabulce 7. Hodnoty TSS (celkové rozpustné pevné látky) souvisejí s biosyntézou rozpustných cukrů během zrání po hydrolýze škrobu.

Tabulka 7: Fyzikálně-chemické vlastnosti TA (celková kyselost) a TSS (celkové rozpustné pevné látky) malin a ostružin

(Schulz 2019)

Druh	Sušina (%)	TSS (°Brix)	TA (% kyselina citronová)	pH	Popel (g/100 g dm)	Země sběru vzorku
<i>R. idaeus</i>	10,7-23,3	8,3-14,7	1,6-2,8	2,8-3,0	2,20	Turecko; Brazílie; Itálie; Norsko; Japonsko; Jižní Korea
<i>R. ellipticus</i>	33,6	-	-	-	3,00	Pákistán
<i>R. niveus</i>	21,4	-	-	-	4,00	Pákistán
<i>R. coreanus</i>	13,8	13,1	-	3,50	-	Jižní Korea
<i>R. occidentalis</i>	-	7,9-10,4	1,0-1,6	-	-	USA
<i>R. ulmifolius</i>	12,1-28,8	8,0-12,5	0,10	3,3-3,7	3,40	Pákistán; Španělsko; Itálie; Brazílie
<i>R. fruticosus</i>	10,6-15,0	5,5-16,2	0,5-1,4	3,3-3,7	-	Francie; Argentina; Jižní Korea; Turecko
<i>R. adenotrichus</i>	14,9-18,5	6,4-12,0	2,70	2,2-2,8	3,1-3,5	Kostarika
<i>R. glaucus</i>	16,5	9,6-10,2	2,5-3,8	2,3-3,0	-	Ekvádor

3.2 Nutričně významné složky

Při měření obsahu cukru malin (*R. idaeus*) a ostružin (*R. fruticosus*) byla u malin pozorována převaha glukózy, následovaná fruktózou a sacharózou. Naopak u ostružin převládala fruktóza, následovaná glukózou a sacharózou, o čem svědčí tabulka 8. Plody malin a ostružin obsahují vysoké hladiny živin, zejména minerálů, vitaminů a cukrů, stejně jako fytochemické sloučeniny, zejména fenolické sloučeniny – fenolické kyseliny, flavonoidy jako anthokyaniny a flavonoly a taniny (Schulz 2019)

Rostliny rodu *Rubus* syntetizují různé léčivě účinné fytochemikálie, ale většina z nich jsou deriváty alkaloidů, fenolů, terpenoidů a glykosidů. Fenoly jsou biochemickým motivem neaktivnějším v rostlinách rodu *Rubus* pro etnomedicinální aplikace. Fenoly *Rubusu* zahrnují flavonoidy, silné in vitro antioxidanty, včetně sloučenin jako jsou flavony, isoflavony, flavanonové, katechiny a červené, modré a fialové pigmenty známé jako anthokyaniny. Trísloviny, přítomné v *Rubusových* stoncích a listech, mají stahující vlastnosti. (Hummer 2010)

Tabulka 8: Nutriční kompozice malin a ostružin

(Schulz 2019)

Nutriční složení	<i>R. idaeus</i>	<i>R. ellipticus</i>	<i>R. niveus</i>	<i>R. coreanus</i>	<i>R. ulmifolius</i>	<i>R. fruticosus</i>	<i>R. adenotrichus</i>	<i>R. glaucus</i>
Hrubý protein (% dm)	8,8	4,4	3,3	-	6,6	-	5,9	-
Sacharidy (% dm)	86,6	86,4	85,3	-	83,6	-	-	-
Fruktóza (mg/g fw)	31,5-32,2	-	-	QD	31,6	76,1	15,5	-
Glukóza (mg/g fw)	24,3-38,3	-	-	QD	23,2	64,5	17,4	-
Sacharóza (mg/g fw)	6,9-9,1	-	-	QD	-	3,0	-	-
Dietní vláknina (% dm)	50,9	-	-	-	-	44,2	43,2-55	-
Lipidy (% dm)	2,4	27,0	1,1	-	4,7	-	-	-
Linolová kyselina (% z celkových lipidů)	42,2-52,6	-	0,8	-	48,6	-	-	-
Linolenová kyselina (% z celkových lipidů)	17,8-24,1	-	0,8	-	13,2	-	-	-
Olejevá kyselina (% z celkových lipidů)	11,3-16,4	-	-	-	22,6	-	-	-
Palmitová kyselina (% z celkových lipidů)	4,9-8,3	-	0,9	-	7,0	-	-	-
β-karoten (μg/g)	7,3-28,9	990,0	17,2-51,6	-	-	-	-	91,8
Tokferoly (mg/100 g dm)	14,0-36,0	-	-	-	54,2	-	-	-
Draslík (mg/100 g dm)	1,03-11,2	6,8	7,2	-	8,6-15,4	8,9	-	-
Vápník (mg/100 g dm)	7,7-200	450,0	390,0	-	433-621	193,0	-	-
Hořčík (mg/100 g dm)	12,2-159	199,0	179,0	-	149-707	151,0	-	-
Železo (mg/100 g dm)	7,1-11,2	4,2	3,3	-	22,0	5,9	-	-
Zinek (mg/100 g dm)	2,3-3,2	12,8	8,1	-	17,5	2,3	-	-
Mangan (mg/100 g dm)	1,6	1,9	-	-	1,4	-	-	-
Kyselina askorbová (mg/100 g dm)	92,2	19,8	10,2	-	7,4-10,6	7,1-9,6	-	10,1

I když je vývoj sladkosti důležitý, kyselost také ovlivňuje celkovou chuť ovoce, což pomáhá zajistit žádoucí cukr-kyselinovou rovnováhu nezbytnou pro příjemnou chuť. Celková kyselost a pH jsou také podobné u malin a ostružin. Kyselost ovoce je způsobena přítomností organických kyselin, kdy u druhů *Rubus* jsou nejvýznamnější kyselina citronová, jablečná, kyselina šťavelová a kyselina jablečná. V porovnání s jiným ovocem měly bobule rodu *Rubus* obecně vyšší kyselost než ovoce jako jahody, borůvky, třešně (0,86, 0,58 a 0,55 % kyseliny citronové, odpovídající), mandarinky (0,46–0,65 % kyseliny citronové) a hodnoty nižší

než citron (5,2–6,1 % kyseliny citronové). Variace ve fyzikálně-chemických charakteristikách pozorovaných u bobulí rodu *Rubus* mohou být spojeny s několika faktory, jako jsou počasí, půdní podmínky, umístění plodu na rostlině, sluneční expozice, kultivar, doba sklizně, zralost, stejně jako zpracování po sklizni. Geografický původ ovoce má významný vliv na jejich fyzikálně-chemické charakteristiky. Ovoce z různých zemí prokázalo velké rozdíly v obsahu vlhkosti a v obsahu celkových rozpustných pevných látek (Schulz 2019).

3.2.1 Proteiny

Ovoce nejsou dobrým zdrojem proteinů. Nicméně obecně jsou bobule lepším zdrojem než ostatní ovoce. Ostatní ovoce, jako jsou jablko, ananas a švestky, mají obsah bílkovin nižší (Hui et al. 2010).

3.2.2 Tuky

Maliny a ostružiny jsou chudé na tuky. V jedné studii (Ahmad et al. 2015) byly analyzovány vzorky ostružin a různých druhů malin. U žlutá maliny (*R. ellipticus*) a červené maliny (*R. idaeus*) bylo stanovení kolem 2,5 % celkových tuků v sušině, zatímco u maliny křovité (*R. niveus*) bylo 1,1 % sušiny. U ostružin byly zaznamenány vyšší hodnoty u *R. ulmifolius*, 4,7 % sušiny.

Ovoce jako pomeranč, jablko, banán, ananas, švestka, meruňka a papája má nižší obsah tuků (1–1,5 % sušiny) než tyto bobule, s výjimkou avokáda (21 % sušiny) (Hui et al. 2010).

Je důležité zmínit, že množství semen u bobulí rodu *Rubus* může výrazně ovlivnit zdánlivý obsah tuků, a to může také vysvětlit rozdíly v obsahu nalezené mezi studii (Van Hoed et al. 2009).

Z dat v tabulce 8 je patrné, že u červené maliny (*R. idaeus*) byla převaha nenasycených mastných kyselin, jako je kyselina linolová, linolenová a olejová s hodnotami 42,2–52,6, 17,8 až 24,1 a 11,3–16,4 % z celkového obsahu tuku, v pořadí. Na druhé straně hodnoty kyseliny palmitové u této druhu se pohybovaly od 4,9 do 8,3 % z celkového obsahu tuku. U ostružin *R. ulmifolius* bylo pořadí následující: linoleová (48,6 %), olejová (22,6 %), linolenová (13,2 %) a palmitová (7 %). Převažující mastné kyseliny u maliny křovité (*R. niveus*) byly palmitová (36,8 %), linolenová (30,1 %), linoleová (29,3 %) a kyseliny stearová (5,4 %). Pro černou malinu *R. coreanus* byla převažující kyselina linolová. Klimatické a nutriční faktory mohou souviset s koncentracemi tuků ve plodech, kde maximální průměrná teplota se ukázala jako nejdůležitější proměnná. Plody pěstované na lokalitách s vyššími teplotami měly nižší obsah 18uhlíkatých mastných kyselin a vyšší koncentrace 16uhlíkatých mastných kyselin. Také když se zvýšily hladiny N a Mg v mezokarpu, klesaly hladiny kyseliny palmitové a palmitoolejové. Kromě mastných kyselin byly pozorovány i další liposolubilní složky, jako jsou karotenoidy a tokoferoly. Koncentrace karotenoidů v bobulích rodu

Rubus byly mnohem nižší než u potravin rostlinného původu, které jsou považovány za dobré zdroje těchto látek, jako jsou mrkev, mango, meruňka a rajčata (Schulz 2019). Spektrofotometricky byly stanoveny (Oomah et al. 2000) konjugované dienové a trienové kyseliny, jak popisuje tabulka 9. Semena byla sušena na vzduchu v sušičce, následně byla rozemleta a olej z mletých vzorků byl extrahován pomocí hexanu. Rozpouštědlo bylo odstraněno vakuovou filtrací a vzorek byl dále extrahován ještě dvakrát. Nakonec byl vzorek ještě pročištěn dusíkem.

Tabulka 9: Obsah mastných kyselin v malinovém oleji

(Oomah et al. 2000)

Mastná kyselina	Složení (hmotnost %)			
	Surový olej	Neutrální lipid	Volná mastná kyselina	Fosfolipid
Frakce (%)		93,7±2,0	3,5±1,13	2,7±3,1
C16:0	2,69±0,14	2,68	10,46	10,92
C18:0	0,97±0,01	1,02	1,26	–
C18:1	11,99±0,01	12,11	26,62	19,24
C18:2	54,52±0,10	55,12	47,28	63,55
C18:3	29,11±0,05	28,74	14,35	6,29

Malinový olej byl nejbohatší na kyselinu linolovou, α -linolenovou a olejovou, které dohromady tvořily 96 % celkového obsahu mastných kyselin. Obsahem mastných kyselin se tedy blíže podobá například oleji z růže šípkové (Oomah et al. 2000).

3.2.3 Sacharidy

Po vodě jsou sacharidy hlavní složkou bobulí rodu *Rubus*, obvykle měřené jako rozdíl od ostatních složek analýzy hrubého složení. Hodnoty 85,3–86,6 % v sušině byly popsány pro maliny *R. ellipticus*, *R. niveus* a *R. idaeus*. Podobný obsah sacharidů byl nalezen u ostružin *R. ulmifolius* (83,6 % sušiny) (Ahmad et al. 2015).

Tyto hodnoty jsou podobné těm, které jsou popsány pro nejčastěji konzumované ovoce, které má obsah sacharidů v rozmezí 80 až 90 % sušiny (Hui et al., 2010).

Hodnoty vlákniny v potravě jsou také podobné mezi druhy bobulí rodu *Rubus*. U ostružin *R. adenotrichus* se hodnoty pohybují kolem 43,2–55,0 % v sušině, zatímco u ostružin *R. fruticosus* bylo zjištěno 44,2 % v sušině. U červených malin (*R. idaeus*) zjistili hodnotu vlákniny v potravě 50,9 % sušiny. Hodnoty vlákniny v potravě jsou přibližně 15 % sušiny u jiných druhů ovoce, jako jsou jahody, borůvky, třešně (Schulz 2019), banány, jablka a pomeranče (Hui et al. 2010)

3.2.4 Minerální látky

Ovoce ostružin *Rubus* lze považovat za důležitý zdroj minerálů v potravě. Hodnoty popela se pohybovaly od 2,2 do 4,0 g/100 g (Schulz 2019), přičemž byly hojnější u horských ostružin (*R. niveus*) a méně hojnější u červených ostružin (*R. idaeus*). Významné minerály v ovoce ostružin jsou draslík, vápník, hořčík, železo, zinek a mangan.

Ostružina *R. ulmifolius* měla nejvyšší obsah draslíku (15,4 mg/g sušiny), vápníku (620 mg/100 g sušiny), hořčíku (707 mg/100 g sušiny) a zinku (17,5 mg/100 g sušiny), zatímco nejvyšší hladiny železa (9,3 mg/100 g sušiny) byly hlášeny u ostružiny *R. idaeus* (7,1–11,2 mg/100 g sušiny). Pokud jde o mangan, ostružina *R. ellipticus* měla nejvyšší obsah (1,9 mg/100 g sušiny). Ve srovnání s ostatním ovocem jsou úrovně vápníku, hořčíku, zinku a železa vyšší, protože jiné ovoce (jablko, hrozny, banán, ananas, hruška, švestka, broskev a třešně) má nižší hladiny (<100 mg/100 g sušiny pro vápník a hořčík; <2 mg/100 g sušiny pro zinek a železo). Úrovně draslíku byly také vysoké, protože jsou podobné obsahu banánu (14,3 mg/g sušiny), ovoce, které je považováno za důležitý zdroj tohoto minerálu (Hui et al., 2010).

Prvky jako mangan mají nízkou pohyblivost, zatímco železo, měď a zinek jsou prvky s proměnlivou nebo podmíněnou pohyblivostí, která závisí na druhu rostliny, environmentálním vlivu a fázi růstu. Variace jsou také spojeny s pohyblivostí prvků ve floému a jejich tendencemi k translokaci (Schulz 2019).

Variace v koncentraci minerálů v ovoci lze přičítat rozdílům souvisejícím s druhy, odrůdami, půdou, výživou rostlin a klimatickými podmínkami. Například v teplých oblastech jsou půdy obvykle zásadité, zatímco v subtropických/tropických oblastech jsou obvykle kyselé, s nízkými hladinami fosforu, vápníku, draslíku a hořčíku a vysokým obsahem manganu a železa (De Souza et al., Taiz & Zeiger 2009).

3.2.5 Kyselina askorbová

Jedná se o další velmi významný mikronutrient, který plody rodu *Rubus* obsahují. Jak už bylo uvedeno v tabulce o nutričním profilu látek malin a ostružin, obsah kyseliny askorbové dosahuje hodnot 92,2 a 19,8 mg/100 g ovoce pro maliny *R. idaeus* a *R. ellipticus*, zatímco maliny *R. niveus* a *R. ulmifolius*, *R. fruticosus* a *R. glaucus* měly hodnoty kolem 10 mg/100 g světlé hmoty. U jiného ovoce, jako jsou pomeranče,

marakuja, kiwi, ananas, jahody, hrozny a meruňky, se hodnoty kyseliny askorbové pohybují mezi 10 a 75 mg/100 g hmoty (Hui et al., 2010).

Období sklizně je jedním z environmentálních faktorů ovlivňujících obsah kyseliny askorbové v bobulích. Plody sklizené na jaře mohou mít vyšší obsah kyseliny askorbové než ty sklizené v zimě, protože je větší dostupnost cukru jako prekurzorů syntézy askorbové kyseliny. Intenzita světla také zvyšuje produkci cukru a tím může zvýšit syntézu kyseliny askorbové, zatímco vyšší teploty během dne a noci snižují obsah kyseliny askorbové (Schulz 2019).

3.2.6 Polyfenolické látky

Fenolické sloučeniny jsou sekundární metabolity, které mají v rostlinách několik funkcí, jako je přitahování opylovačů, pigmentace rostlin, antioxidační aktivita a ochrana před UV zářením. Koncentrace těchto sloučenin ve plodech mohou být indukovány mnoha faktory, včetně druhu, odrůdy, stupně zralosti, půdy a klimatu. Tyto faktory pomáhají vysvětlit rozdíly v koncentracích fenolů nalezených mezi různými zkoumanými druhy. Kromě toho mohou půdní a klimatické podmínky různých lokalit pro sběr ovoce také pomoci vysvětlit různé koncentrace fenolů ve stejných druzích bobulovin *Rubus* (Taiz & Zeiger, 2009).

Maliny, odvozené z různých kultivarů, jsou bohaté na fenolické sloučeniny, hlavně anthokyaniny a elagitaniny. Další fenoly, jako jsou flavonoidy a fenolické kyseliny, včetně volné kyseliny ellagové, se vyskytují v podstatně nižších koncentracích. Hlavní skupinou chemických složek malin jsou elagitaninové konjugáty nazvané elagitaniny. Charakteristickým a převažujícím elagitaninem v malinách rodu *Rubus* je dimerický HHDP (kyselina hexahydroxydifenová) nazývaný sanguin H-6, který je doprovázen tetramerním HHDP nazývaným lambertianin D (Krauze-Baranowska 2014).

Maliny a ostružiny jsou uznávány jako dobré zdroje fenolických látek, což je popsáno v tabulce 10. Celkové množství fenolů bylo zjištěno v rozmezí od 142 do 758 mg ekvivalentů kyseliny gallové (GAE) / 100 g ovoce. Mezi ostružinami měly *R. fruticosus* a *R. ulmifolius* nejvyšší koncentrace (hodnoty až 758 a 607 mg GAE/100 g svěží váhy. U malin byly nejvyšší úrovně pozorovány u *R. idaeus* a *R. occidentalis* s maximálními hodnotami kolem 500 mg GAE/100 g ovoce.

Anthokyaniny jsou důležité fenolické sloučeniny v malinách a ostružinách rodu *Rubus*. Tyto sloučeniny jsou glykosylované flavonoidy a vodou rozpustné pigmenty, které poskytují odstíny modré, fialové, červené a růžové bobulovinám, což je důležité pro přitahování opylovačů a rozptylovačů semen. Syntéza anthokyaninů je indukována biotickými a abiotickými stresy a tyto faktory vedou k různým koncentracím a odlišným profilům anthokyaninů, protože jednotlivé typy mají odlišné role ve fyziologii rostlin (Chaves-Silva et al. 2018).

Tabulka 10: Celkový obsah fenolických látek (TPC) vyjádřených jako [mg ekvivalentů kys. gallové/100 g ovoce] a monomerických anthokyaninů (TMA) vyjádřených jako [mg ekvivalentů 3 - glukosid kyanidinu/100 g ovoce] v malinách a ostružinách

(Schulz 2019)

Druh	TPC	TMA	Země sběru vzorku
<i>R. idaeus</i>	142-553	14,7-49,4	Turecko; Brazílie; Itálie; Norsko; Japonsko; Jižní Korea
<i>R. occidentalis</i>	376-526	336	USA
<i>R. niveus</i>	292-315	6	Indie; Brazílie
<i>R. ellipticus</i>	256-328	0	Indie
<i>R. coreanus</i>	291	274	Jižní Korea
<i>R. fruticosus</i>	225-758	82,7-124	Srbsko; Japonsko; Itálie; Turecko; Argentina; Jižní Korea
<i>R. ulmifolius</i>	227-608	106-142	Španělsko; Itálie; Brazílie
<i>R. glaucus</i>	266-294	45	Ekvádor; Kolumbie

Mezi jednotlivými druhy jsou patrné odchylky v obsahu těchto látek. Červená malina (*R. idaeus*) měla nejvyšší koncentraci katechinu, epikatechinu a kyseliny kávové, zatímco quercetin a kaempferol byly vyšší u černé maliny (*R. coreanus*). Kyselina ellagová prokázala vyšší úroveň u ostružiny *R. glaucus* a kyselina gallová u žluté maliny (*R. ellipticus*). Pro malinovou šťávu bylo zjištěno, že přibližně třetina celkového obsahu fenolů zůstává v kalu. Celkový obsah flavonoidů a anthokyaninů byl také nižší ve šťávě, s poklesem asi o 32 a 54 % (Schulz 2019). Bylo pozorováno (Kim et al. 2011), že nezralé maliny *R. coreanus* obsahují více kyseliny skořicové, kyseliny ferulové, epikatechinu, kyseliny protokatechuové, kyseliny gallové a kyseliny vanilové ve srovnání s dozralými malinami *R. coreanus*.

3.3 Metody stanovení obsahových látek

Ke stanovení makro nutričních složek v ovoci a zelenině se hojně využívá metod chromatografie. HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie – viz kapitola 2.1.1) nachází uplatnění při stanovení obsahu sacharidů, jak dokazuje například studie (Muir et al. 2009), ve které byl stanoven obsah sacharidů v běžném

australském ovoci a zelenině. Minerální látky se stanovují především metodou AAS (atomová absorpční spektrometrie – viz kapitola 2.1.3), kterou použili například autoři Mohammadzai et al. 2010 pro stanovení minerálních látek (Na, Ca, Mg, K, Ni, Si, Co, Fe) v plodech datlovníku pravého. Celkový obsah fenolických látek lze stanovit metodou dle Folin-Ciocalteu, která je založena na přenosu elektronů z fenolických sloučenin do F-C činidla v alkalickém prostředí, což je velice jednoduchá a široce využívaná metoda. Příkladem využití je práce (Fu et al. 2011), ve které byl stanoven celkový obsah fenolických látek pro 62 ovocných plodů (viz kapitola antioxidační účinky).

Následující kapitola představí jednotlivé techniky obecně využívané ke stanovení obsahu látek v analytické chemii, zejména v rostlinných extraktech.

Chromatografie zahrnuje metody dělení směsí chemických látek, založené na mnohonásobném ustavování rovnováhy mezi fázemi. Podle separačního principu můžeme rozdělit chromatografické metody na adsorpční, rozdělovací, chemisorpční a metody založené na síťovém efektu. Z praktického hlediska je běžnější dělení chromatografických metod podle fází zúčastněných v separačním procesu. Z tohoto hlediska je dělíme na metody plynové a kapalinové chromatografie; podle uspořádání stacionární fáze rozlišujeme sloupcovou (kolonovou) chromatografii pracující v uzavřeném systému a chromatografické techniky v plošném uspořádání, pracující v otevřeném systému.

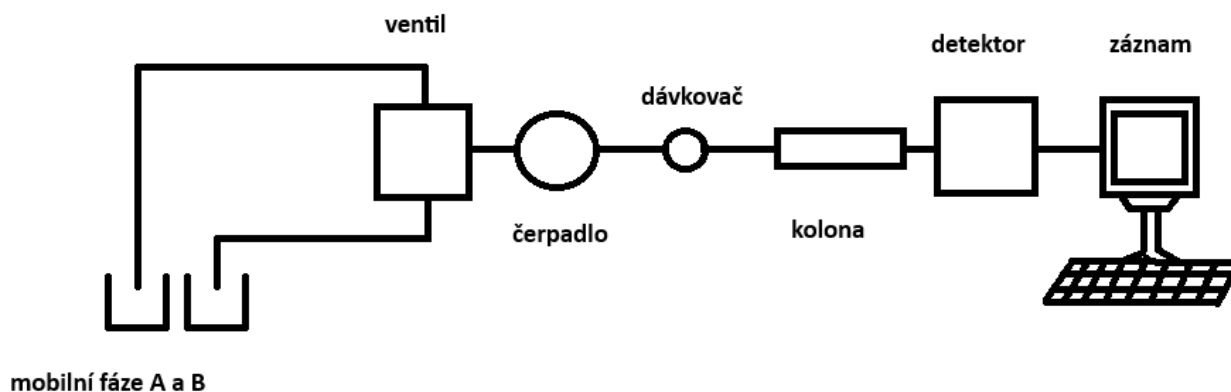
3.3.1 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Kapalinová chromatografie využívá několikanásobně opakované distribuce látek mezi kapalnou mobilní a zpravidla tuhou stacionární fází, při které dochází k migraci látky ve směsi různou rychlostí ve směru toku mobilní fáze a při průchodu chromatografickým prostředím tak dochází k jejich vzájemné separaci.

Separace každé chemické entity ze směsi vzorku v HPLC je založena na její specifické afinitě k adsorbentu v koloně nebo mobilní fázi, což způsobuje, že různé složky cestují různými rychlostmi a oddělují se. Separace pomocí HPLC závisí především na některých nastavitelných parametrech mobilní fáze, jako je polarita, průtoková rychlost, pH, složení; dále na typu a povaze stacionární fáze či teplotě, při které separace probíhá (Sahu 2018).

Nejrozšířenější technikou kapalinové chromatografie je tzv. vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography). Dříve byla nazývána jako vysokotlaká kapalinová chromatografie, protože využívá vysokotlaká čerpadla k rychlejší separaci (Sahu 2018).

HPLC byla technicky vyvinuta a začala být komerčně dostupná v 80. letech minulého století, kdy byly úspěšně vyřešeny techniky dávkování malých objemů vzorku, byly připraveny nové typy stacionárních fází s malými průměry částic, definovanými vlastnostmi a vysokou účinností a byly zkonstruovány průtočné detektory s malým objemem detekčních cel. Toto vše vedlo k prudkému rozmachu ve výzkumu teoretických základů kapalinové chromatografie i v jejím aplikačním nasazení v praxi. I v současnosti je vysokoúčinná kapalinová chromatografie jednou z nejvíce využívaných technik pro analýzu širokého spektra látek od jednoduchých molekul organických látek až po peptidy, bílkoviny a polymerní sloučeniny.



Obrázek 13: Základní schéma kapalinového chromatografu

Základní schéma přístroje pro kapalinovou chromatografii je uvedeno na obrázku 13. Jádrem kapalinového chromatografu je chromatografická kolona naplněná vhodnou stacionární fází. V současnosti nejpoužívanější kolony pro HPLC mají vnitřní průměr 2–4.6 mm a délku 50–250 mm a jsou plněny stacionárními fázemi sférického tvaru s průměrem 2–7 μm s malou distribucí velikosti částic, jíž protéká v jednom směru mobilní fáze obvykle rychlostí 0.5–5 ml/min. Vzhledem k malému průměru částic stacionární fáze je třeba mobilní fázi čerpat kolonou pomocí vhodných vysokotlakých čerpadel, umožňujících dosažení pracovních tlaků 30–60 MPa, někdy i více. Vedle těchto, tzv. analytických kolon, existují pro speciální aplikace i kolony s menšími průměry pro mikrochromatografii a kapilární kapalinovou chromatografii a na opačnou stranu jsou k dispozici i kolony pro tzv. preparativní kapalinovou chromatografii s průměry v

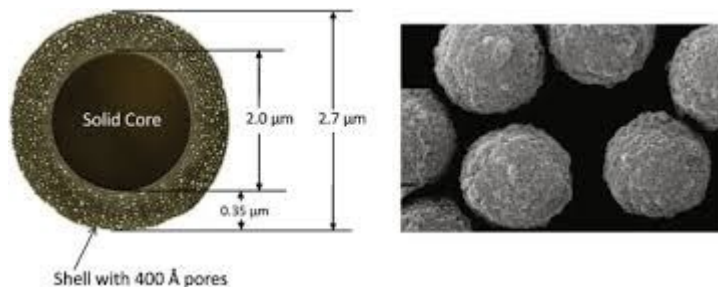
desítkách mm i více (obr. 14). Dále lze použít kolony plněné částicemi menšími než $2\ \mu\text{m}$, v tomto případě dosahují pracovní tlaky až $100\ \text{MPa}$ (UHPLC – Ultra High Performance Liquid Chromatography).



Obrázek 14: Kolony pro kapalinovou chromatografii

(<https://expresslabwerks.com/collections/hplc-columns?page=2>)

Částice stacionární fáze uvnitř kolony mají většinou jádro (matrici) na bázi silikagelu, méně často pro speciální aplikace na bázi oxidu hlinitého (alumina), oxidu zirkoničitého, uhlíku nebo organických polymerů. Matrice stacionární fáze je syntetizována jako totálně porézní s extrémně velkým povrchem řádově ve stovkách m^2 na $1\ \text{g}$ stacionární fáze. Vedle těchto, dnes již klasických stacionárních fází, se v současnosti uplatňují i tzv. povrchově porézní částice (obr. 15) s plným jádrem a porézní povrchovou vrstvou s celkovým průměrem částic do $5\ \mu\text{m}$, které umožňují účinnější separaci ve srovnání s totálně porézními částicemi stejného průměru.



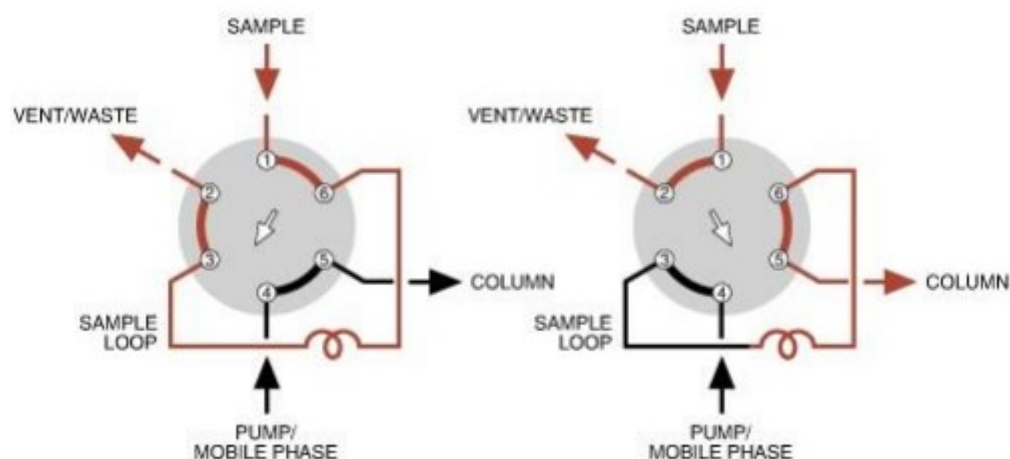
Obrázek 15: Povrchově porézní částice stacionární fáze

(WAGNER, Brian M., et al. Superficially porous silica particles with wide pores for biomacromolecular separations. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1264: 22-30.)

Na matici (nosič) je navázána vlastní stacionární fáze. K dispozici je celá škála typů stacionárních fází s různou polaritou od nepolárních stacionárních fází až po stacionární fáze s iontovými skupinami pro iontově-výměnnou chromatografii. V současnosti je stacionární fáze na matici navázána kovalentní vazbou, hovoříme o tzv. chemicky vázaných stacionárních fázích. Volbou vhodné funkční skupiny reagujícího silanizačního činidla lze připravit různé typy stacionárních fází, které využívají k separaci látek různé mechanismy (Van der Waalsovy síly, proton donorové, proton akceptorové, dipól-dipólové atd.).

Je-li stacionární fáze polárnější než fáze mobilní, mluvíme o systémech s normálními fázemi, v opačném případě jde o systémy s obrácenými fázemi. Jako náplň kolon lze použít i měniče iontů (iontově – výměnná chromatografie) nebo organické či anorganické materiály s definovanými rozměry pórů uvnitř částic při tzv. gelové chromatografii (chromatografie sterické výluky).

Nedílnou součástí kapalinového chromatografu je zařízení, umožňující vnesení vzorku analyzovaných látek do toku mobilní fáze. Pokud je dávkování prováděno ručně, hovoříme o dávkovači, pokud je chromatograf vybaven automatickým (často i robotizovaným) dávkovačem řízeným počítačem, hovoříme o tzv. autosampleru. Na tato zařízení jsou kladeny vysoké mechanické nároky, neboť musí umožňovat reprodukovatelné zavádění malého objemu vzorku (3–20 μl , někdy i méně) do systému při tlacích dosahujících v současnosti i 100 MPa. Nejpoužívanějším dávkovacím systémem je tzv. šesticestný dávkovací ventil (viz obr. 16) s externí výměnnou smyčkou umožňující beztlaké zavádění (plnění dávkovací smyčky) vzorku.



Obrázek 16:Šesticestný dávkovací ventil – poloha LOAD (vlevo) a poloha INJECT (vpravo)

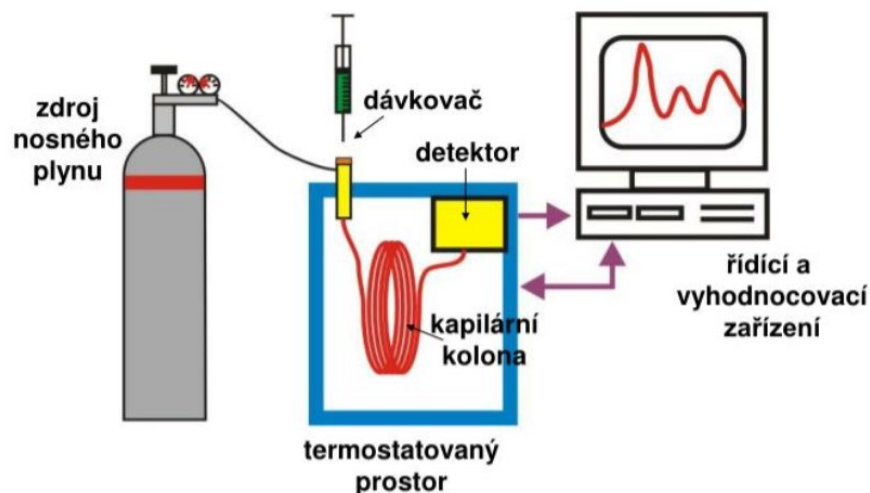
(retenční mechanismy – Jiří Urban, Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno)

Mobilní fáze odtékající z kolony a obsahující rozseparované látky (tzv. eluát) je zaváděna do detektoru, který na základě různých fyzikálně-chemických principů detekuje jednotlivé látky. Detekční principy mohou být založeny např. na měření optických vlastností separovaných látek (absorpce UV/VIS záření, fluorescence, index lomu), elektrochemických vlastností (vodivost, oxidačně-redukční vlastnosti látek) nebo na záznamu hmotnostních spekter separovaných látek. Hlavní požadavky kladené na detektory jsou vysoká citlivost detekce, malý objem detekční cely, vysoká rychlost odezvy a maximální univerzálnost při zachování přijatelné ceny. Kompromisem mezi těmito velice protichůdnými požadavky je spektrofotometrický detektor, který měří rozdíl absorpce UV/VIS záření mezi čistou mobilní fází a eluátem s analyzovanou látkou. Záznam z detektoru ve formě závislosti signálu na čase (např. absorbance v případě UV/VIS detektoru) se nazývá chromatogram. Z polohy maxima elučnicích vln (píků) na chromatogramu (retenční objem, retenční čas), které je charakteristické pro určitou strukturu analyzované látky v daném chromatografickém systému, usuzujeme na přítomnost určitých látek (kvalita), z výšek píků či z ploch pod píky lze kvantitativně vyhodnotit obsah dané látky v analyzované směsi.

3.3.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie se liší od jiných druhů chromatografie pouze v tom, že mobilní fází je nosný plyn a látky se dělí ve stavu plynném. Při rozdělovací chromatografii v systému plyn – kapalina (Gas-Liquid Chromatography, GLC) se látky dělí mezi nosným plynem a stacionární kapalnou fází, zakotvenou na tuhém nosiči. V chromatografickém systému plyn – tuhá látka (Gas-Solid Chromatography, GSC) se látky dělí mezi nosný plyn a tuhý sorbent.

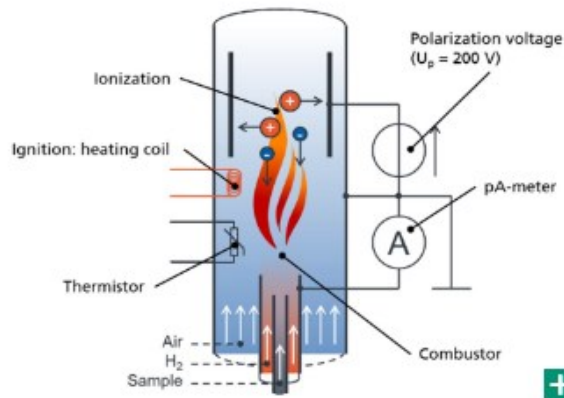
Kapalný nebo plynný vzorek obsahující dělené látky se nadávkuje do vyhřívaného prostoru, kde se ihned vypaří a je unášen proudem nosného plynu do chromatografické kolony umístěné v termostatu (obr. 17). Dělené látky se na počátku kolony zachytí na stacionární fázi (rozpouštějí se v zakotvené kapalně fázi nebo se adsorbují na tuhý sorbent) a poté se desorbují čistým nosným plynem. Stacionární fáze v obou případech působí selektivně na jednotlivé separované látky a na základě vzájemných interakcí dochází k zadržování jednotlivých složek v koloně. Látky, které se zadržují málo, vystupují z kolony nejdříve (nejkratší elučnicí časy). Látky silně zadržované vycházejí z kolony později nebo v ní zůstávají. Rozdělené složky jsou unášeny nosným plynem z kolony a jejich množství je zaznamenáno detektorem jako funkce.



Obrázek 17: Schéma plynového chromatografu

(<https://www.slideserve.com/grover/separa-n-metody-chromatografie>)

Hlavní součástí plynového chromatografu je chromatografická kolona obsahující vhodnou stacionární fázi, opatřená dávkovacím zařízením. Kolona je umístěna v termostatu a na výstupu je napojena na příslušný detektor. Jako příklady lze uvést plamenový ionizační detektor (FID) (obr. 18), detektor tepelně vodivostní (TCD) nebo detektor elektronového záchytu (ECD). V dnešní době je hojně využívaným hmotnostní spektrometr, jako detektor v plynové chromatografii. Funkce plamenového ionizačního detektoru spočívá v tom, že molekuly organických látek, které se dostanou do plamene, se v něm spalují za tvorby různých štěpných fragmentů iontové či radikálové povahy, které umožňují průchod proudu mezi elektrodami. Na elektrody je vloženo tzv. ionizační napětí a proud, který mezi nimi proteče (úměrný počtu prošlých fragmentů), je po zesílení registrován. Permanentní a vzácné plyny, plynné anorganické sloučeniny a několik organických látek (kyselina mravenčí, tetrachlormethan apod.) není možné tímto detektorem zaznamenat. Plamenový ionizační detektor je tedy pro organické látky téměř univerzální.



Obrázek 18: Plamenový ionizační detektor

(https://www.ikts.fraunhofer.de/en/departments/electronics_microsystems_biomedicine/hybrid_micro_systems/Microsystems_LTCCHTCC/Application_Sensors/miniaturized_ceramic_detectors_for_liquid_and_gas_chromatography.html)

3.3.3 Vyhodnocení chromatografických dat

Ke kvantifikaci chromatografického chování látek (jejich zadržování neboli retenci) v konkrétním separačním systému představovaném kombinací stacionární a mobilní fáze se v kapalinové chromatografii nejčastěji používá tzv. retenční faktor k , který charakterizuje míru retence dané látky ve vztahu k tzv. mrtvému objemu použité separační kolony.

$$k = \frac{V_R - V_M}{V_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

kde V_R , resp. t_R je eluční (retenční) objem (resp. čas) analyzované látky a V_M , resp. t_M je mrtvý objem (resp. čas) kolony, který reprezentuje objem kolony, který není vyplněn vlastní stacionární fází. Tento mrtvý objem se zjišťuje analýzou takové látky, která se v daném chromatografickém systému nezadržuje (má nulovou retenci).

Při identifikaci látek ve vzorku metodou srovnání elučních dat se postupuje tak, že se odečtou eluční časy, tj. vzdálenosti vrcholů jednotlivých látek od startu, a porovnají se s elučními časy standardních látek. Neznámá látka je identifikována, jestliže její eluční čas je shodný s elučním časem standardu. Pro určení mrtvého času kolony t_m , se analyzuje látka, která na koloně není vůbec zadržována. Redukovaný retenční čas t_r se vypočítá jako rozdíl retenčního času látky a mrtvého času kolony. Plocha chromatografického píku ohraničená křivkou a nulovou linií odpovídá koncentraci množství přítomné analyzované látky. Rozdělení látek může být dokonalé nebo nedokonalé a je vhodné tento stupeň kvantitativně vyjádřit. Rozlišení ($R_{1,2}$)

je pak nejpoužívanější vyjádření míry kvality separace dvou sousedních píků. Obecně je pak rozlišení definováno:

$$R_{1,2} = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{0,5(W_1 + W_2)} = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{1,18(W_{0,5;1} + W_{0,5;2})}$$

Kde t_r je redukovaný retenční čas, w je šířka píku při základní linii a $w_{0,5}$ je šířka píku v polovině jeho výšky. Pro vyjádření účinnosti kolony se používá počet teoretických pater (N). Vypočítá se ze šířky píku a retenčního času dle rovnice:

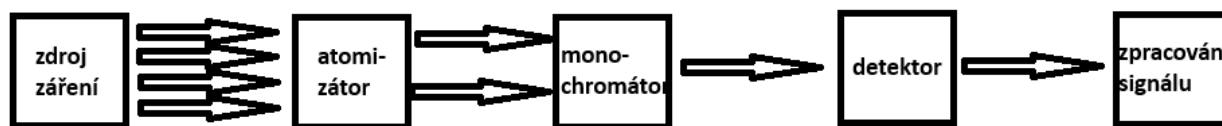
$$N = 16\left(\frac{t_r}{W}\right)^2 = 5,54\left(\frac{t_r}{W_{0,5}}\right)^2$$

3.3.4 Atomová absorpční spektrometrie (s atomizací v plameni)

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je založena na specifické absorpci monochromatického záření volnými atomy sledovaného prvku v základním elektronovém energetickém stavu. Energie pohlceného fotonu odpovídá přechodu valenčního elektronu ze základní energetické hladiny na některou vyšší. Atomová absorpční spektrometrie využívá jevu popsaného již v roce 1860 Kirchhoffem tj., že volné atomy v plynném stavu jsou schopny absorbovat záření těch vlnových délek, které by pokud by byly excitovány samy vyzařovaly.

Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou zhotovená z kovu, který se má stanovit (např. multikatodová lampa na obr. 20). Vzorek obsahující stanovovaný iont se přivádí do plamene jako aerosol. Zde se odpaří rozpouštědlo a vznikají volné atomy schopné absorbovat záření. Z absorpčního prostředí vstupuje záření výbojky do monochromátoru, kde se izoluje vhodná rezonanční čára, na které se sleduje absorpce. Intenzity toků na jednotlivých emisních čarách lze sledovat fotoelektrickým násobičem. Odečítaným signálem na stupnici je zpravidla absorbance.

Hlavními součástmi atomového absorpčního spektrometru jsou zdroj monochromatického záření, atomizátor (absorpční prostředí), monochromátor, detektor (fotonásobič) se zesilovačem a zařízení pro zpracování a záznam absorpčního signálu. Jednoduché schéma je uvedeno na obrázku 19.



Obrázek 19: Blokové schéma metody AAS



Obrázek 20: Multikatodová lampa fa Photron

(https://lampes-et-tubes.info/hc/PHOTRON_Lamps.pdf)

Metoda AAS je jako většina analytických metod metodou srovnávací. Vyhodnocování výsledků se provádí metodou kalibrační křivky sestavené proměřením absorbcí srovnávacích roztoků o známé koncentraci nebo metodou přidavku standardu. Složení srovnávacích roztoků by mělo co nejpřesněji odpovídat matici vzorku. Provádí-li se potom za stejných podmínek měření absorbcance analytu ve vzorku, jedná se o přímou úměrnost mezi absorbcí a koncentrací analytu ve vzorku. Lineární závislost však platí jen v oboru nízkých koncentrací, při vyšších hodnotách c se zakřivuje k ose koncentrací. K tomu dochází také v důsledku vlivů matrice (např. ovlivnění transportu vzorku do plamene) nebo změn teploty atomizátoru (Černohorský 1997).

3.3.5 Metody úpravy vzorku před analýzou

Příprava vzorků je kritickým krokem v analýze, a to je ještě významnější u reálných vzorků, kde složky matrice jsou biologicky aktivní a analyty představují různorodé spektrum četných sloučenin, z nichž mnohé mají neznámou identitu. Snahou je připravit vzorek extraktu, který je rovnoměrně obohacený o všechny

zajímavé komponenty bez rušivého vlivu matrice. Jedná se o sérii kroků, mezi které patří např.: sušení, spaření, mletí a jednoduché extrakce nebo filtrace (Antolovich et al. 2000).

Rostlinné vzorky, jako jsou listy, kůry, kořeny, plody a květy, lze extrahovat z čerstvého nebo sušeného rostlinného materiálu (preferovány jsou však většinou sušené vzorky). Důležitá je také předpříprava vzorku (mletí, sušení atd.). Zmenšení velikosti částic vzorku na méně než 0,5 mm mletím vede k lepšímu povrchovému kontaktu vzorku s rozpouštědlem, což umožňuje efektivní extrakci. K sušení vzorků se využívá např.: sušení vzduchem, mikrovlnné sušení, sušení v troubě a lyofilizace (Azwanida 2015).

K objasnění struktury a charakterizaci např. glykosidů se také využívá hydrolytických ošetření (kyselé, enzymatické, alkalické). Hydrolýza se také využívá k minimalizaci interferencí v následujících chromatografiích, což vede ke zjednodušení chromatografických dat (Antolovich et al. 2000).

Léčivé i jiné aktivní složky (alkaloidy, glykosidy, fenoly, terpenoidy a flavonoidy) se z rostlin oddělují pomocí extrakce. Cílem všech extrakcí je oddělit rozpustné rostlinné metabolity od nerozpustného buněčného zbytku (Azwanida 2015).

Ovoce tvoří přirozenou matici s vysokou enzymatickou aktivitou, a proto je nutné dbát mimořádné opatrnosti, aby se zajistila správná extrakce, která nevede k chemické modifikaci jako je například oxidace nebo izomerizace, které jsou při extrakcích stálým problémem. Také podmínky extrakce by měly být co možná nejšetrnější, aby se předešlo oxidaci, tepelnému rozkladu a dalším chemickým a biochemickým změnám ve vzorku. Přesný postup bude záležet na povaze vzorku (zejména na jeho fyzikálně – chemických vlastnostech) (Antolovich et al. 2000). Obecně se používá extrakce kapalina-kapalina nebo pevná látka-kapalina. Například k extrakci oleje z vysušených a namletých semen byla použita (Oomah et al. 2000) extrakce hexanem. Další široce využívanou technikou je macerace, která zahrnuje namáčení rostlinných materiálů v uzavřené nádobě s rozpouštědlem, které se pak nechají za častého míchání stát nejméně 3 dny při pokojové teplotě. Macerací dochází ke změkčení a narušení buněčných stěn v rostlině a uvolnění rozpustných fotochemikálií. Při Soxhletově extrakci je mletý vzorek umístěn do porézního sáčku nebo „patrony“ vyrobené z pevného filtračního papíru nebo celulózy. Zahříváním extrakčních rozpouštědel ve spodní baňce dochází k jejich odparu a styku s vzorkovou patronou, kondenzací v kondenzátoru a stékání zpět. Když kapalný obsah dosáhne odtokové trubice dojde k jeho vyprázdnění do spodní baňky a proces pokračuje. Oproti maceraci je využíváno méně rozpouštědla, ale nevýhodou jsou hořlavá rozpouštědla a potenciální toxické emise. Další je mikrovlnná extrakce (MAE), která využívá mikrovlnnou energii k usnadnění přechodu analytů ze vzorku do rozpouštědla. Záření interaguje s dipóly polárních a polarizovatelných materiálů a tím narušuje vodíkové vazby, což má za důsledek zkrácení doby extrakce. Zvýšit jak kontakt mezi vzorkem a rozpouštědlem tak i propustnost buněčných stěn lze ultrazvukovou

extrakcí (UAE), která zahrnuje použití ultrazvuku v rozmezí od 20 kHz do 2000 kHz. Méně využívanou metodou je superkritická fluidní extrakce (SFE). Superkritická tekutina se chová spíše jako plyn, ale má rozpouštěcí vlastnosti kapaliny. Využívá se například superkritického oxidu uhličitého při teplotě nad 31,1 °C a tlaku 7380 kPa. Výhodou jsou vynikající rozpouštěcí vlastnosti pro nepolární analyty, ale nevýhodou pak vysoké počáteční náklady na vybavení (Azwanida 2015). K přečištění kapalných vzorků/extraktů slouží také extrakce na pevné fázi (SPE).

4 Závěr

Maliny a ostružiny z rodu *Rubus* jsou bohatými zdroji významných chemických látek jako jsou minerální látky (K, Ca, Mg, Fe, Zn a Mn), kyselina askorbová, karotenoidy a fenolické látky (zejména anthokyaniny, další flavonoidy a fenolické kyseliny). Faktem je, že obsah látek je individuální pro jednotlivé druhy, ale obecně platí, že ostružiny *Rubus ulmifolius* a *R. fruticosus*, stejně jako malina *R. idaeus*, vykazují vysoké hladiny živin a fenolických látek. Ukázalo se také, že mají vysokou nutriční hodnotu a příznivé zdravotní účinky, jako jsou antioxidační, protizánětlivé, chemoprevenční a antimikrobiální účinky. Jako účinnější se ukázaly nezralé plody, což nabízí možnost využití těchto plodů pro vývoj přírodních léčiv.

5 Seznam použitých zdrojů

- AHMAD, M., MASOOD, S., SULTANA, S., HADDA, T. B., BADER, A., & ZAFAR, M. Antioxidant and nutraceutical value of wild medicinal *Rubus* berries. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015. 28(1), 241–247. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Ammar_Bader/publication/269465257_Antioxidant_and_nutraceutical_value_of_wild_medicinal_Rubus_berries/links/54909b700cf2d1800d87a5be.pdf.
- ANTOLOVICH, Michael, et al. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst*, 2000, 125.5: 989-1009.
- AZOFEIFA, G., QUESADA, S., NAVARRO, L., HIDALGO, O., PORTET, K., PÉREZ, A. M., et al. Hypoglycaemic, hypolipidaemic and antioxidant effects of blackberry beverage consumption in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods*. 2016, 26, 330–337. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.007>.
- AZWANIDA, N. N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 2015, 4.196: 2167-0412.
- BAEK, E. Y., LEE, S. M., LEE, J. E., PARK, E., KIM, Y., JUNG, I. K., et al. Effect of *Rubus coreanus* Miquel on prostate tumour growth. *Journal of Functional Foods*. 2013, 5(3), 1478–1486. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.06.005>.
- BEEKWILDER, Jules; HALL, Robert D.; DE VOS, C. H. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *Biofactors*, 2005, 23.4: 197-205.
- BOWEN-FORBES, C. S., ZHANG, Y., & NAIR, M. G. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2010, 23(6), 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.012>.
- BRINKMAN, K. *Rubus* L. Blackberry, raspberry. IN: Schopmeyer, C.S. Seeds of woody plants in the United States. USDA, Forest Service, Washington, D.C. Agriculture Handbook 450. 1964, 833.
- ČERNOHORSKÝ T., JANDERA P.: Atomová spektroskopie. 1. vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1997. 218 s. ISBN: 80-7194-114- X.
- CHAVES-SILVA, S., SANTOS, A. L. D., CHALFUN-JÚNIOR, A., ZHAO, J., PERES, L. E. P., & BENEDITO, V. A. Understanding the genetic regulation of anthocyanin biosynthesis in plants – tools for breeding purple varieties of fruits and vegetables. *Phytochemistry*. 2018, 153, 11–27. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.013>.
- DE SOUZA, V. R., PEREIRA, P. A. P., DA SILVA, T. L. T., LIMA, L. C. DE O., PIO, R., & QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry, and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*. 2014, 156, 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>.
- ELLIS, C. L., EDIRISINGHE, I., KAPPAGODA, T., & BURTON-FREEMAN, B. Attenuation of meal-induced inflammatory and thrombotic responses in overweight men and women after 6week daily

- strawberry (*Fragaria*) intake. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2011, 18(4), 318–327. <https://doi.org/10.5551/jat.6114>.
- ELOFF, Jacobus Nicolaas. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC complementary and alternative medicine*, 2019, 19: 1-8.
- FRIEDMAN, M. Chemistry, antimicrobial mechanisms, and antibiotic activities of cinnamaldehyde against pathogenic bacteria in animal feeds and human foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017, 65(48), 10406–10423. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344>.
- FU, Li, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food chemistry*, 2011, 129.2: 345-350.
- GIOVINAZZO, G., & GRIECO, F. Functional properties of grape and wine polyphenols. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2015, 70(4), 454–462. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0518-1>.
- GREEN, A. Soft fruits. In: Hulme AC (ed). New York: Academic Press. *The Biochemistry of Fruits and their Products*, 1971. 2: 375-410.
- HAFFNER, Karin, et al. Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 2002, 24.3: 279-289.
- HAJAJI, S., JABRI, M. A., SIFAOU, I., LÓPEZ-ARENCEBIA, A., REYES-BATLLE, M., B'CHIR, F., et al. Amoebicidal, antimicrobial and in vitro ROS scavenging activities of Tunisian *Rubus ulmifolius* Schott, methanolic extract. *Experimental Parasitology*. 2017, 183, 224–230. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.09.013>.
- HIDALGO, G.-I., & ALMAJANO, M. P. Red fruits: Extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. *Antioxidants*. 2017, 6, 1–27. <https://doi.org/10.3390/antiox6010007>.
- HSIEH, Y. S., CHU, S. C., HSU, L. S., CHEN, K. S., LAI, M. T., YEH, C. H., et al. *Rubus idaeus* L. reverses epithelial-to-mesenchymal transition and suppresses cell invasion and protease activities by targeting ERK1/2 and FAK pathways in human lung cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. 2013, 62, 908–918. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.021>.
- HUMMER, Kim E. *Rubus* pharmacology: antiquity to the present. *HortScience*, 2010, 45.11: 1587-1591.
- HUI, Y. H., BARTA, J., CANO, M. P., GUSEK, T. W., SIDHU, J. S., & SINHA, N. K. *Handbook of fruits and fruit processing*. 2010 Ames, IA, USA: Blackwell Publishing 978-0-8138-1981-5.
- ISPIRYAN, Audrone, et al. Correlation between Antimicrobial Activity Values and Total Phenolic Content/Antioxidant Activity in *Rubus idaeus* L. *Plants*, 2024, 13.4: 504.
- JEAN-GILLES, D., LI, L., MA, H., YUAN, T., CHICHESTER, C. O., & SEERAM, N. P. Anti-inflammatory effects of polyphenolic-enriched red raspberry extract in an antigen-induced arthritis rat model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, 60(23), 5755–5762. <https://doi.org/10.1021/jf203456w>.

- JOHNSON, D., L. KERSHAW, A. MACKINNON, J. POJAR. Plants of the Western Boreal Forest and Aspen Parkland. Lone Pine Publishing and the Canadian Forest Service. Edmonton, Alberta. 1995, 392.
- JOSEPH, S. V., EDIRISINGHE, I., & BURTON-FREEMAN, B. M. Berries: Anti-inflammatory effects in humans. *Journal of Berry Research*. 2014, 4(4), 231–240. <https://doi.org/10.3233/jbr-140092>.
- KAPLAN, M., MUTLU, E. A., BENNIS, M., UZUNANGIL, F., ENGIN, O., & KESHAVARZIAN, A. Dietary fructo-oligosaccharide and symbiotic supplementation improve barrier function and reduce colonic inflammation in a mouse model of colitis. *British Journal of Nutrition*. 2015, 114(5), 552–562. <https://doi.org/10.1017/S0007114515002130>.
- KIM, Yesi; LEE, Seung Min; KIM, Jung-Hyun. Unripe *Rubus coreanus* Miquel suppresses migration and invasion of human prostate cancer cells by reducing matrix metalloproteinase expression. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2014, 78.8: 1402-1411.
- KRAUZE-BARANOWSKA, M., et al. The antimicrobial activity of fruits from some cultivar varieties of *Rubus idaeus* and *Rubus occidentalis*. *Food & function*, 2014, 5.10: 2536-2541.
- KRÜGER, E., DIETRICH, H., HEINEMANN, R., & KAVALIERI, C. Cultivation and quality characteristics of new primocane fruiting red raspberry cultivars. *Acta Horticulturae*. 2011, 585, 507–510. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.585.75>.
- LEONG, Sylvia Y., et al. Chlorogenic acids in berries and berry products. *Food Chemistry*, 2017, 221: 489-496.
- LEE, Jung Eun, et al. Anti-inflammatory effects of *Rubus coreanus* Miquel through inhibition of NF-κB and MAP Kinase. *Nutrition research and practice*, 2014, 8.5: 501.
- MARINOVA, Desislava; RIBAROVA, Fany; ATANASSOVA, Milena. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 2005, 40.3: 255-260.
- MARTIN, Derek A., et al. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*, 2014, 8: 68-75.
- MAZUR, Robert. Značajke i pogodnosti kupine. *Hrana i prehrana*, 1997, 38.6: 333-336.
- MERTZ, Christian, et al. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of food composition and analysis*, 2009, 22.5: 381-387.
- MONDRAGON-JACOBO, C., & GALLEGOS-VEGA, G. *Rubus* species as an alternative crop for sustainable agricultural systems in the tropical highlands. In *Sustainable Horticulture in the Tropics*. 2011, 52-62. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9865-3_4.
- MUIR, Jane G., et al. Measurement of short-chain carbohydrates in common Australian vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, 2009, 57.2: 554-565.
- NORATTO, Giuliana D.; CHEW, Boon P.; ATIENZA, Liezl M. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) intake decreases oxidative stress in obese diabetic (db/db) mice. *Food chemistry*, 2017, 227: 305-314.

- NOWAK, Adriana, et al. Ellagitannins from *Rubus idaeus* L. exert geno-and cytotoxic effects against human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017, 65.14: 2947-2955.
- OJEDA, Gerardo, et al. Characterization of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity in cactus fruits (*Myrtillocactus geometrizans*) and red raspberries (*Rubus idaeus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2009, 153.2: S173.
- OOMAH, B. Dave, et al. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food chemistry*, 2000, 69.2: 187-193.
- ORBÁN-GYAPOROSY, M., AMBRUS, G., SZÉNÁSI, K., TÖRÖK, J., SZOLLOSI, R. Discrimination of some *Rubus* species using phytochemical and morphometrical markers. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2021, 90(1). <https://doi.org/10.5586/asbp.9090>.
- PANDEY, A. K., KUMAR, P., SINGH, P., SHUKLA, R., & MAURYA, P. Insecticidal and antimicrobial activities of essential oils of Indian medicinal plants. *Medicinal Plants*. 2017, 2, 111-120. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66032-7_5.
- PEREIRA, D. M., PEREIRA, J. A., ALVES, R. C., & FERREIRA, I. C. V. F. Emerging trends in the separation and analysis of phenolic compounds from food: A review. *Food Research International*. 2013, 105-120. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.016>.
- PHAN, Minh-Thu, et al. Antioxidant properties of extracts from Vietnamese wild-growing red raspberry (*Rubus idaeus*) and evaluation of their in vitro cytotoxicity against cancer cell lines. *AIMS Medical Science*, 2016, 3.3: 313.
- PISOSCHI, A. M., & NEGULESCU, G. P. Methods for total antioxidant activity determination: A review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 2012, 1(1), 106. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>.
- Pladias.cz - Oficiální stránky databáze české flóry a vegetace [online] © 2014–2024 [cit 12. března 2024]
Dostupné z: <https://pladias.cz/taxon/data/Rubus%20idaeus>
- PRIOR, Ronald L., et al. Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter in vivo antioxidant status. *Journal of the American College of Nutrition*, 2007, 26.2: 170-181.
- REZAZADEH, Asghar, et al. Use of principal component analysis for identification of factors involved in chickpea resistance to *Ascochyta* blight. *Australasian Plant Pathology*, 2011, 40: 425-432.
- RIAZ, Muhammad; AHMAD, Mansoor; RAHMAN, Najmur. Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. *J. Med. Plants Res*, 2011, 5.24: 5920-5924.
- SAINI, Ritu, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of phenolics isolated from fruits of Himalayan yellow raspberry (*Rubus ellipticus*). *Journal of food science and technology*, 2014, 51: 3369-3375.
- SERRANO, J., CASANOVA, E., BONGHI, C., CIVIERO, L., & MONTEFALCONE, F. Cultivar variation of functional components in raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruits. *Italian Journal of Food Science*. 2017, 29(1), 83–90.

- SERRANO, J., ESPÍN, J. C., & GARCÍA-CONESA, M. T. Bioavailability of dietary polyphenols and the cardiovascular diseases: A review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2009, 10(4), 372–380. <https://doi.org/10.2174/138920109788486078>.
- SESSA, F., PERETTI, G., & TURTON, D. *Rubus* spp. 2020: A review of current treatments and their limitations. *Fitoterapia*. 2020, 141, 104438. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104438>.
- SIMIRGIOTIS, M. J., SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., & BASTÍAS, J. A. Antioxidant capacities, polyphenolic compounds and radical scavenging capacities of the edible and medicinal *Ribes magellanicum* Poir. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2013, 68(2), 209–217. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0351-0>.
- STRIK, B. C., & FINN, C. E. Blackberry production systems – A worldwide perspective. *Horticultural Technology*. 2012, 22(4), 503–509. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.22.4.503>.
- THOLE, Jeff, et al. A comparative evaluation of the antioxidant properties of African blackwood (*Dalbergia melanoxylon*) fruits. *African Journal of Biotechnology*, 2006, 5.23.
- TOMÁS-BARBERÁN, Francisco A., et al. Pharmacokinetics and bioavailability of phytochemicals and phenolics in humans. *Foods*, 2012, 1.1: 19-23.
- TURRINI, Eleonora; FERRUZZI, Lorenzo; FIMOGNARI, Carmela. Potential effects of pomegranate polyphenols in cancer prevention and therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 2015.1: 938475.
- VAN DE VELDE, Franco, et al. Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 47: 82-91.
- VASANTHARAJU, S., & SHYAM, K. Bioactive compounds, nutritional benefits and therapeutic uses of *Rubus* species: An overview. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2020, 9(6), 2031–2040. <https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i6aa.13371>.
- WANG, Shanlin, et al. Phytochemical profiles and antioxidant activities of red and black raspberries grown in Central Ohio. *Journal of food science*, 2009, 74.5: C322-C328.
- WANG, Yang, et al. Anthocyanins and their role in the treatment of cancer. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2017, 57.16: 4295-4303.
- WARD, Adam, et al. Berry fruit consumption and associated health benefits in women. *Journal of Berry Research*, 2014, 4.2: 67-81.
- WICHTL, Max, et al. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis*. Stuttgart: CRC Press, 2004.
- WILLINER, M. R., PISSINATTI, A., & FILIP, R. Nutritional and bioactive compounds of blackberries and their use as a potential ingredient for quality-enhanced, nutritious food products. In: Shahidi F. (eds) *Handbook of Functional Beverages and Human Health*. 2016, 217-230. <https://doi.org/10.1201/b19120-11>.

YANG, Hyun Mo, et al. Antiinflammatory activities of *Rubus coreanus* depend on the degree of fruit ripening. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 2008, 22.1: 102-107.

ZAFAR, Sultan, et al. Antioxidant potential of *Rubus* species: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2013, 7(19): 1339-1346.

ZHANG, Hua, et al. Genomic analysis of *Rubus* species: molecular mechanisms underlying their health benefits. *Biotechnology Advances*, 2012, 30.3: 385-396.