

ANTIOXIDAČNÍ CHARAKTERISTIKY ODRŮD TŘEŠNÍ VYŠLECHTĚNÝCH V HOLOVOUSÍCH

ANTIOXIDATION CHARACTERISTICS OF SWEET CHERRY VARIETIES BRED IN HOLOVOUSY

Pavλίna Knapová¹, Aneta Bílková^{1,2}

¹ VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.,
Holovousy 129, 508 01 Hořice

² KARLOVA UNIVERZITA, Farmaceutická fakulta,
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, katedra analytické chemie

e-mail: pavlina.knapova@vsuo.cz

ABSTRAKT

Třešně (*Prunus avium* L.) obsahují různé fenolické sloučeniny, které přispívají k celkové antioxidační aktivitě. Řada studií dokazuje, že obsah antioxidantů a polyfenolů může hrát pozitivní roli v prevenci kardiovaskulárních a onkologických chorob u lidí. Zkoumali jsme celkovou antioxidační aktivitu, obsah celkových polyfenolů, anthokyanů a vitamínu C v ovoci vybraných kultivarů třešně vyšlechtěných ve VÝZKUMNÉM A ŠLECHTITELSKÉM ÚSTAVU OVOCNÁŘSKÉM HOLOVOUSY s.r.o. Celková antioxidační aktivita byla v rozmezí od 74,3 do 115,2 μmol ekvivalentu Troloxu a celkový obsah polyfenolů se pohyboval od 19,9 do 63,1 mg ekvivalentu kyseliny gallové obojí vztaženo na 100 g čerstvého ovoce. Obsah majoritního anthokyanu cyanidin-3-rutinosidu v třešních byl v rozmezí 2,0 a 23,4 mg a obsah vitamínu C se pohyboval od 3,6 do 12,1 mg opět obojí vztaženo na 100 g čerstvého ovoce.

Klíčová slova: *Prunus avium* L., Trolox, Folin-Ciocalteu, anthokyaniny, vitamin C

ABSTRACT

Sweet cherries (*Prunus avium* L.) contain numerous phenolic compounds that contribute to the overall antioxidant activity. Several studies have demonstrated that the content of antioxidants and polyphenols plays a positive role in the prevention of cardiovascular and oncological diseases. We determined the total antioxidant activity, content of total polyphenols, anthocyanins, and vitamin C in the selected cherry fruit cultivars bred in the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd. The total antioxidant activity ranged from 74.3 to 115.2 μmol Trolox equivalent and the total polyphenol content ranged from 19.9 to 63.1 mg gallic acid equivalent related to 100 g fresh fruit. The content of major anthocyanin cyanidine-3-rutinoside in sweet cherries was between 2.0 and 23.4 mg and the content of vitamin C ranged from 3.6 to 12.1 mg related again to 100 g of fresh fruit.

Keywords: *Prunus avium* L., Trolox, Folin-Ciocalteu, anthocyanins, vitamin C

ÚVOD

Třešně (*Prunus avium* L.) patří mezi velmi oblíbené plody jara a léta v mírných oblastech Evropy. Plody jsou ceněny díky šťavnaté a chutné dužnině, a také jako zdroj mnoha živin a zdravých prospěšných látek. Kromě toho patří mezi první dozrávající ovoce v sezóně (Prvulović *et al.* 2011). Bylo prokázáno, že ovoce a zelenina mají ochranný účinek proti rozvoji lidských onemocnění, jako jsou kardiovaskulární choroby, cukrovka a rakovina (Ferretti *et al.* 2010).

Pro stanovení celkové antioxidační aktivity a celkových polyfenolů u potravin neexistuje univerzální metoda. Známé postupy lze rozdělit na metody chemické a fyzikální. Existuje velké množství metod pro stanovení celkové antioxidační aktivity, přičemž nejčastěji používanou metodou je TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Activity). U této metody se antioxidační aktivita vyjadřuje jako poměr antioxidační aktivity vzorku k 1,0 mmol/L roztoku Troloxu (Hollá 2019; Knapová 2021).

Pro stanovení fenolických látek bylo navrženo, ověřeno a publikováno několik různých postupů. Tyto postupy lze rozdělit na metody stanovení celkových polyfenolů a metody pro detekci a stanovení určité skupiny nebo jednotlivých fenolických látek. Příkladem postupů pro detekci celkových polyfenolů jsou zkoušky Folin-Ciocalteu, Folin-Denis a metoda dle Jerumanise. Pro stanovení určitých skupin nebo druhů fenolických látek se nejčastěji využívá různých kombinací chromatografických metod jako je vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem používajícím diodové pole nebo hmotnostní spektrometrie (HPLC-DAD, HPLC-MS) (Francini a Sebastiani 2013; Kähkönen *et al.* 1999; Knapová 2021).

U třešní, stejně jako u jiných červených plodů, proces zrání souvisí se změnou původní zelené barvy na červenou, s akumulací polyfenolických sloučenin, anthokyanů a degradací chlorofylu (Ferretti *et al.* 2010). Běžné anthokyanidiny (aglykony anthokyanů), které jsou zodpovědné za atraktivní barvu třešní, jsou cyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin a malvidin (Serradilla *et al.* 2017). Pro jejich kvalitativní a kvantitativní analýzu se nejčastěji používá technika HPLC. Cyanidin 3-rutinosid a cyanidin 3-glukosid jsou převládajícími anthokyaniny v třešních (Vodopivec *et al.* 2002). U třešní se celkový obsah anthokyanů pohybuje od několika miligramů až po cca 300 mg na 100 g čerstvého ovoce (Serradilla *et al.* 2017).

Třešně jsou výborným zdrojem vitamínů, zejména vitaminu C (7,0–50,0 mg na 100 g čerstvého ovoce) následovaný vitaminem E (0,1 mg na 100 g čerstvého ovoce) a vitaminem K (2,0 µg na 100 g čerstvého ovoce) (Serradilla *et al.* 2017). Pro stanovení vitaminu C se využívá široké spektrum metod. Obecně nejvýhodnější analytická technika používaná pro stanovení vitaminu C je HPLC, protože poskytuje vyšší selektivitu a citlivost než spektrofotometrické, titrační nebo enzymatické metody (Mazurek a Jamroz 2015).

Cílem této studie bylo porovnat odrůdy třešní z hlediska celkové antioxidační aktivity, celkových polyfenolů, obsahu anthokyanů a vitaminu C v ovoci vybraných kultivarů třešní vyšlechtěných ve VÝZKUMNÉM A ŠLECHTITELSKÉM ÚSTAVU OVOCNÁŘSKÉM HOLOVOUSY, s.r.o. Do studie byly přidány i 2 odrůdy jako standard třešní, které patří mezi celosvětově významné kultivary. Šlechtitelský program VŠÚO Holovousy s.r.o. je zaměřený na třešně od 70. let minulého století. Do roku 2019 zde bylo registrováno 27 odrůd třešní (Zelený 2019).

MATERIÁL A METODY

Analyzované vzorky

Stanovení antioxidačních charakteristik pomocí vybraných metod bylo provedeno u 20 vybraných odrůd třešní. K chemickým analýzám vybraných obsahových látek bylo vybráno 18 odrůd vyšlechtěných ve VŠÚO Holovousy s.r.o. 'Amid', 'Aranka', 'Halka', 'Helga', 'Horka', 'Irena', 'Jacinta', 'Justyna', 'Kassandra', 'Kordia', 'Korvik', 'Livia', 'Sandra', 'Sylvana', 'Tamara', 'Těchlovan', 'Tim' a 'Vanda'. Dále byly vybrány odrůdy 'Burlat' a 'Regina' jako standard třešní, které patří mezi celosvětově významné kultivary. Plody čerstvých třešní byly před vlastní analýzou odpeckovány a homogenizovány pomocí nožového mlýnu Grindomix GM200 (Retsch).

Příprava vzorku pro stanovení celkové antioxidační aktivity a anthokyanů

Navážka 2 g vzorku homogenizovaného ovoce byla převedena do 15 mL centrifugačních zkumavek a bylo přidáno 8 mL methanolu a 100 μ L koncentrované kyseliny mravenčí. Následovala extrakce za použití laboratorní třepačky po dobu 1 hod při rychlosti 340 rpm a odstředění při 4400 rpm po dobu 10 min. Posledním krokem byla filtrace přes 0,45 μ m PTFE filtr do vialek. Takto připravené extrakty byly použity pro stanovení celkové antioxidační aktivity metodou TEAC a pro stanovení anthokyanů metodou HPLC-DAD.

Příprava vzorku pro stanovení celkových polyfenolů

Pro stanovení celkových polyfenolů metodou Folin-Ciocalteu byl navážen 1 g vzorku homogenizovaných třešní do 15 mL centrifugačních zkumavek a bylo přidáno 10 mL methanolu. Následovala extrakce za použití laboratorní třepačky po dobu 1 hod při rychlosti 320 rpm a odstředění při 2700 rpm po dobu 20 min. Poté byly směsi filtrovány přes 0,45 μ m PTFE filtr do vialek.

Příprava vzorku pro stanovení vitamínu C

Bylo naváženo 20 g čerstvě homogenizovaných třešní do 100mL odměrné baňky s polovičním obsahem roztoku kyseliny metafosforečné (20 g/L) a po navážení doplněno roztokem po rysku. Obsah baňky byl řádně promíchán a získané extrakty byly vakuově filtrovány filtračním papírem č. 389. S filtráty byl ihned proveden redukční krok, a to tak, že do kádinky bylo pipetováno 20 mL filtrátu, následně přidáno 10 mL roztoku L-cysteinu (40 g/L) a na magnetickém míchadle bylo přidavkem roztoku fosforečnanu trisodného (200 g/L) upraveno pH na hodnotu mezi 7,0 až 7,2. Směs byla míchána přesně 5 min. Pak bylo přidavkem kyseliny metafosforečné (200 g/L) sníženo pH na hodnotu mezi 2,5 až 2,8. Roztok byl kvantitativně převeden do 50mL odměrné baňky a doplněn vodou po rysku. Takto připravený vzorek byl filtrován přes 0,45 μ m PTFE filtr do vialek.

Metoda TEAC pro stanovení celkové antioxidační aktivity

V mikrotitrační destičce pro spektrofotometrické stanovení bylo smícháno 220 μ L pracovního roztoku DPPH s 30 μ L extraktu ovoce. Mikrotitrační destičky s napipetovanými roztoky byly zakryty a ponechány ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 1 hod. Absorbance byla poté změřena pomocí spektrofotometru EPOCH, upraveného pro detekci v mikrotitračních destičkách (micro UV reader) při 515 nm. Aktivita extraktů založená na vychytávání DPPH radikálu byla vynesena do grafu proti měnící se koncentraci Troloxu a výsledky byly vyjádřeny v jednotkách μ mol Troloxu/100 g čerstvého ovoce. Každý extrakt byl proměřen třikrát a použit byl průměr.

Metoda Folin-Ciocalteu pro stanovení celkových polyfenolů

Reakce je založena na chemické redukci Folin-Ciocalteuova činidla obsahující fosfomolybdenan a fosfowolframan vedoucí ke změně zbarvení (Kähkönen *et al.* 1999). Změna zbarvení se měří spektrofotometricky a výsledek se vyjadřuje v ekvivalentech kyseliny gallové (GAE), jako standardního roztoku. Celkový obsah polyfenolů byl stanoven v každém extraktu za použití činidla Folin-Ciocalteu. Kalibrace byla hodnocena s pomocí kyseliny gallové s koncentrací v rozsahu 10–700 mg/L. Folin-Ciocalteuovo činidlo bylo nejprve desetkrát zředěno destilovanou vodou a poté bylo 0,5 mL činidla smícháno s 0,1 mL methanolického extraktu. Roztok byl ponechán stát po dobu 5 min při laboratorní teplotě. Poté bylo přidáno 1,7 mL 20% uhličitanu sodného a 10 mL destilované vody. Po 20 min inkubace za míchání na třepačce byla změřena absorbance při 735 nm. Výsledky byly vyjádřeny v mg kyseliny gallové na 100 g čerstvého ovoce. Každý extrakt byl proměřen třikrát a vypočítán byl průměr.

Metoda HPLC-DAD pro stanovení anthokyanů

Pro identifikaci a kvantifikaci anthokyanů v třešních byl použit HPLC-DAD systém Agilent 1260 Infinity. Mobilní fáze byla složena z 2% kyseliny mravenčí, která tvořila složku A a methanol byl použit jako složka B v gradientové eluci. Popis gradientu je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 1. Gradient HPLC-DAD pro stanovení anthokyanů**Table 1.** Gradient HPLC-DAD for determination of anthocyanins

Čas (min) ¹⁾	Mobilní fáze – složka A (%) ²⁾	Mobilní fáze – složka B (%) ³⁾
0	95	5
4	80	20
8	75	25
10	10	90
10,15	10	90
10,3	95	5
13	95	2

1) Time (min), 2) Mobile phase A (%), 3) Mobile phase B (%)

Průtoková rychlost byla 1 mL/min. Separace probíhala na koloně Kinetex F5 100A (150×4,6 mm; 2,6 μm) při teplotě 50 °C. Objem nastříkovaného vzorku byl 4 μL. Detekce probíhala při 520 nm. Identifikace jednotlivých anthokyanů byla provedena na základě porovnání retenčních časů eluátů vzorků třešní a retenčních časů standardních látek cyanidin-3-glukosidu a cyanidin-3-rutinosidu. Standardy anthokyanů pocházely od firmy Extrasynthese a byly uchovávány v mrazicím boxu při -18 °C. Z každého z těchto standardů byl připraven zásobní roztok o koncentraci 1 mg/mL v 1% methanolickém roztoku kyseliny mravenčí. Z tohoto zásobního roztoku byly naředěním připraveny pracovní roztoky o koncentraci 5; 10; 20; 50; 100; 150 a 250 μg/mL. Obsahy analytů ve vzorcích byly vypočteny s použitím kalibrační křivky a přepočítány na množství jednotlivých anthokyanů ve 100 g čerstvého ovoce.

Metoda HPLC-DAD pro stanovení vitamínu C

Pro stanovení vitamínu C v třešních byl opět použit HPLC-DAD systém Agilent 1260 Infinity. Mobilní fáze se skládala ze dvou roztoků, které byly poté smíchány a odplyněny. První roztok

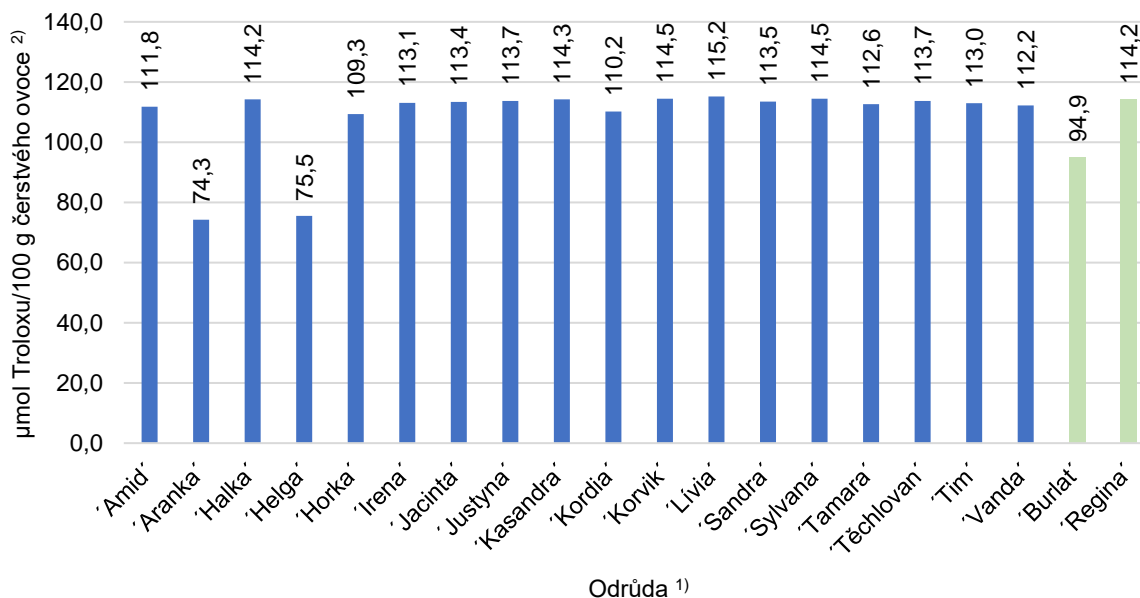
byl připraven rozpuštěním 13,6 g dihydrogenfosforečnanu draselného v 900 mL destilované vody a přefiltrován přes filtr 0,45 μm . U druhého roztoku bylo v kádince rozpuštěno 1,82 g N-cetyl-N,N,N-trimethylamonium bromidu ve 100 mL methanolu. Průtoková rychlost byla 1,0 mL/min. Separace byla na koloně Kinetex C18 100A (150 \times 4,6 mm; 5 μm) při teplotě 25 °C. Objem nastříkovaného vzorku byl 20 μL . Detekce probíhala při 265 nm. Identifikace a kvantifikace byla provedena na základě srovnání se standardem metodou kalibrační křivky, tj. technikou externí kalibrace. Byl připraven zásobní roztok standardu kyseliny L-askorbové o koncentraci 1 g/L v extrakčním činidle kyseliny metafosforečné (20 g/L). Z tohoto roztoku byly naředěním připraveny pracovní roztoky o koncentraci 2; 5, 10, 20, 50, 100, a 200 mg/L. Obsah vitamínu C v měřených vzorcích byl vypočten s použitím kalibrační křivky a přepočítán na množství vitamínu C ve 100 g čerstvého ovoce. Každý vzorek byl připraven dvakrát a ze změřených dat byl vypočítán průměr.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky stanovení celkové antioxidační aktivity měřené metodou TEAC a celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteu činidla jsou zobrazeny v grafech 1 a 2. U vybraných odrůd třešně nebyl pozorován výrazný rozdíl v celkové antioxidační aktivitě, pouze odrůda 'Aranka' a 'Helga', které patří mezi odrůdy s ranou zralostí, byla pozorována hodnota o cca 30 % nižší. Rovněž u standardní odrůdy 'Burlat', která také patří mezi odrůdy s ranou zralostí, byla pozorována nižší hodnota. Celkové polyfenoly měřené metodou Folin-Ciocalteu byly nejvyšší u odrůdy 'Sylvana', a to 63,1 mg GAE/100 g čerstvého ovoce, naopak nejnižší hodnota byla naměřena u odrůdy 'Helga' 19,9 mg GAE/100 g čerstvého ovoce.

Graf 1. Celková antioxidační aktivita stanovená metodou TEAC (v μmol Troloxu/100 g čerstvého ovoce)

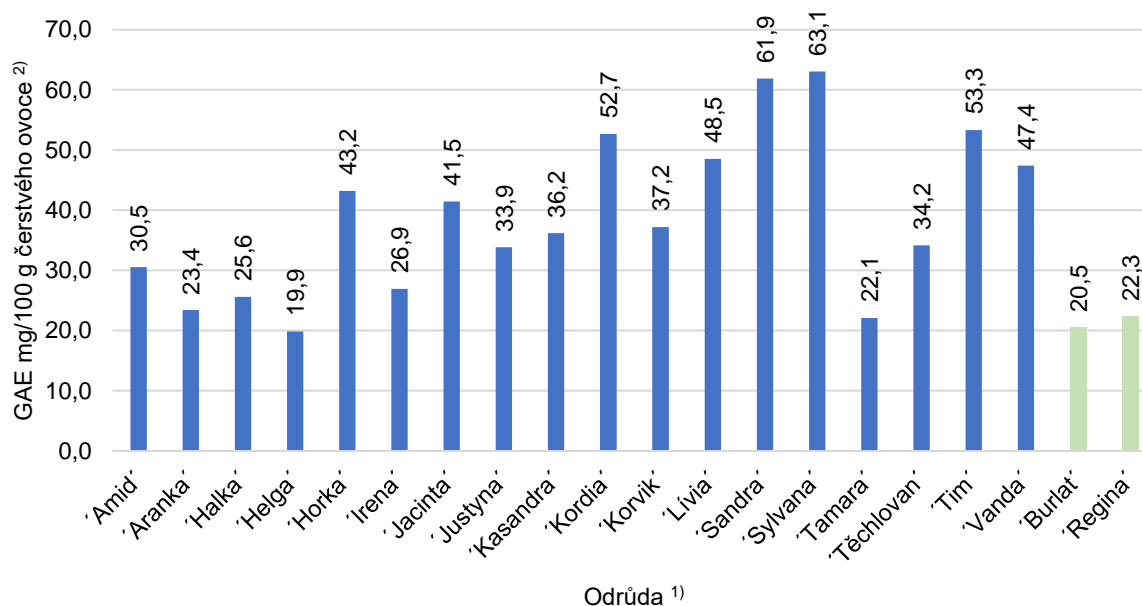
Graph 1. Total antioxidant activity determined by TEAC method (in μmol Trolox/100 g fresh fruit)



1) Variety, 2) μmol Trolox/100 g fresh fruit

Graf 2. Celkové polyfenoly stanovené metodou Folin-Ciocalteu (v mg GAE/100 g čerstvého ovoce)

Graph 2. Total polyphenols determined using Folin-Ciocalteu method (in mg GAE/100 g fresh fruit)

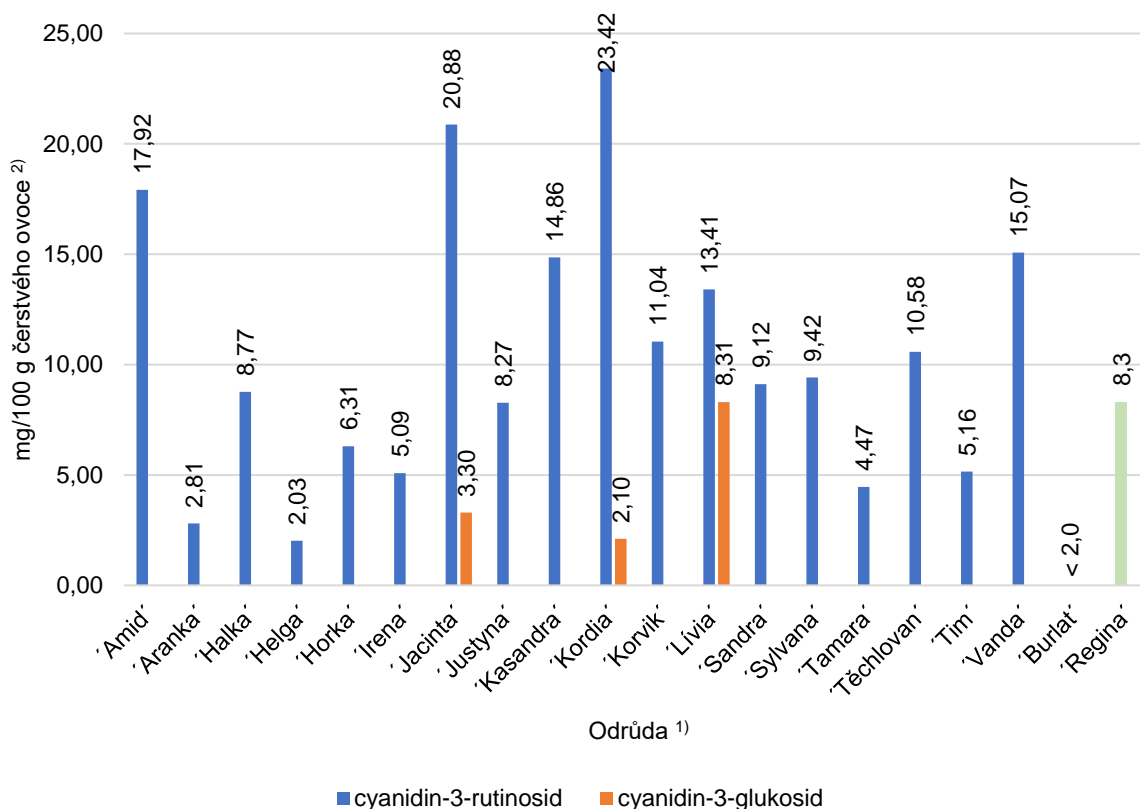


1) Variety, 2) mg GAE/100 g fresh fruit

Mezi hlavními anthokyany obsaženými v třešních jsou cyanidin-3-glukosid a cyanidin-3-rutinosid (Vodopivec *et al.* 2002). Tyto látky jsme kvantitativně stanovili optimalizovanou metodou HPLC-DAD. U většiny odrůd byl detekován a kvantifikován cyanidin-3-rutinosid nad limitem kvantifikace (2,0 mg/100 g čerstvého ovoce), u odrůdy 'Jacinta', 'Kordia' a 'Livia' byl detekován a kvantifikován také cyanidin-3-glukosid. U ostatních odrůd byl tento anthokyan pod limitem kvantifikace, který byl 2 mg/100 g čerstvého ovoce. Z Grafu 3 je vidět, že nejvyšší obsah anthokyanů (Σ cyanidin-3-glukosid, cyanidin-3-rutinosid) 25,52 mg/100 g čerstvého ovoce byl pozorován u odrůdy 'Kordia'. Naopak nejnižší obsah byl naměřen u raných odrůd třešně 'Aranka' a 'Helga' a u standardu třešně odrůdy 'Burlat' dokonce pod limitem kvantifikace.

Graf 3. Obsah cyanidin-3-rutinosidu a cyanidin-3-glukosidu stanovená metodou HPLC-DAD (v mg/100 g čerstvého ovoce)

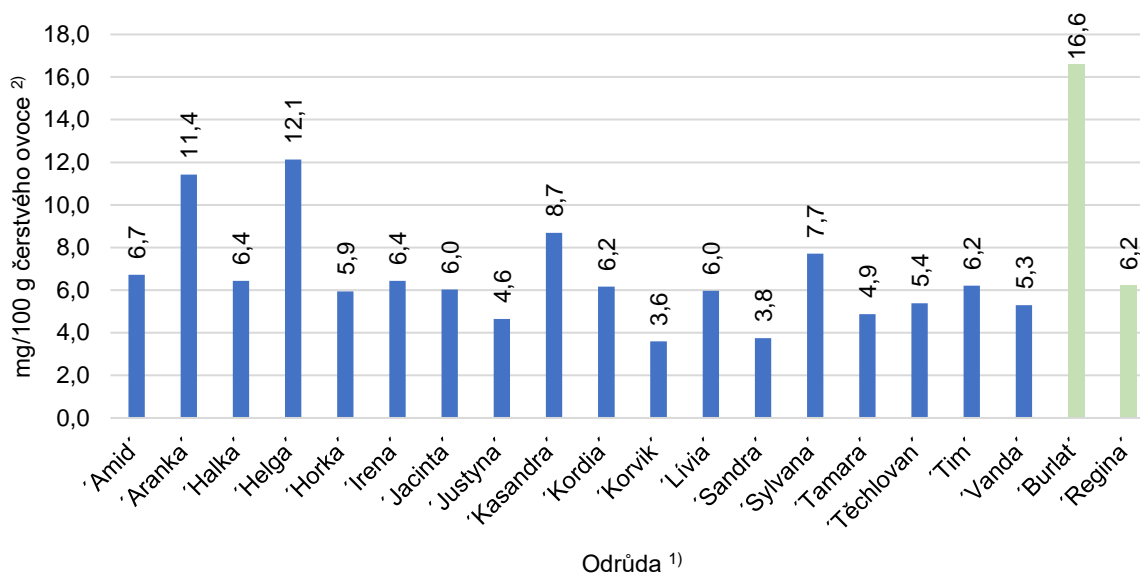
Graph 3. Content of cyanidine-3-rutinoside and cyanidin-3-glucoside determined using HPLC-DAD method (in mg/100 g fresh fruit)



1) Variety, 2) mg/100 g fresh fruit

Medián obsahu vitamínu C ve vybraných odrůdách byl 6,2 mg/100 g čerstvého ovoce, což odpovídá hodnotám uvedeným v dříve provedených studiích (Ferretti *et al.* 2010).

Nižší obsah vitamínu C u některých odrůd může být způsoben vlivem mnoha faktorů, jako jsou klimatické podmínky, zemědělské postupy, zralost při sklizni, způsob sklizně, podmínky manipulace po sklizni (skladování), odrůda a genotyp. Všechny tyto faktory jsou zodpovědné za velké rozdíly v obsahu vitamínu C v ovoci a zelenině (Derradji-Benmeziane 2016). Graf 4 zobrazuje, že mezi odrůdy s naměřenými nejvyšším obsahem vitamínu C patří rané odrůdy 'Aranka' (11,4 mg/100 g čerstvého ovoce), 'Helga' (12,1 mg/100 g čerstvého ovoce) a standard třešňi 'Burlat' (16,6 mg/100 g čerstvého ovoce), zároveň u těchto odrůd byla pozorována nižší celková antioxidační aktivita i obsah anthokyanů. Vliv na celkovou antioxidační aktivitu, celkové polyfenoly a složení a obsah jednotlivých i celkových anthokyanů a vitamínu C mohou mít tyto faktory: období sklizně, odrůda, fáze sklizně, klimatické podmínky a vegetační období, což rovněž dokazují i dříve publikované studie (Ferretti *et al.* 2010; Prvulović *et al.* 2011; Serrano *et al.* 2005). Nejnižší obsah vitamínu C byl stanoven u odrůdy 'Korvik' 3,6 mg/100 g čerstvého ovoce.

Graf 4. Obsah vitamínu C stanovený metodou HPLC-DAD (v mg/100 g čerstvého ovoce)**Graph 4.** Content of vitamin C determined using HPLC-DAD method (in mg/100 g fresh fruit)

1) Variety, 2) mg/100 g fresh fruit

Jak celkové polyfenoly, tak vitamin C jsou hlavními přispěvateli k celkové antioxidační aktivitě (Du 2009), v našem experimentu bylo prokázáno, že nižší antioxidační aktivita v třešních neodpovídá nižšímu obsahu vitamínu C, ale naopak. Lze tedy předpokládat, že k antioxidační aktivitě v třešních přispívají především fenolické látky.

ZÁVĚR

Náš výzkum ukázal variabilitu v měřených chemických atributech mezi kultivary třešní. Antioxidační aktivita některých z nich pocházela především z fenolických látek, u jiných z vitamínu C. U většiny zkoumaných odrůd třešní nebyl pozorován výrazný rozdíl v celkové antioxidační aktivitě. Nejvyšší celkové polyfenoly byly stanoveny u odrůdy 'Sylvana' zatímco nejvyšší obsah anthokyanů byl pozorován u odrůdy 'Kordia'. Nejvyšší obsah vitamínu C byl pak naměřen u raných odrůd třešní. Problematika antioxidačních charakteristik plodů třešní bude dále studována vzhledem k možné ročníkové variabilitě.

Závěrem lze říci, že plody třešní vyšlechtěných ve VŠÚO Holovousy s.r.o. se z hlediska měřených chemických atributů výrazně neliší od standardů třešní, což potvrzuje fakt, že o tyto odrůdy je ve světě velký zájem.

PODĚKOVÁNÍ

Článek vznikl z finanční podpory Ministerstva zemědělství, projekt RO1522.

LITERATURA

- DERRADJI-BENMEZIANE, F., R. DJAMAI and Y. CADOT. Antioxidant capacity, total phenolic, carotenoid, and vitamin C contents of five table grape varieties from Algeria and their correlations. *OENO One*. 2016, 48(2): 153–162. ISSN 2494-1271. DOI:10.20870/oeno-one.2014.48.2.1564.
- DU, G., M. LI, F. MA and D. LIANG. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*. 2009, 113(2): 557–562. ISSN 03088146. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.08.025.
- FERRETTI, G., T. BACCHETTI, A. BELLEGGIA and D. NERI. Cherry Antioxidants: From Farm to Table. *Molecules*. 2010, 15(10): 6993–7005. ISSN 1420-3049. DOI: 10.3390/molecules15106993.
- FRANCINI, A. and L. SEBASTIANI. Phenolic Compounds in Apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds Characterization and Stability during Postharvest and after Processing. *Antioxidants*. 2013, 2(3), 181–193. ISSN 2076-3921. DOI: 10.3390/antiox2030181.
- HOLLÁ, M. *Metodika pro kvalitativní hodnocení ovoce a zpracovatelských produktů z hlediska obsahu látek prospěšných pro zdraví člověka*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2019. ISBN 978-80-906644-4-9.
- KÄHKÖNEN, M. P., A. I. HOPIA, H. J. VUORELA, J. RAUHA, K. PIHLAJA, T. S. KUJALA and M. HEINONEN. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, 47(10), 3954–3962. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf990146.
- KNAPOVÁ, P., A. BÍLKOVÁ and R. VÁVRA. Total phenolic content and antioxidant activity of apple cultivars. *Acta Horticulturae*. 2021, (1329): 15–20. ISSN 0567-7572. DOI:10.17660/ActaHortic.2021.1329.3.
- MAZUREK, A. and J. JAMROZ. Precision of dehydroascorbic acid quantitation with the use of the subtraction method – Validation of HPLC–DAD method for determination of total vitamin C in food. *Food Chemistry*. 2015, (173): 543–550. ISSN 03088146. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.10.065.
- PRVULOVIĆ, D., M. POPOVIC, D. MALENČIĆ, M. LJUBOJEVIĆ and V. OGNJANOV. Phenolic compounds in sweet cherry (*Prunus avium* L.) petioles and their antioxidant properties. *Research Journal of Agricultural Science*. 2012, 43(2): 198–202.
- SERRADILLA, M. J., M. F. AKŠIĆ, G. A. MANGANARIS, S. ERCISLI, D. GONZÁLEZ-GÓMEZ and D. VALERO. Fruit chemistry, nutritional benefits and social aspects of cherries. QUERO-GARCÍA, J., A. LEZZONI, J. PUŁAWSKA and G. LANG. *Cherries: botany, production and uses*. Wallingford: CABI, 2017, 420-441. ISBN 9781780648378. DOI: 10.1079/9781780648378.0420.
- SERRANO, M., F. GUILLÉN, D. MARTÍNEZ-ROMERO, S. CASTILLO and D. VALERO. Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Sweet Cherry at Different Ripening Stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53(7): 2741–2745. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf0479160.
- VODOPIVEC, B., P. TREBSE and J. HRIBAR. Determination and quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L.) from Nova Gorica Region (Slovenia). *Food Technology and Biotechnology*. 2002, 40: 207–212.
- ZELENÝ, L. *Šlechtění ovoce v Holovousích*. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2019. ISBN 978-80-87030-72-1.