

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ANALÝZA ŠŤÁV VYBRANÝCH ODRŮD ČERVENÉHO A BÍLÉHO  
RYBÍZU

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Ing. ANNA ČERNÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## ANALÝZA ŠTÁV VYBRANÝCH ODRŮD ČERVENÉHO A BÍLÉHO RYBÍZU

ANALYSIS OF JUICE OF SELECTED RED AND WHITE CURRANT VARIETIES

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Ing. ANNA ČERNÁ

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

RNDr. MILENA VESPALCOVÁ, Ph.D.

BRNO 2015



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

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0896/2014** Akademický rok: **2014/2015**  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student(ka): **Ing. Anna Černá**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin (N2901)  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)  
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**  
Konzultanti: Ing. Jitka Matějčková, Ph.D.

### Název diplomové práce:

Analýza šťáv vybraných odrůd červeného a bílého rybízu

### Zadání diplomové práce:

Literární část:

- 1) Stručný botanický popis rybízu (*Ribes rubrum*), využití v potravinářství, biologicky aktivní látky rybízu
- 2) Fenolické látky, jejich vlastnosti a význam, metody stanovení
- 3) Anthokyany, jejich vlastnosti a význam, metody stanovení

Experimentální část:

- 1) Stanovení celkových fenolických látek, celkových anthokyanů a vitamínu C ve šťávách vybraných odrůd rybízu
- 2) Zpracování a vyhodnocení získaných dat
- 3) Srovnání šťáv studovaných zástupců červeného a bílého rybízu na základě stanovených výsledků

### Termín odevzdání diplomové práce: 11.5.2015

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

-----  
Ing. Anna Černá  
Student(ka)

-----  
RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Předložená diplomová práce se zabývá analýzou šťáv vybraných odrůd červeného a bílého rybízu. Teoretická část je věnována popisu rybízu, jeho biologicky aktivním látkám, pěstování a jeho využití v potravinářství. V teoretické části jsou také charakterizovány analyzované parametry rybízů, a to fenolické látky, antokyany a vitamin C a možnosti jejich stanovení. Experimentální část je věnována přípravě vzorků a pracovním postupům jednotlivých analýz. K analýze bylo použito šest vybraných odrůd bílého a jedenáct odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a šest odrůd bílého a deset odrůd červeného rybízu od soukromého pěstitele. Celkové fenolické látky a antokyany byly stanovovány spektrofotometricky, obsah vitaminu C pak kapalinovou chromatografií. Vyšší hodnoty těchto látek byly naměřeny převážně u odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Odrůdy červených rybízů obsahovaly vyšší množství celkových fenolických látek a antokyanů, bílé rybízy pak vyšší množství vitaminu C.

## **ABSTRACT**

Presented diploma thesis deals with the analysis of juices of selected red and white currant varieties. The theoretical part is dedicated to the characteristics of a currant, biologically active substances of its fruits, its growing proces and the utilization of currants in the food industry. The analyzed parameters of currants - phenolics, anthocyanins and vitamin C are also characterized in the theoretical part with possible methods of their determination. The experimental part is devoted to the preparation of samples and the working practices of individual analysis. Six selected varieties of white and eleven varieties of red currant from Research and Breeding Institute of Pomology Holovously Ltd. and six varieties of white and ten varieties of red currant from private grower were used for the analysis. Total phenolics and anthocyanins were determined spectrophotometrically, the content of vitamin C was determined by HPLC. Higher values of these compounds were measured mainly in the varieties of Research and Breeding Institute of Pomology Holovously Ltd. Varieties of red currants contained higher amounts of total phenolics and anthocyanins while white currants contained higher amounts of vitamin C.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Rybíz, *Ribes L.*, fenolické látky, antokyany, vitamin C, UV/VIS spektrofotometrie, HPLC

## **KEYWORDS**

Currant, Ribes L., phenolic compounds, anthocyanins, vitamin C, UV/VIS spectrophotometry, HPLC

ČERNÁ, A. *Analýza šťáv vybraných odrůd červeného a bílého rybízu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 79 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....

podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych na tomto místě poděkovala především vedoucí své diplomové práce RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D. za odborné vedení a poskytnutí cenných informací a rad. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Zuzaně Olšovcové za rady a pomoc v průběhu experimentální části.

## Obsah

1 ÚVOD .....	8
2 TEORETICKÁ ČÁST .....	9
2.1 Rybíz.....	9
2.1.1 Obecná charakteristika .....	9
2.1.2 Stručný botanický popis a taxonomie .....	9
2.1.3 Druhy rybízu a odrůdy .....	10
2.1.4 Biologicky aktivní látky obsažené v rybízu .....	10
2.1.5 Pěstování .....	11
2.1.6 Využití v potravinářství.....	12
2.2 Fenolické látky.....	12
2.2.1 Polyfenoly .....	13
2.2.2 Stanovení fenolických látek .....	16
2.3 Antokyany.....	16
2.3.1 Metody stanovení antokyanů .....	18
2.4 Vitamin C.....	19
2.4.1 Metody stanovení vitamínu C .....	20
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	21
3.1 Analyzované vzorky .....	21
3.2 Laboratorní vybavení.....	23
3.2.1 Přístroje .....	23
3.2.2 Pomůcky.....	23
3.2.3 Chemikálie .....	24
3.3 Stanovení celkových fenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuova činidla .....	24
3.3.1 Příprava roztoků .....	24
3.3.2 Kalibrační křivka.....	24
3.3.3 Příprava vzorku .....	25

3.3.4 Pracovní postup .....	25
3.4 Stanovení celkových antokyanů .....	26
3.4.1 Příprava roztoků .....	26
3.4.2 Pracovní postup a vlastní stanovení obsahu celkových antokyanů.....	26
3.5 Stanovení vitamínu C .....	28
3.5.1 Příprava roztoků .....	28
3.5.2 Příprava vzorků .....	29
3.5.3 Pracovní postup a vlastní stanovení vitamínu C .....	29
3.6 Statistické zpracování .....	31
4 VÝSLEDKY A DISKUZE .....	33
4.1 Stanovení celkových fenolických látek .....	33
4.1.1 Stanovení celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu .....	33
4.1.2 Stanovení celkových fenolických látek v odrůdách bílého rybízu.....	38
4.2 Stanovení celkových antokyanů .....	42
4.2.1 Stanovení celkových antokyanů v odrůdách červeného rybízu .....	42
4.2.2 Stanovení celkových antokyanů v odrůdách bílého rybízu.....	46
4.3 Stanovení vitamínu C .....	51
4.3.1 Stanovení obsahu vitamínu C v odrůdách červeného rybízu .....	52
4.3.2 Stanovení obsahu vitamínu C v odrůdách bílého rybízu.....	56
5 ZÁVĚR .....	61
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	64
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	70
8 SEZNAM PŘÍLOH.....	71
9 PŘÍLOHY .....	73



# 1 ÚVOD

Cílem této diplomové práce je analýza šťáv vybraných odrůd červeného a bílého rybízu. Diplomová práce je součástí projektu "Výzkum nových technologií v pěstování angreštu a rybízu se zaměřením na kvalitu a využití plodů" – QI111A141. Projekt byl realizován v rámci dlouhodobé spolupráce FCH VUT a Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Účelem projektu je podpora pěstování nově vyšlechtěných odrůd uvedeného drobného ovoce.

V teoretické části bylo úkolem charakterizovat a stručně popsat druh *Ribes rubrum*, jeho význam, biologicky aktivní látky a využití v potravinářství. Rybíz je velmi vděčnou a pěstitelsky nenáročnou rostlinou s vysokou výnosností plodů, které zrají brzy v létě. Rybízy jsou oblíbené nejen z důvodu výborných chuťových vlastností, nízkého obsahu cukrů a tuků, ale také jsou bohatým zdrojem biologicky aktivních látek, jako jsou vitaminy (zejména vitamin A a C, v menší míře pak B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> a E), minerály (Ca, P, Fe), polyfenoly s antioxidačními vlastnostmi, antokyany a organické kyseliny s antibakteriálními účinky. Plody rybízů jsou konzumovány zejména v syrovém stavu, v potravinářství jsou pak využívány k výrobě sirupů, džemů, marmelád a vín. Dále byla teoretická část věnována vybraným biologicky aktivním látkám rybízu, a to fenolickým látkám, antokyanům a vitaminu C, u kterých byly charakterizovány jejich vlastnosti, význam a metody stanovení.

Cílem v experimentální části práce bylo stanovit celkové fenolické látky, celkové antokyany a vitamin C u odrůd bílého a červeného rybízu a zjištěné výsledky statisticky zpracovat a porovnat. Vzájemné porovnání výsledků má význam zejména z důvodu zjištění vlivu tvarové modifikace rostliny a stanoviště pěstování na obsah vybraných biologicky aktivních látek.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Rybíz

#### 2.1.1 Obecná charakteristika

Rybíz patří k nejrozšířenějším a nutričně vysoce hodnoceným druhům ovoce. Rod *Ribes* čítá asi 120 druhů keřovitých rostlin, které jsou rozšířené v mírných a chladných pásmech celého světa, s výjimkou Austrálie. Rybíz je znám také pod označením revíz či meruzalka [1,2].

#### 2.1.2 Stručný botanický popis a taxonomie

Rybízy jsou převážně středně velké, netrnité keře vzpřímeného růstu s opadavými střídavými, dlanitě laločnatými, složitě zubatými listy. Květenství je hroznovité nebo jsou květy na konci úžlabních větví buď jednotlivě, nebo ve svazečcích s malými opadavými listeny. Květy jsou převážně drobné, zelenožluté a korunní plátky mají menší než kališní ušty. Češule květu je miskovitá, ve spodní části srůstá se semeníkem, ze kterého se následně vyvine plod kulovitého tvaru - bobule. Bobule obsahují semena, která mají vnitřní osemenní kamenné a vnější rosolovité. Bobule nabývají barev u černých odrůd od modročerné až po černou, červených od bledě červené ke karmínově červené, u bílých od bílé po zlatožlutou [1,2,3,4].

#### Taxonomické zařazení [5]:

<b>Říše:</b>	Plantae - rostliny
<b>Podříše:</b>	Tracheobionta - cévnaté rostliny
<b>Nadoddělení:</b>	Spermatophyta - semenné rostliny
<b>Oddělení:</b>	Magnoliophyta - krytosemenné rostliny)
<b>Třída:</b>	Rosopsida -vyšší dvouděložné rostliny
<b>Podtřída:</b>	Rosidae
<b>Řád:</b>	Saxifragales - Lomikamenotvaré
<b>Čeleď:</b>	Grossulariaceae - Meruzalkovité
<b>Rod:</b>	<i>Ribes</i> L.
<b>Druh:</b>	<i>Ribes rubrum</i> L.- rybíz červený, rybíz bílý

### 2.1.3 Druhy rybízu a odrůdy

Jednotlivé odrůdy se od sebe liší barvou plodů (rybíz černý, červený a bílý), jejich velikostí, chutí a aroma. Je možné je také rozlišit podle pupenů, květů, listů, podle začátku rašení, rozkvětu nebo dozrávání. Rybíz bílý pochází z kříženců a mutací červeného rybízu, má podobný vzhled, vlastnosti a potřeby, rozdílné jsou pouze plody. Chuťově jsou červené a černé rybízky méně sladké než odrůdy bílých rybízů. Naopak šťavnatost bílých rybízů je menší a jejich bobule jsou menší s většími semeny. Černé a červené rybízky se pěstují ve větší míře, zatímco bílé odrůdy jsou spíše pěstovány v menším množství drobnými pěstiteli a na zahrádkách [1,2,3,4,6].

### 2.1.4 Biologicky aktivní látky obsažené v rybízu

Plody rybízu jsou velmi bohatým zdrojem rozmanitých bioaktivních látek, jako jsou polyfenoly, antokyany, vitaminy (zejména A, C, vitaminy B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> a E již v menší míře) a minerály (Ca, P, Fe). Rybíz obsahuje vyšší množství organických kyselin, které mají antibakteriální účinky, a nižší obsah cukrů a tuků. Vybrané nutriční parametry jsou uvedeny v tabulce 1 [7].

Tabulka 1 Přehled základních nutrientů obsažených v plodech červeného a bílého rybízu [8].

Nutrient	Jednotka	Červený rybíz	Bílý rybíz
<b>Nutrienty základní</b>			
Energie	kJ/kcal	205/49	189/46
Bílkoviny celkové	g	1,1	0,67
Lipidy celkové (tuky)	g	0,25	0,2
Sacharidy celkové	g	13,4	13,8
Sacharidy využitelné	g	8	
Potravinová vláknina celková	g	5,4	6,1
Organické kyseliny celkové	g	2,13	1,99
Voda celková	g	84,7	83,8
Sušina celková	g	15,3	16,2
Popel	g	0,6	0,5
<b>Vitaminy</b>			
Vitamin B1	mg	0,05	0,08
Vitamin B2	mg	0,03	0,02
Vitamin B5	mg	0,33	-
Vitamin C	mg	34,5	44,1
Vitamin A	RE	6,8	-
beta-karoten	µg	41,1	-
Vitamin E (Tokoferoly)	mg	1,6	-

Nutrient	Jednotka	Červený rybíz	Bílý rybíz
Vitamin PP	mg	0,24	0,2
<b>Minerální látky</b>			
Sodík	mg	4	2
Hořčík	mg	12	9
Fosfor	mg	30	23
Draslík	mg	225	268
Vápník	mg	28	33
Železo	mg	1,1	0,97
<b>Cukry</b>			
Cukry celkové	g	4,9	5,6
Sacharosa	g	0,4	0,56

## 2.1.5 Pěstování

Rybíz patří k pěstitelsky vděčným plodinám zejména kvůli snadnému pěstování, skromným nárokům na půdu, prostor a přizpůsobivost ke klimatickým podmínkám. Oblíbený je také pro vysokou výnosnost plodů (asi 7-9 kg/rok), které dozrávají každý rok brzy v létě [2,3].

### 2.1.5.1 Choroby a škůdci

K virovým chorobám patří žilková mozaika angreštu, jejíž původce zatím nebyl popsán. Způsobuje žlutozelené lemování žilek, deformaci listů a snížení výnosnosti a kvality plodů. Vyskytuje se zejména u černých a červených rybízů. Deformaci listů, žluté kroužky a skvrny na listech způsobuje choroba kroužkovitost červeného rybízu, kterou způsobuje RpRSV- tzv. virus kroužkovitosti maliníku [9].

Z živočišných škůdců nejvíce škod rybízu způsobuje roztoč vlnovník rybízový (*Cecydophopsis ribis*), způsobující vážnou chorobu tzv. zvrat rybízu., která se zpravidla objevuje u odrůd černého rybízu, ale mohou jí být zasaženy i některé odrůdy červeného a bílého rybízu. U napadeného keře dojde ke zvětšení a zduření pupenů, které nevyraší, ale zasychají a opadají. Keř má menší, užší a atypicky tvarované listy a květy, v důsledku toho nedochází k opylení a květy zasychají [10].

Dalším častým škůdcem je mšice rybízová (*Cryptomyzus ribis*), způsobující žluté až tmavě červené puchýřky na listech, které se začnou kroutit a opadávat. Při silném zasažení keře dochází až k zastavení jeho růstu.

Housenky pilatky rybízové (*Pteronidea ribesii*) ožírají spodní listy rybízu a způsobují červené až žlutohnědé puchýře na listech.

Velmi odolným škůdcem je štítenka zhoubná (*Quadraspidiotus perniciosus*), která poškozují keř sáním šťáv, oslabuje tak výhony a způsobuje jejich větší náchylnost k omrznutí nebo seschnutí a tím snižuje výnos plodů.

Housenky nesytky rybízové (*Synanthedon tipuliformis*) se živí střední částí větví keřů rybízu a způsobují vadnutí a zasychání listů, květů, případně plodů na napadených větvích [2,9].

Původcem obávanému houbovému onemocnění rybízu - antraknózy je pakustřebka rybízová (*Drepanooeziza ribis*). Tato choroba napadá červený a bílý rybíz a způsobuje v době sklizně hnědočerné skvrnky na listech, které se následně kroucí a opadávají. Při silném napadení keře či stromku může dojít k jeho oslabení, tak že přestane plodit. Další častou houbovou chorobou je hnědé (americké) padlí angreštové (*Podosphaera mors-uvae*), napadající především rostliny angreštu a černého rybízu, ale v menší míře i rybíz červený a bílý. Toto onemocnění se projeví bělavým povlakem tzv. primárního mycelia, ze kterého vyrůstá později hnědé (sekundární) mycelium. U napadené rostliny dochází ke kroucení listů, seschnutí a jejich předčasnému opadnutí. Plody z napadené rostliny, pokud dozrají, jsou nevhodné ke konzumaci [2,9,11,12].

Výše uvedení škudci a choroby mohou snížit úrodu rybízů až o 90 %. Dosud nejsou známy přípravky k léčbě zejména virových onemocnění. Nejčastěji se napadené keře ošetřují postřiky, případně se silně napadený keř celý odstraní. Velmi důležitá je také prevence [2,12,13].

### **2.1.6 Využití v potravinářství**

Rybíz má v potravinářství široké uplatnění, plody jsou nejčastěji konzumovány v syrovém stavu nebo se využívají pro výrobu dezertů, zmrzliny, džemů, marmelád, želé, džusů, šťáv, sirupů, vín a likérů. Konzervace plodů probíhá jejich mražením, sušením nebo kompotováním [14].

## **2.2 Fenolické látky**

Fenolické látky jsou sekundární metabolity rostlin a jedná se o sloučeniny se substituovanými hydroxylovými skupinami na aromatickém kruhu. Fenolické látky jsou děleny podle počtu fenolových jednotek v molekule. Nejpočetnější skupinou fenolických látek jsou polyfenoly [15].

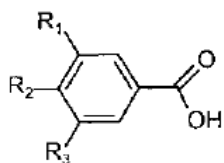
### 2.2.1 Polyfenoly

Polyfenoly jsou sloučeniny obsahující ve své molekula dvě a více hydroxylových skupin, které jsou navázané na aromatickém jádře. K nejdůležitějším zdrojům polyfenolů patří bobulovité ovoce, zelenina a čaj, ale jsou zastoupeny téměř ve všech rostlinách. V současnosti je známo více než 8000 druhů polyfenolů, které mají velmi různorodé chemické složení – od sloučenin s jedním aromatickým kruhem až po polymerní struktury (např. taniny) [16,17,18].

Polyfenoly vykazují velmi široké spektrum biologických účinků v lidském organismu. Jsou žádané zejména pro své antioxidační vlastnosti a jejich pravděpodobnou roli v prevenci některých civilizačních onemocnění souvisejících s oxidačním stresem jako je rakovina, kardiovaskulární a neurogenerativní onemocnění. Kromě toho polyfenoly modulují aktivitu široké škály buněčných enzymů a receptorů. Ne všechny účinky polyfenolů byly doposud plně pochopeny a prozkoumány [16,19,20].

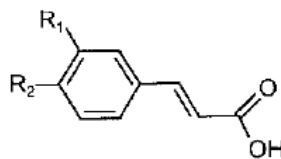
Obsah polyfenolů v rostlinách je silně ovlivněn skladováním, jelikož jsou tyto látky snadno oxidovány. Oxidační reakce vedou ke změnám v kvalitě potravin, zejména v organoleptických vlastnostech a barvě. V některých případech jsou tyto změny prospěšné (černý čaj), v některých nikoli (hnědnutí ovoce). Kromě skladování má vliv na obsah polyfenolů i jejich úprava před vlastní konzumací. Podstatná část polyfenolů může být ztracena již pouhým oloupáním ovoce a zeleniny, jelikož jsou polyfenoly přítomny ve vnějších částech ovoce a zeleniny ve vyšších koncentracích než ve vnitřních. Vaření má také významný vliv, již po 15 minutách varu může ovoce a zelenina ztratit až 80 % původního obsahu polyfenolů. Polyfenoly mohou být rozděleny do různých skupin v závislosti na počtu fenolových kruhů a ostatních substituentech, které se na tyto kruhy váží. Rozdělují se na flavonoidy, fenolické kyseliny, stilbeny a lignany (obrázek 1) [16,21,22].

### Deriváty kyseliny benzoové



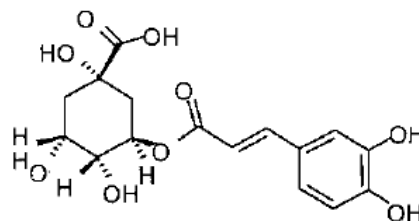
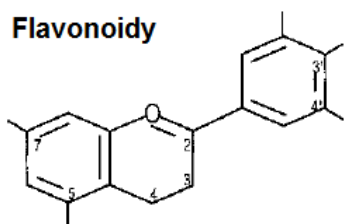
$R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$  : kyselina protokatechuová  
 $R_1 = R_2 = R_3 = OH$  : kyselina gallová

### Deriváty kyseliny skořicové



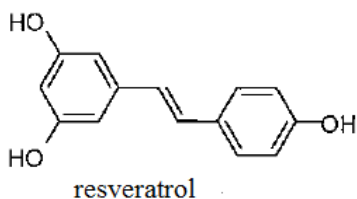
$R_1 = OH$  : kyselina kumarová  
 $R_1 = R_2 = OH$  : kyselina kávová  
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH$  : kyselina ferulová

### Flavonoidy



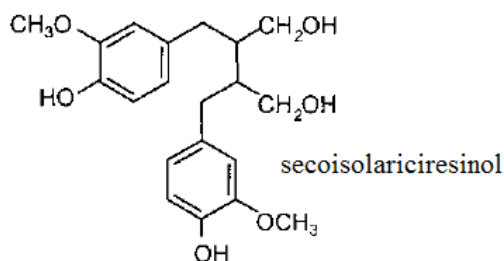
kyselina chlorogenová

### Stilbeny



resveratrol

### Lignany



secoisolariciresinol

Obrázek 1 Chemická struktura polyfenolů [22]

#### 2.2.1.1 Fenolové kyseliny

Sloučeniny ve skupině fenolových kyselin se dělí podle své chemické struktury na deriváty kyseliny benzoové (kyselina gallová, protokatechová) a deriváty kyseliny skořicové (kyselina kávová, p-kumarová, kumaroylchinonová, ferulová a chlorogenová). První uvedené sloučeniny se vyskytují v rostlinách velmi zřídka, výjimkou jsou některé druhy červeného ovoce a některé druhy zeleniny (ředkev, cibule). Důležitým zdrojem kyseliny gallové je čaj. Hydroxybenzoové kyseliny jsou také součástí složitých struktur jako například hydrolyzovatelné taniny (gallotanniny v mangu, ellagoitaniny v červených plodech malin a jahod) [21,22].

Deriváty kyseliny skořicové se vyskytují častěji, ale výjimečně se nachází ve volné formě, častěji jsou navázány na sacharidickou část nebo jsou estericky vázané na kyselinu chinovou, šikimovou nebo tartarovou. Nejvyšší obsah derivátů kyseliny skořicové mají borůvky, kiwi, švestky, jablka a třešně. Nejrozšířenější fenolovou kyselinou je kyselina kávová, která představuje 75-100 % z celkového obsahu fenolových kyselin ve většině ovoce. K nejvýznamnějším biologickým účinkům derivátů kyseliny skořicové patří antikarcinogení a imunosupresivní účinek [15,21,22].

#### **2.2.1.2 Stilbeny**

Jsou nejmenší skupinou polyfenolů, které tvoří dva benzenové kruhy spojené dvouuhlíkatým řetězcem. V lidské stravě se tyto látky vyskytují pouze v malém množství. Deriváty stilbenu se v rostlinách přirozeně vyskytují buď ve formě glykosidů, nebo jako volné sloučeniny, některé z nich vystupují jako fytoalexiny s antifungicidním účinkem. Příkladem nejznámějšího stilbenu je resveratrol, antikarcinogenní látka obsažená v hroznovém víně a ořeších, a žlutě zbarvený rhapontigenin [21,23].

#### **2.2.1.3 Lignany**

Lignany patří k rostlinným difenolickým sloučeninám, jejichž nejbohatším zdrojem jsou lněná a sezamová semínka, která obsahují zejména secoisolariciresinol a v menší míře matairesinol. Lignany jsou považovány za fytoestrogeny a jsou metabolizovány střevními bakteriemi na enterolakton a enterodiol. Tyto imitátory estrogenních látek mohou v těle redukovat efekt estrogenu jeho odsunutím z buněk, a to může vést k prevenci některých druhů nádorů jako je nádor prsu, který je estrogen dependentní. Lignany se také v menší míře vyskytují v ovoci, zelenině, luštěninách a obilovinách [21,22,24,25].

#### **2.2.1.4 Flavonoidy**

Základní strukturu flavonoidů tvoří flavanové jádro (2-fenyl-benzo- $\gamma$ -pyran), to se skládá ze dvou aromatických kruhů (A, B), které jsou vzájemně spojeny třemi atomy uhlíku, které tvoří kyslíkatý heterocykl (C) a mohou být dále rozděleny do šesti podtříd: flavonoly, flavony, isoflavony, flavanony, antokyany a flavanoly. V současné době je známo více než 6400 různých druhů flavonoidů, které se vyskytují v rostlinách, přičemž hlavními představiteli jsou kvercerin a kaempferol.

Flavonoidy se vyskytují nejčastěji ve formě glykosidů, cukerná složka (nejčastěji glukosa nebo ramnosa) stericky překáží enzymu polyfenoloxidáze, tím zabraňuje enzymovému hnědnutí. Tato forma také umožňuje flavonoidům vyšší rozpustnost



v běžných fyziologických podmínkách rostlinné buňky. Nejbohatším zdrojem flavonoidů je cibule, kapusta, pórek, brokolice, borůvky, ale také červené víno a čaj [15, 22].

### 2.2.2 Stanovení fenolických látek

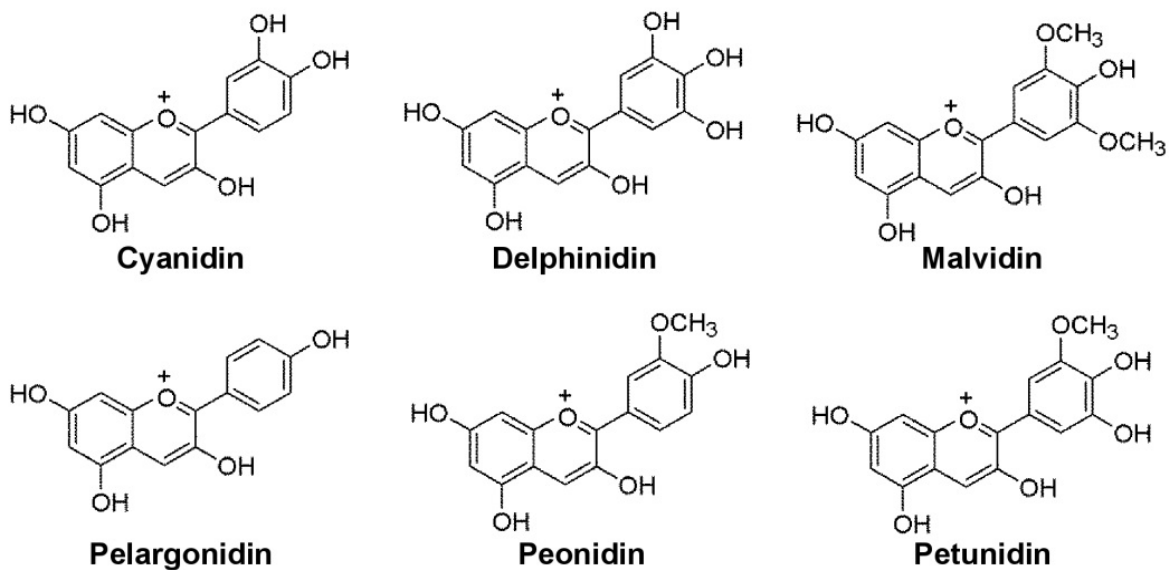
Fenolické látky je možné stanovit několika způsoby. Poměrně široce používanou metodou je stanovení pomocí kapalinové chromatografie například ve spojení s citlivým coulometrickým detektorem.

Široce využívanou metodou stanovení fenolických látek v potravinách je reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Její podstatou je chemická redukce činidla obsahujícího fosfomolybdenan a fosfowolframan vedoucí ke změně zbarvení, které se měří spektrofotometricky. Jednoduše metodou pro stanovení fenolických látek je metoda podle Price a Butlera (PBM), která je založena na redukcí hexakvanoželezitanu na hexakvanoželeznatan a vzniku charakteristického modrého zbarvení. Citlivou metodou je CUPRAC spektrofotometrie založená na redukcí měďnatých iontů na měďné v prostředí o pH 7 v přítomnosti činidla neocuproinu. Neocuproin tvoří s měďnými ionty komplexy, které absorbují při vlnové délce 450 nm [24,26,27].

### 2.3 Antokyany

Antokyany jsou ve vodě rozpustné sloučeniny, patřící do skupiny flavonoidů, které jsou zodpovědné za červené až modrofialové zbarvení ovoce, zeleniny, květin a koření. Název antokyany vychází z řeckého *anthos* – květina a *kyanos* –modrá. Antokyany jsou největší skupinou fenolických látek, která zahrnuje přes 9000 identifikovaných sloučenin. Z chemického hlediska jsou to heteroglykosidy, které mají dvě složky, barevnou tzv. aglykony, nazývané antokyanidiny, a cukernou.

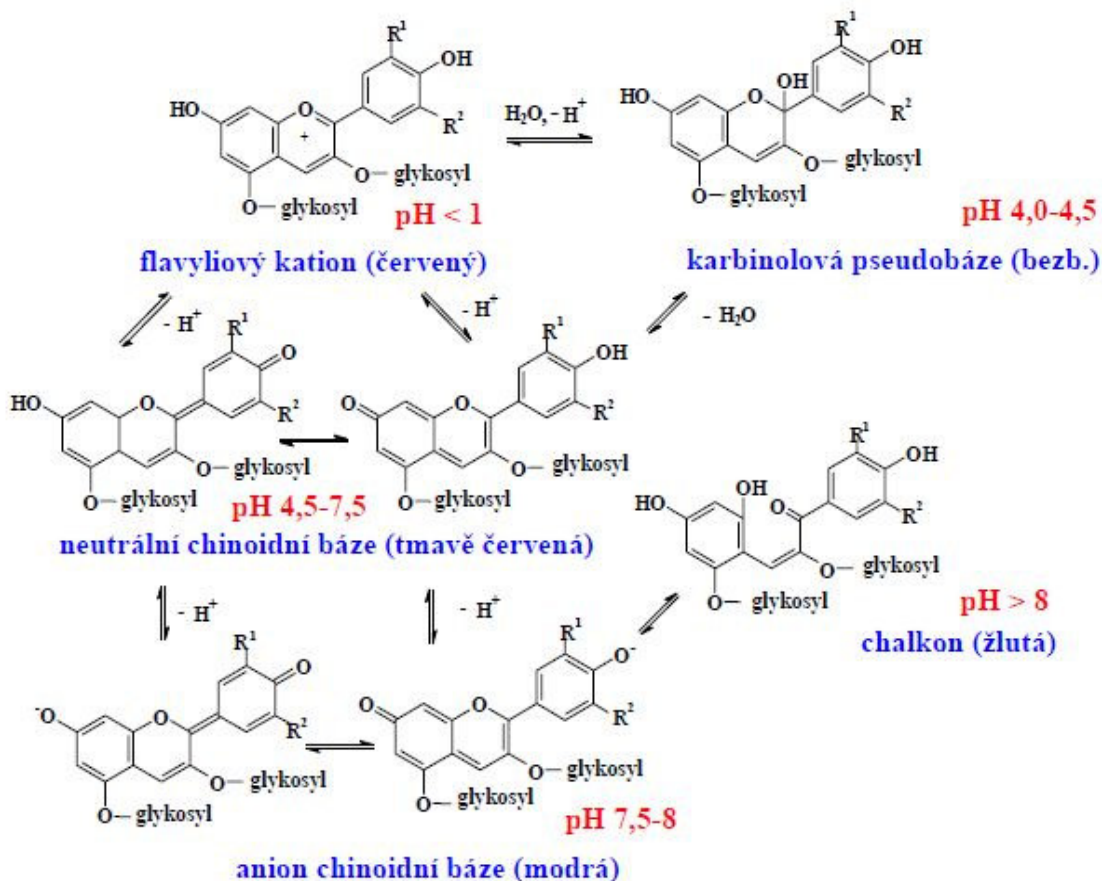
Antokyanidiny jsou odvozeny od základní struktury, kterou je flavyliový kation. V přírodě existuje 19 různých antokyanidinů, přičemž nejvíce rozšířených v jedlých rostlinách je jich pouze šest - kyanidin, pelargonidin, peonidin, petunidin, delphinidin a malvidin (obrázek 2) [21,28].



Obrázek 2 Chemická struktura antokyanidinů [29]

Aglykony jsou vázány glykosidickou vazbou na cukernou složku, nejčastěji v polohách C3, C5 a C7. Cukernou složkou je jeden z pěti sacharidů, nejčastěji se jedná o D-glukosu, L-rhamnosu, D-galaktosu a méně častěji pak L-xylosu a L-arabinosu. Druh navázaného cukru nemá na vlastnosti výsledného antokyanu velký vliv, významnější vliv má poloha, kde je navázaný [23,30].

Antokyany jsou lokalizovány ve vakuolách uvnitř buněk a stabilizují se interakcí ionů s organickými kyselinami – jablečná, citronová a malonová. Barva antokyanidů je fialovější s rostoucí hydroxylací nebo metoxylací aglykonu. Intenzita a barevný odstín antokyanů jsou výrazně ovlivněny pH prostředím. V závislosti na pH mají antokyany pět barevných forem – červený flavyliový kationt, bezbarvá karbinolová pseudobáze, purpurově červená neutrální chinoidní báze, modrá chinoidní báze a žlutě zbarvený chalkon [23,30].



Obrázek 3 Zobrazení změny zbarvení antokyanů v závislosti na pH [31]

### 2.3.1 Metody stanovení antokyanů

K dříve používaným metodám stanovení obsahu antokyanů patřila papírová a tenkovrstvá chromatografie TLC. V současné době se místo těchto dvou metod více využívá molekulová absorpční spektrometrie v UV/VIS oblasti zejména pro její rychlost, experimentální nenáročnost, citlivost a nižší ekonomické náklady [21,32,33,34,35].

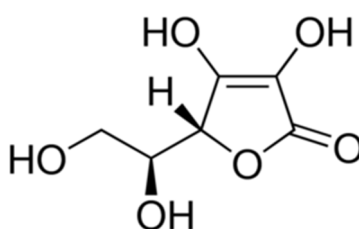
Stanovení antokyanů spektrofotometricky se provádí pH diferenciální metodou. Tento postup využívá toho, že změnou pH dochází k reverzní změně struktury antokyanů projevující se změnou zbarvení a absorpance, kterou je možné změřit [34].

Pro stanovení antokyanů se také často využívá vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC. Nejčastěji využívanou metodou detekce antokyanů u HPLC je UV/VIS spektrometrie, detektor s diodovým polem, HPLC s hmotnostní detekcí nebo s nukleární magnetickou rezonancí, přičemž posledních dvou zmiňovaných typů detekce se využívá zejména pro objasnění struktury antokyanů [21,32,36].

Pro separaci, identifikaci a kvantitativní stanovení antokyanů je vhodnou metodou kapilární elektroforéza, zejména zónová kapilární elektroforéza CZE, jelikož vyniká vysokou citlivostí, nízkou spotřebou vzorku a minimální produkcí odpadu. Pro sledování analytů se používá UV/VIS detekce při vlnové délce 599 nm [21,32].

## 2.4 Vitamin C

Základní biologicky aktivní sloučeninou vitamínu C je kyselina askorbová, přesněji jeden z jejích čtyř stereoisomerů-kyselina L-askorbová (1,4-lakton L-threo-hex-2-enonová kyselina). Název vitamin C zahrnuje kromě kyseliny L-askorbové i celý reversibilní redoxní systém (L-monodehydroaskorbovou a L-dehydroaskorbovou kyselinu).



Obrázek 4 Chemická struktura vitamínu C [37]

Vitamin C je rozpustný ve vodě a je jedním z nejdůležitějších vitaminů pro zdraví člověka. V organismu se účastní mnoha reakcí jako je například absorpce iontových forem železa, biosyntéza kortikosteroidů, hydroxyprolinu, katecholaminů a kolagenu. Má antioxidační vlastnosti a zabraňuje oxidaci vitamínu E a LDL cholesterolu, čímž chrání před aterosklerózou. K dalším pozitivům této látky patří schopnost snižovat toxicitu řady xenobiotik a potlačovat některé typy rakoviny. Vitamin C je velmi důležitý pro funkci imunitního systému [23,38,39].

Protože lidé stejně jako někteří další primáti si nejsou schopni vitamin C syntetizovat, musí ho přijímat v potravě. Vitamin C se přirozeně vyskytuje hlavně v ovoci a zelenině, z živočišných produktů pak v játrech a mléce. Ze všech vitaminů má vitamin C nejmenší stabilitu a dochází k jeho velkým ztrátám v průběhu zpracování potravin nebo skladováním ovoce. Vitamin C je málo odolný vůči přítomnosti vzduchu, vyšší teplotě, přítomností kovů a některých enzymů. Jeho doporučená denní dávka se pohybuje od 75 do 200 mg/den pro dospělého člověka. Hypovitaminóza vitamínu C se projevuje únavou, zpomaleným růstem a zvýšenou kazivostí zubů a žaludečními problémy. Avitaminóza vitamínu C způsobuje onemocnění nazvané kurděje (skorbut), které se projevuje po 45-80 dnech

bez vitamínu C. V současné době se tato nemoc v západním světě vyskytuje velmi vzácně. Příznaky kurdějí jsou otoky a krvácení dásní, krvácením pod kůží, do nehtových lůžek a do svalů, poruchy krve tvorby, vypadávání zubů, špatné hojení ran, únava a snížení obranyschopnosti [38,39,40,41,42,43].

Využití vitamínu C je zejména v potravinářství jako aditivum, které zpomaluje oxidaci potravin a stabilizuje barvu ve výrobcích z ovoce a zeleniny. Dále se využívá jako antioxidační činidlo v mléčných a rybích produktech a v tucích [39, 41].

#### **2.4.1 Metody stanovení vitamínu C**

Vitamin C se velmi často stanovuje pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie a nejčastěji je používána RP-HPLC- vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází a to z důvodu netěkavé a hydrofilní povahy vitamínu C. Je však možné použít také iontově výměnnou nebo tzv. HILIC metodu (s hydrofilickou interakcí). Byla také použita UHPLC - ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie zejména kvůli kratšímu času analýzy a mnohem menší spotřebě rozpouštědla. Protože má kyselina L-ascorbová silnou absorpci v UV spektru (245-270 nm) je měření absorbance nejpopulárnější metodou detekce. Absorbance však závisí na pH, a proto je nutné s tím při volbě podmínek počítat. Méně často se využívá fluorescenční detekce, elektrochemické a hmotnostní detekce [38, 40].

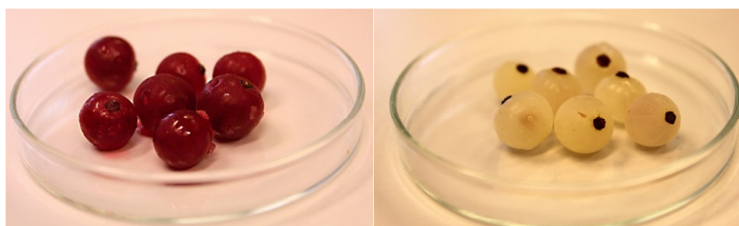
Vitamin C je také možné kvantitativně stanovit reflektometricky nebo stále používanou klasickou titrační metodu s 2,6-dichloroindofenolem (podle AOAC, metoda označená kódem 967.21), která je velmi jednoduchá a má nízké ekonomické náklady [38,44,45, 46].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Analyzované vzorky

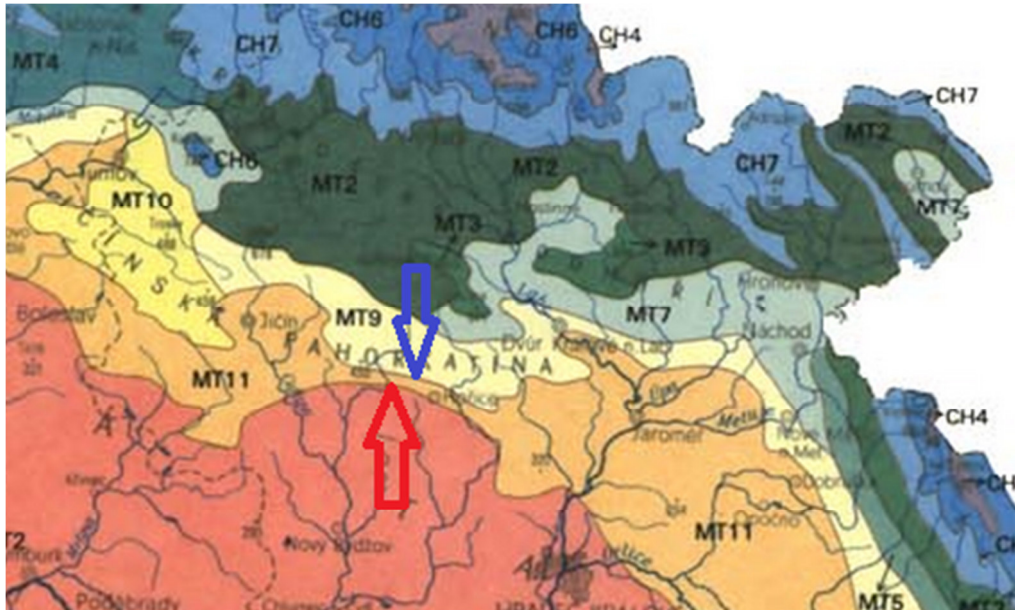
Analyzované vzorky červeného a bílého rybízu pocházely ze dvou stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele z obce Ostroměř. Ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském byly všechny studované odrůdy pěstovány ve dvou tvarových modifikacích KEŘ a V (keř střižený do tvaru V). Vzorky dodaných plodů byly pečlivě označeny podle toho, ze které tvarové modifikace pocházejí. Od soukromého pěstitele byla dodána od každé odrůdy pouze směs plodů těchto dvou tvarových modifikací.

Z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byly analyzovány odrůdy červeného rybízu – Detvan, Jesan, Jokheer van Tets, Junnifer, Kozolupský raný, Losan, NŠLS 11/6, Rovada, Rubigo, Stansa a Tatran a odrůdy bílého rybízu – Blanka, Jantar, Olin, Orion, Primus a Viktorie, které byly sbírány ve dnech od 25.6. do 24.7.2014. Od soukromého pěstitele byly dodány totožné odrůdy kromě odrůdy Detvan, s datem sběru 3. a 17.7.2014. Do vlastního měření byly vzorky uchovány ve zmrazeném stavu.



Obrázek 5 Bobule červeného a bílého rybízu

Obě oblasti odkud byly rybízové plody dodány, se nachází v okrese Jičín v Královéhradeckém kraji a obce Ostroměř a Holovousy spolu přímo sousedí. Obec Ostroměř se nachází v nadmořské výšce 263 m a Holovousy v 306 m. n. m. Tyto dvě místa se nachází v teplé a mírně teplé oblasti (Obrázek 6) a jednotlivé meteorologické údaje k těmto oblastem jsou uvedeny na obrázku 7.



Obrázek 6 Znárodnění obcí Ostroměř (červená šipka) a Holovousy (modrá šipka) na mapě teplotních oblastí v České republice [47]

	TEPLÁ		MÍRNĚ TEPLÁ
	T2	T4	MT2
	oranžová	červená	khaki
<b>LetD</b>	50-60	60-70	20-30
<b>HVO</b>	160-170	170-180	140-160
<b>MD</b>	100-110		110-130
<b>LD</b>	30-40		40-50
<b>°C I</b>	-2 - -3		-3 - -4
<b>°C IV</b>	8-9	9-10	6-7
<b>°C VII</b>	18-19	19-20	16-17
<b>°C X</b>	7-9	9-10	6-7
<b>s<sub>≥1mm</sub></b>	90-100	80-90	120-130
<b>s VO</b>	350-400	300-350	450-500
<b>s VZ</b>	200-300		250-300
<b>sp</b>	40-50		80-100
<b>o&gt;0,8</b>	120-140	110-120	150-160
<b>o&lt;0,2</b>	40-50	50-60	40-50

Obrázek 7 Meteorologické údaje k zájmovým oblastem, kde LetD – počet letních dní, HVO – počet dní s teplotou alespoň 10 °C, MD – počet mrazových dní, LD – počet ledových dní, °C I – průměrné teploty v lednu, °C IV – průměrné teploty v dubnu, °C VII – průměrné teploty v červenci, °C X – průměrné teploty v říjnu, s<sub>≥1mm</sub> počet dní se srážkami alespoň 1 mm, s VO – srážkový úhrn ve vegetačním období, s VZ – srážkový úhrn v zimním období, sp – počet dní se sněhovou pokrývkou, o>0,8 – počet jasných dní, o<0,2 počet zatažených dní [47].

## 3.2 Laboratorní vybavení

### 3.2.1 Přístroje

- Chladnička a lednička (Gorenje, Elektrolux, Zanussi)
- Analytické váhy (Boeco, Japonsko)
- Ruční homogenizátor Ultra Turrax T18 Basic (IKA, Německo)
- Centrifuga T 52.1 (IKA Německo)
- Vývěva KNF (LAB Laboport, Německo)
- Vortex TTS 2 (IKA Yellow line, Německo)
- Spektrofotometr Helios Delta (Spectronic Unicam,UK)
- pH metr (Monokrystaly Turnov, ČR)
- Přístroj na přípravu deionizované vody (Labicom, ČR)
- Ultrazvuková lázeň NETZ (Kraintek, Německo)
- HPLC přístroj (Shimadzu, Japonsko)
  - pumpa - LC-10AD
  - detektor SPD-M10AVP
  - degaser - GT-104
  - software - CLASS LC

### 3.2.2 Pomůcky

- Laboratorní sklo (kádinky, odměrné baňky, odměrné válce, nálevky, zkumavky)
- Skleněné pipety
- Laboratorní stojan
- Stojan na zkumavky
- Centrifugační kyvety
- Büchnerova nálevka
- Odsávací baňka
- Filtrační papír
- Mikrofiltry
- Kyveta
- Automatické pipety 10,100, 200 1000  $\mu$ l



### 3.2.3 Chemikálie

- Folin – Ciocaltauovo činidlo (Penta)
- Bezvodý uhličitan sodný,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Lachema a.s.)
- Kyselina gallová,  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ , 97,5 – 102,5 % (Penta)
- Chlorid draselný,  $\text{NaCl}$ , p.a. (Lachema)
- Trihydrát octanu sodného,  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ , p.a. (Lachema a.s.)
- Kyselina chlorovodíková,  $\text{HCl}$ , 35 % (Lach – ner s.r.o.)
- Kyselina metafosforečná,  $\text{HPO}_3$ , 56 – 60% (VWR Prolabo chemicals)
- Kyselina L – askorbová,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  (Sigma Aldrich)
- Dihydrogenfosforečnan draselný,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , p.a. (Lachema a.s.)
- Methanol,  $\text{CH}_3\text{OH}$  (pro HPLC, Sigma – Aldrich)

## 3.3 Stanovení celkových fenolických látek pomocí Folin-Ciocaltauova činidla

### 3.3.1 Příprava roztoků

#### 7,5 % uhličitan sodný

Bylo naváženo 15 g krystalického  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a tato navážka byla rozpuštěna v destilované vodě. Roztok byl převeden do odměrné baňky o objemu 200 ml a doplněn po rysku destilovanou vodou.

#### Zásobní roztok kyseliny gallové o koncentraci $1000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Bylo naváženo 0,025 g kyseliny gallové a navážka byla rozpuštěna v destilované vodě, následně byl roztok kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplněn po rysku destilovanou vodou.

### 3.3.2 Kalibrační křivka

Byly připraveny kalibrační standardy o koncentracích 12,5; 25; 50; 100 a  $200 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Kalibrační roztoky byly připraveny napipetováním 0,1 ml Folin-Ciocaltauova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml jednotlivých kalibračních standardů do zkumavek. Zkumavky byly promíchány na vortexu a ponechány 5 minut stát, poté bylo přidáno 1,5 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného. Vše bylo opět promícháno na vortexu a ponecháno dvě hodiny reagovat. Po uplynutí této doby byly u kalibračních roztoků proměřeny absorbance při vlnové délce 750 nm. Byly připraveny tři vzorky o stejné koncentraci a po proměření byly z naměřených hodnot vypočteny průměry a z nich sestavena kalibrační křivka (graf 1).



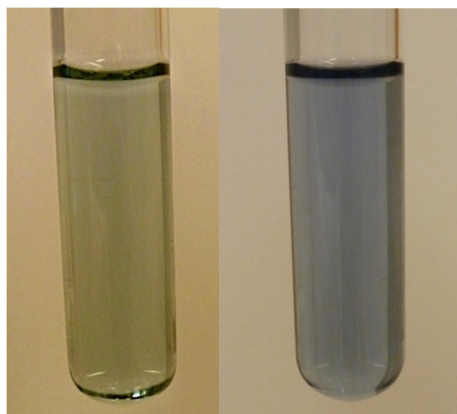
Obrázek 8 Spektrofotometr Helios Delta

### 3.3.3 Příprava vzorku

Plody rybízů bez zelených stopek byly naváženy na 4,7 g s přesností na čtyři desetinná místa. Po rozmrazení byly bobule rybízu zhomogenizovány pomocí homogenizátoru, následně převedeny do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplněny po rysku destilovanou vodou. Obsah odměrných baněk byl centrifugován po dobu 2,5 minut při rychlosti 2500 otáček za minutu. Suspenze byla poté přefiltrována. Od každé odrůdy byly připraveny tři vzorky a každý vzorek byl stanovován třikrát. Tímto způsobem byly připravovány vzorky i pro stanovení antokyanů.

### 3.3.4 Pracovní postup

Šťáva připravená podle 3.3.3. pro stanovení polyfenolů byla zředěna v poměru 1:1 u bílých rybízů a 2:1 u červených rybízů. Do zkumavek bylo napipetováno nejdříve Folin-Ciocalteuova činidlo o objemu 0,1 ml, přidáno 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml zředěného vzorku. Vše bylo promícháno na vortexu a ponecháno 5 minut odstát. Po uplynutí uvedené doby bylo do zkumavek přidáno 1,5 ml 7,5% roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a opět bylo vše pečlivě promícháno. Roztok byl ponechán 2 hodiny reagovat a poté byla měřena absorbance při vlnové délce 750 nm. Slepý vzorek byl připraven výše uvedeným způsobem, s tím rozdílem, že místo zředěného vzorku byla přidána destilovaná voda.



Obrázek 9 Barva vzorku pro stanovení celkových fenolických látek ihned po přípravě (vlevo), po 2 hodinách (vpravo)

### **3.4 Stanovení celkových antokyanů**

#### **3.4.1 Příprava roztoků**

##### **0,025 M roztok chloridu draselného o pH 1**

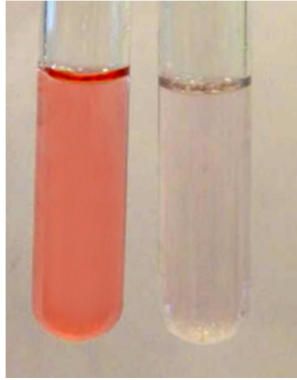
Bylo naváženo 0,9 g chloridu draselného a tato navážka byla rozpustěna v 480 ml destilované vody. U připraveného roztoku bylo následně upraveno pH na hodnotu 1,0 přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Roztok byl následně převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml a doplněn se destilovanou vodou po rysku.

##### **0,4 M roztok octanu sodného o pH 4,5**

Bylo naváženo 27,2 g octanu sodného a navážka byla rozpuštěna v 480 ml destilované vody. U připraveného roztoku bylo následně upraveno pH na hodnotu 4,5 přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Roztok byl poté převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku.

#### **3.4.2 Pracovní postup a vlastní stanovení obsahu celkových antokyanů**

Pro jednu odrůdu bylo připraveno 6 zkumavek. V případě odrůd červených rybízů bylo do první trojice zkumavek napipetováno 2,7 ml pufru o pH 1,0 a do zbylých tří 2,7 ml pufru o pH 4,5. Následně bylo do všech 6 zkumavek přidáno 0,3 ml nezředěného vzorku šťávy červeného rybízu. Pro stanovení obsahu antokyanů u odrůdy bílých rybízů byl objem pipetovaných pufrů 2,5 ml a 0,5 ml nezředěného vzorku šťáv. Vše bylo promícháno na vortexu a ihned proměřeno na spektrofotometru při vlnových délkách 510 nm a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.



Obrázek 10 Porovnání zbarvení vzorků červeného rybízu pro stanovení antokyanů- vlevo v pufru o pH 1, vpravo v pufru o pH 4,5

Z naměřených absorbancí se vypočítá výsledná absorbance  $A$  podle vzorce:

$$A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (1)$$

Následně se vypočítá koncentrace monomerního pigmentu kyanidin 3-glukosidu  $c_{MA}$ :

$$c_{MA} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\epsilon \cdot l} [mg \cdot l^{-1}] \quad (2)$$

kde  $A$ -vypočítaná výsledná absorbance

$M$ -molekulová hmotnost antokyanu kyanidinu 3-glukosidu [ $g \cdot mol^{-1}$ ]

$F$ -faktor ředění

$\epsilon$ -molární extinkční koeficient [ $cm^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot l$ ]

$l$ -délka kyvety [cm]

Koncentrace monomerního pigmentu se přepočítá na 100 g plodů pomocí vzorce:

$$c = \frac{V \cdot 0,1 \cdot c_{MA}}{m} [mg \cdot 100g^{-1}] \quad (3)$$

kde  $V$ - objem šťávy [ml]

$m$ -navážka plodů [g]

## **3.5 Stanovení vitamínu C**

### **3.5.1 Příprava roztoků**

#### **2% kyselina metafosforečná**

Bylo odváženo 34 g 57-60% kyseliny metafosforečné, toto množství kyseliny bylo rozpuštěno ve 200 ml deionizované vody, která byla zahřívána. Roztok byl převeden do 1000 ml odměrné baňky a doplněn po rysku deionizovanou vodou.

#### **Mobilní fáze**

Mobilní fází pro vlastní stanovení vitamínu C byla  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ :metanol v poměru 9:1. Navážka 13,6025 g dihydrogenfosforečnanu draselného byla rozpuštěna v 900 ml redestilované vody, poté bylo doplněno 100 ml metanolu a roztok byl odplyněn v ultrazvuku. Nepufrovaná mobilní fáze byla tvořena deionizovanou destilovanou vodou a metanolem v poměru 9:1.

#### **Standardní roztok kyseliny askorbové**

Pro přípravu standardního roztoku o koncentraci  $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  bylo naváženo 0,025 g kyseliny L-askorbové a tato navážka byla rozpuštěna v 2% kyselině metafosforečné, kvantitativně převedena do 25 ml odměrné baňky a doplněna po rysku 2% kyselinou metafosforečnou. Roztok byl uchováván po celou dobu v lednici.

#### **Kalibrační křivka**

Byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 1, 10, 40 a  $150 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Do odměrných baněk o objemu 10 ml bylo napipetováno 10, 100, 400 a  $1500 \mu\text{l}$  standardního roztoku kyseliny askorbové a byly doplněny po rysku 2% kyselinou metafosforečnou. Kalibrační roztoky byly proměřeny na HPLC, vždy tři nástřiky pro danou koncentraci. Z průměrných hodnot pak byla sestavena kalibrační křivka (graf 12).

### 3.5.2 Příprava vzorků

Plody rybízů byly naváženy na 4,7 g s přesností na čtyři desetinná místa. K navážce bylo přidáno malé množství 2% kyseliny metafosforečné a vzorky se nechaly rozmrazit. Po rozmrazení byly bobule rybízu zhomogenizovány pomocí homogenizátoru, následně převedeny do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplněny po rysku 2% kyselinou metafosforečnou. Obsah odměrných baněk byl následně přefiltrován. Od každé odrůdy byly připraveny tři vzorky.

### 3.5.3 Pracovní postup a vlastní stanovení vitamínu C

Přefiltrované vzorky byly uchovávány v lednici až do doby těsně před nástřikem vzorku do kolony. Před nástřikem byla šťáva přefiltrována přes mikrofiltr. Velikost nástřiku byla 10  $\mu\text{l}$  a vždy byly prováděny tři nástřiky vzorku. Měření bylo prováděno na koloně Gemini 5u C18 110A s rozměry 150 x 4,6 mm a velikostí částic 5  $\mu\text{m}$ . Průtok mobilní fáze v HPLC byl 1  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Pro detekci byl použit UV detektor, který byl nastaven na 254 nm.



Obrázek 11 HPLC kolona Gemini



Obrázek 12 Přístroj HPLC Shimadzu

Z ploch naměřených píků kalibračních roztoků byla sestavena kalibrační křivka s rovnicí regrese. Z hodnot ploch píků jednotlivých odrůd byla vypočítána průměrná hodnota a ta byla pomocí rovnice regrese z kalibrační křivky přepočítána na průměrnou koncentraci kyseliny L-askorbové v konkrétním vzorku. Průměrná koncentrace byla pak následně přepočtena a vyjádřena v mg na 100 g plodů rybízu podle vzorce:

$$c = \frac{x \cdot V \cdot F \cdot 0,1}{m} [mg \cdot 100g^{-1}] \quad (4)$$

kde x- koncentrace kyseliny askorbové odečtené z kalibrační křivky [ $mg \cdot l^{-1}$ ]

V- objem vzorku šťávy [ml]

F-faktor ředění

m-navážka plodů [g]

### 3.6 Statistické zpracování

#### Hodnocení hrubých chyb

Přítomnost hrubé chyby v ojedinělém výsledku paralelního stanovení se projeví odlehlostí této hodnoty od ostatních. Pro malý soubor naměřených výsledků se používá Dean-Dixonův test. Pro použití tohoto statistického testu je nutné vypočítat rozpětí souboru:

$$R = x_{max} - x_{min} \quad (5)$$

$x_{max}$ -nejvyšší naměřená hodnota

$x_{min}$ -nejnižší naměřená hodnota

Dean Dixonův test:

$$Q_m = \frac{x_m - x_{m-1}}{R} \quad (6)$$

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad (7)$$

Vyhodnocení: Zjištěné hodnoty testování odlehlosti maxima  $Q_m$  a minima  $Q_1$  se porovnají s tabelovanou kritickou hodnotou  $Q_{n,\alpha}$ . V případě, že  $Q_m(Q_1) < Q_{n,\alpha}$ , je rozdíl statisticky nevýznamný na  $\alpha$  a výsledek není odlehlý. Pokud je  $Q_m(Q_1) > Q_{n,\alpha}$ , je rozdíl statisticky významný na  $\alpha$  a výsledek je odlehlý.

#### Popisná statistika

Směrodatná odchylka  $s$

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad (8)$$

Relativní směrodatná odchylka

$$s_r[\%] = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (9)$$



Rozptyl

$$s^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n} \quad (10)$$

Interval spolehlivosti

$$\mu = \bar{x} \pm t_{\alpha, v} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (11)$$

Shodnost výsledků

Pro testování shodnosti výsledků stejného počtu výsledků  $n_A = n_B = n$  se použije Studentův test t:

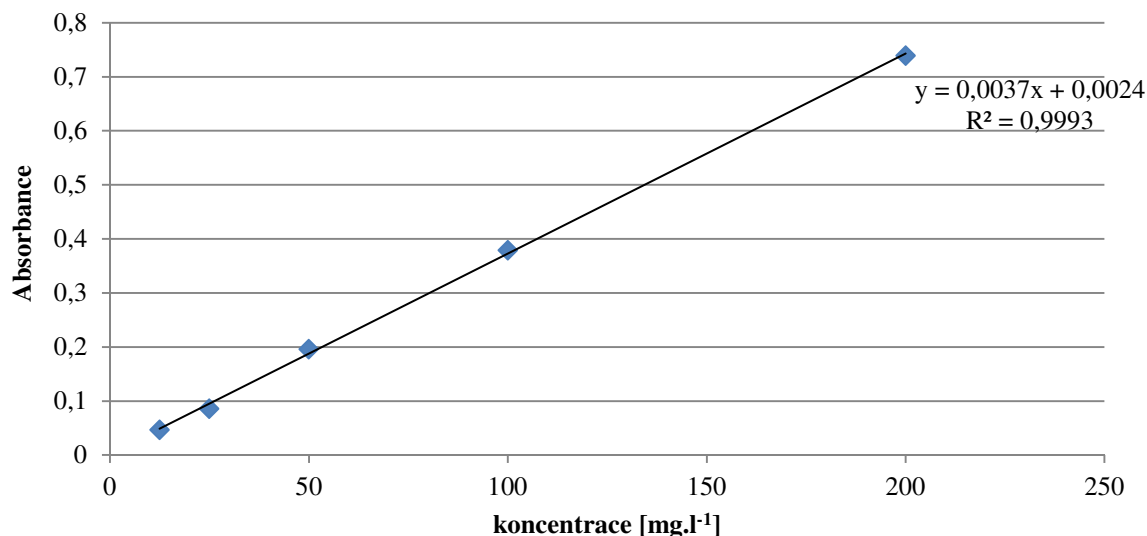
$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{n-1}}{\sqrt{s_A^2 + s_B^2}} \quad (12)$$

V případě že  $t < t_{\alpha, v}$  je rozdíl statisticky nevýznamný na  $\alpha$  a výsledky jsou shodné, v opačném případě  $t \geq t_{\alpha, v}$  je rozdíl statisticky významný na  $\alpha$  a výsledky nejsou shodné.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Stanovení celkových fenolických látek

Celkové fenolické látky byly stanoveny spektrofotometricky po redukci Folin-Ciocalteuova činidla, jak je popsáno v kapitole 3.1. Koncentrace ekvivalentů kyseliny gallové byly vypočteny z kalibrační závislosti a výsledky byly uvedeny v tabulkách v miligramech na 100 gramů vzorku.



Graf 1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

#### 4.1.1 Stanovení celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu

Bylo analyzováno celkem 11 odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., přičemž plody každé odrůdy byly dodány z obou tvarových modifikací KEŘ a V. V závěru byly nalezené hodnoty vzájemně porovnány. Od soukromého pěstitele bylo analyzováno 10 odrůd červeného rybízu, jako směs obou tvarových modifikací. Nebyla v porovnání s druhým stanovištěm dodána odrůda Detvan. Koncentrace celkových fenolických látek odrůd červeného rybízu by se měly podle literatury pohybovat okolo hodnoty 267,5 mg·100 g<sup>-1</sup> [48].

**4.1.1.1 Stanovení koncentrace celkových fenolických látek v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.**

Tabulka 2 Vypočítané hodnoty celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

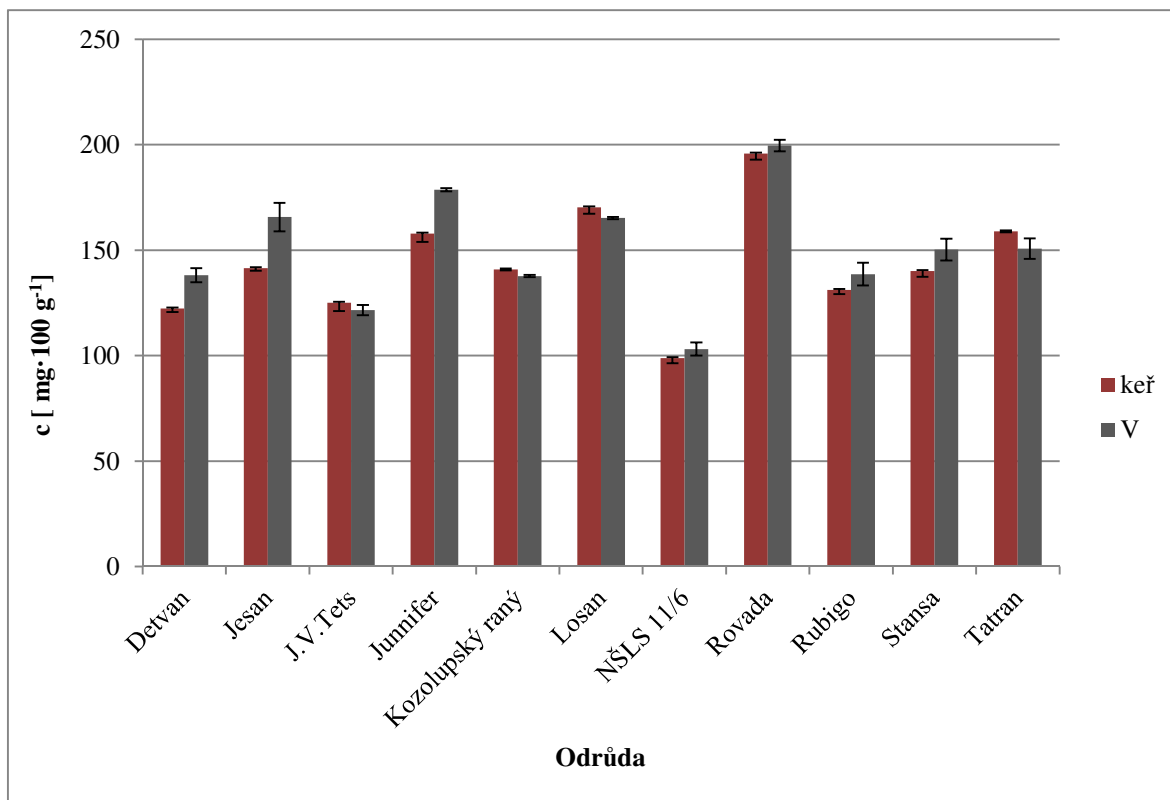
Odrůda	Typ	Průměrná absorbance	Průměrná koncentrace celkových fenolických látek [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
Detvan	KEŘ	0,302	122,4±1,7
	V	0,341	138,1±3,3
Jesan	KEŘ	0,350	141,4±1,3
	V	0,409	165,7±6,7
J.V. Tets	KEŘ	0,464	125,1±3,9
	V	0,299	121,6±2,4
Junnifer	KEŘ	0,391	157,9±3,8
	V	0,442	178,7±0,7
Kozolupský raný	KEŘ	0,348	140,9±0,5
	V	0,339	137,7±0,5
Losan	KEŘ	0,420	170,3±3,1
	V	0,407	165,3±0,5
NŠLS 11/6	KEŘ	0,239	98,9±2,4
	V	0,254	103,1±3,1
Rovada	KEŘ	0,482	195,7±2,8
	V	0,492	199,6±2,7
Rubigo	KEŘ	0,323	131,2±2,1
	V	0,341	138,6±5,4
Stansa	KEŘ	0,345	140,1±2,8
	V	0,370	150,2±5,2
Tatran	KEŘ	0,393	158,9±0,5
	V	0,372	150,7±4,8

Obsah fenolických látek v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohyboval v rozmezí 98,9 až 199,6 mg·100 g<sup>-1</sup> vzorku. Nejnižší koncentrace byla naměřena u odrůdy NŠLS 11/6 KEŘ 98,9 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůdy Rovada V 199,6 mg·100 g<sup>-1</sup>. Byl proveden Studentův test shodnosti obsahu celkových fenolických látek u typu KEŘ a V (tabulka 3) na hladině statistické významnosti  $\alpha=0,01$  (99 %), kritická hodnota Studentova testu je 9,925. Bylo prokázáno,

že výsledky jsou shodné u tří odrůd J.V.Tets, NŠLS 11/6 a Rovada. Z výsledků lze odvodit, že tvar rostliny měl vliv na obsah celkových fenolických látek. Porovnání obsahu celkových fenolických látek u tvarových modifikací KEŘ a V je zobrazeno v grafu 2. Hodnoty chybových úseček jsou vypočítané intervaly spolehlivosti. Zjištěné hodnoty celkových fenolických látek jsou nižší, než udává literatura. Rozdíl může být způsoben jinými klimatickými podmínkami, stanovištěm nebo odlišným stupněm zralosti.

Tabulka 3 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost modifikací KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Detvan	34,198	Výsledky nejsou shodné
J.V. Tets	6,170	Výsledky jsou shodné
Jesan	28,626	Výsledky nejsou shodné
Junnifer	42,788	Výsledky nejsou shodné
Kozolupský raný	35,859	Výsledky nejsou shodné
Losan	13,189	Výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	8,652	Výsledky jsou shodné
Rovada	8,0230	Výsledky jsou shodné
Rubigo	10,397	Výsledky nejsou shodné
Stansa	13,842	Výsledky nejsou shodné
Tatran	13,703	Výsledky nejsou shodné



Graf 2 Porovnání hodnot celkových fenolických látek mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

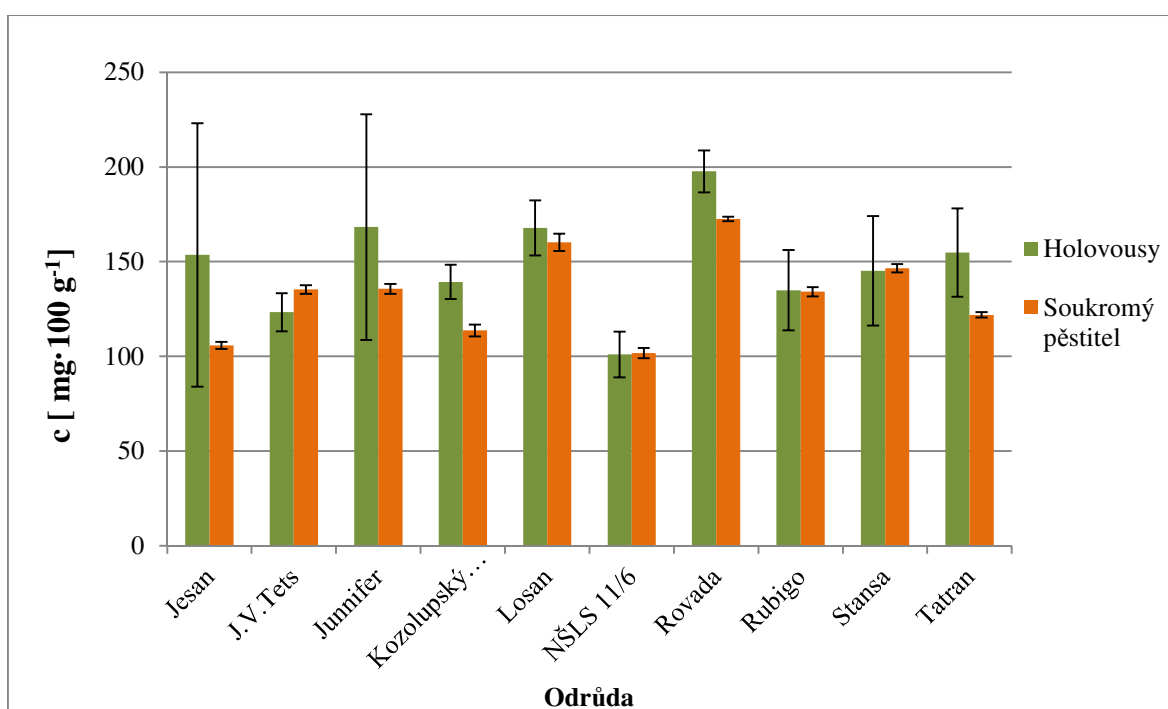
#### 4.1.1.2 Stanovení celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele

Tabulka 4 Vypočítané hodnoty celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele

Odrůda	Typ	Průměrná absorbance	Průměrná koncentrace celkových fenolických látek [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
J.V. Tets	směs	0,261	135,3±2,2
Jesan	směs	0,334	105,8±1,9
Junnifer	směs	0,338	135,6±2,6
Kozolupský raný	směs	0,283	113,7±3,1
Losan	směs	0,395	160,3±4,5
NŠLS 11/6	směs	0,252	101,8±2,7
Rovada	směs	0,425	172,6±1,2
Rubigo	směs	0,331	134,1±2,4
Stansa	směs	0,363	146,6±2,2
Tatran	směs	0,300	121,9±1,4

Ve vzorcích červených rybízů od soukromého pěstitele se obsah celkových fenolických látek pohyboval v rozmezí 101,8 až 160,3 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnota byla stanovena u odrůdy NŠLS 11/6 101,8 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůdy Losan 160,3 mg·100g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty jsou nižší, než udává literatura, u odrůd Jesan, Kozolupský raný a NŠLS 11/6 jsou hodnoty poloviční oproti údajům v literatuře.

Soukromý pěstitel nedodal odrůdy červeného rybízu ve tvarových modifikacích KEŘ a V. Aby bylo možné orientačně porovnat rozdíl mezi oběma stanovišti, byl vypočítán průměr z naměřených hodnot u modifikací KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.



Graf 3 Porovnání hodnot celkových fenolických látek u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele.

Porovnání odrůd červeného rybízu z obou stanovišť bylo zjištěno, že vyšší obsah celkových fenolických látek mělo 6 odrůd (Jesan, Junnifer, Kozolupský raný, Losan, Rovada a Tatran) z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Odrůda J.V. Tets měla vyšší obsah fenolických látek od soukromého pěstitele a zbylé tři odrůdy (NŠLS 11/6, Rubigo a Stansa) měly obsah celkových fenolických látek téměř totožný u obou stanovišť.

#### 4.1.2 Stanovení celkových fenolických látek v odrůdách bílého rybízu

Bylo analyzováno celkem 6 odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele. Z prvního uvedeného stanoviště byly odrůdy dodány vždy ve dvou tvarových modifikacích KEŘ a V, které byly v závěru porovnány, od soukromého pěstitele byly dodány směsí obou tvarových modifikací. Koncentrace celkových fenolických látek v odrůdách červeného rybízu by se měly podle literatury pohybovat v rozmezí od 38,9 do 51,9 mg·100 g<sup>-1</sup> [48].

##### 4.1.2.1 Stanovení koncentrace celkových fenolických látek v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 5 Vypočítané hodnoty celkových fenolických látek v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

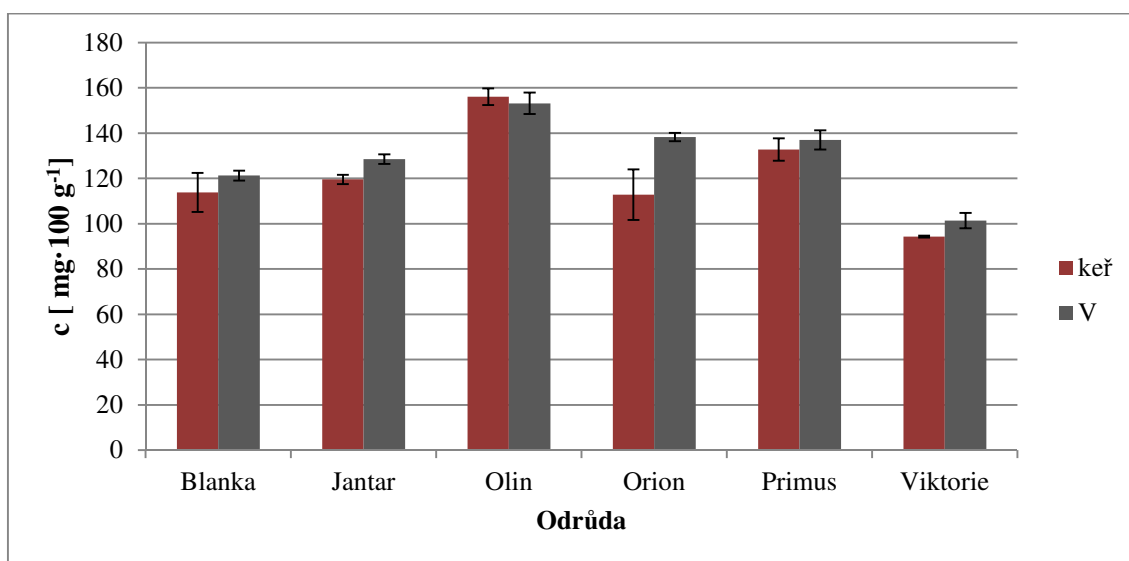
Odrůda	Typ	Průměrná absorbance	Průměrná koncentrace celkových fenolických látek [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
Blanka	KEŘ	0,420	113,8±8,6
	V	0,447	121,2±2,3
Jantar	KEŘ	0,440	119,6±2,0
	V	0,477	128,5±2,1
Olin	KEŘ	0,575	156,0±3,6
	V	0,568	153,2±4,7
Orion	KEŘ	0,417	112,8±11,1
	V	0,512	138,3±1,8
Primus	KEŘ	0,491	132,7±5,0
	V	0,510	137,0±4,2
Viktorie	KEŘ	0,350	94,3±0,4
	V	0,373	101,3±3,4

Zjištěné koncentrace celkových fenolických látek obsažených v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovala v rozmezí 94,3 – 156,0 mg·100 g<sup>-1</sup> vzorku. Nejnížší hodnoty byly naměřeny u odrůdy Viktorie 94,3 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůdy Olin 156,0 mg·100 g<sup>-1</sup>. Obsah celkových fenolických látek je v porovnání s literaturou ve všech případech, kromě odrůdy Viktorie, dvakrát vyšší. U odrůdy Olin v obou tvarových modifikacích je obsah celkových fenolických látek dokonce třikrát vyšší než udává literatura. Testováním pomocí

Studentova testu bylo zjištěno, že výsledky jsou shodné u tvarových modifikací KEŘ a V v případě odrůd Blanka, Olin a Primus. Z výše uvedených výsledků vyplývá, že nelze jednoznačně určit, zda tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah celkových fenolických látek.

Tabulka 6 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost modifikací KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Blanka	6,740	Výsledky jsou shodné
Jantar	24,622	Výsledky nejsou shodné
Olin	3,920	Výsledky jsou shodné
Orion	18,279	Výsledky nejsou shodné
Primus	5,296	Výsledky jsou shodné
Viktorie	16,653	Výsledky nejsou shodné



Graf 4 Porovnání hodnot celkových fenolických látek mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

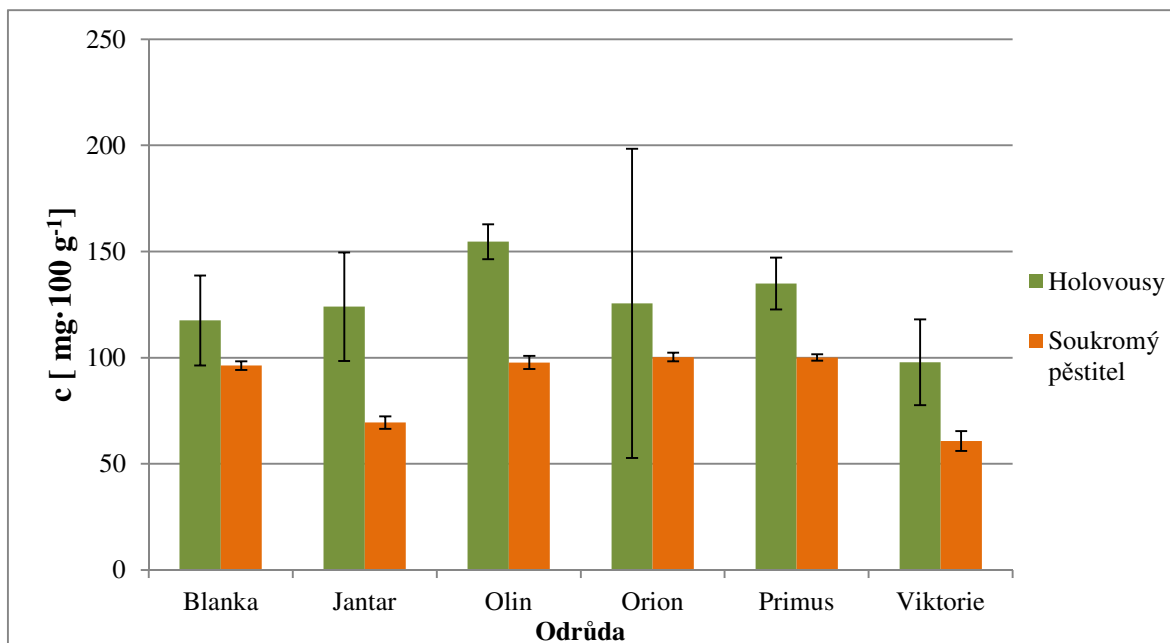


#### 4.1.2.2 Stanovení koncentrace celkových fenolických látek v odrůdách bílých rybízů od soukromého pěstitele

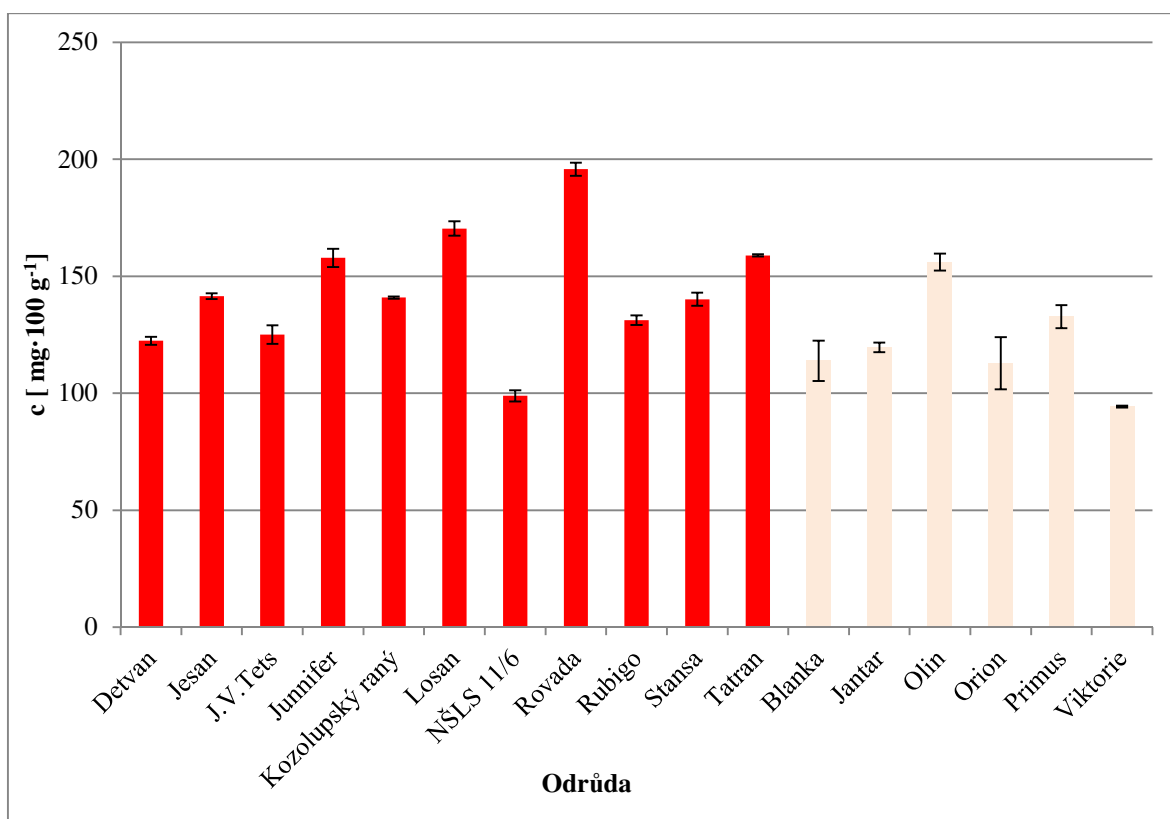
Tabulka 7 Vypočítané hodnoty celkových fenolických látek v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele.

Odrůda	Typ	Průměrná absorbance	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
Blanka	směs	0,356	96,3±2,0
Jantar	směs	0,257	69,4±3,0
Olin	směs	0,360	97,7±3,1
Orion	směs	0,370	100,3±2,0
Primus	směs	0,370	100,1±1,5
Viktorie	směs	0,225	60,7±4,7

Obsah celkových fenolických látek u odrůd bílých rybízu od soukromého pěstitele se pohyboval v rozmezí od 69,4 do 100,3 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u odrůdy Viktorie 69,4 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůd Orion 100,3 mg·100 g<sup>-1</sup> a Primus 100,1 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty u dvou odrůd Jantar a Viktorie se blížily hodnotám obsahu fenolických látek uvedených v literatuře, ostatní odrůdy měly obsah těchto látek vyšší. Analyzované odrůdy bílého rybízu od soukromého pěstitele měli nižší obsah celkových fenolických látek než odrůdy dodané z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 5). Obsah celkových fenolických sloučenin je v odrůdách bílého rybízu menší než v odrůdách rybízu červeného (graf 6).



Graf 5 Porovnání hodnot celkových fenolických látek u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele.



Graf 6 Porovnání obsahu celkových fenolických látek u odrůd červeného a bílého rybízu tvarové modifikace KER z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

## **4.2 Stanovení celkových antokyanů**

Celkové antokyanany byly stanovovány spektrofotometricky pH diferenciální metodou viz kapitola 3.2. Koncentrace celkových antokyanů byly vypočteny podle výše uvedených vzorců a výsledky byly uvedeny v tabulkách v miligramech na 100 gramů vzorku.

### **4.2.1 Stanovení celkových antokyanů v odrůdách červeného rybízu**

Pro stanovení obsahu celkových antokyanů bylo analyzováno celkem 11 odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., všechny odrůdy ve dvou tvarových modifikacích KEŘ a V. Od soukromého pěstitele bylo analyzováno 10 odrůd červeného rybízu (stejně jako z prvního stanoviště kromě odrůdy Detvan). Odrůdy byly dodány jako směs obou tvarových modifikací. V závěru byly porovnány hodnoty celkových antokyanů mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V, dále odrůdy z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. s odrůdami od soukromého pěstitele a v závěru také obsah celkových antokyanů mezi bílými a červenými odrůdami rybízu. Naměřené výsledky byly porovnány s hodnotami uvedenými v literatuře, které byly od 20 do 60 mg·100 g<sup>-1</sup> [33].

**4.2.1.1 Stanovení koncentrace celkových antokyanů v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.**

Tabulka 8 Naměřené a vypočítané hodnoty u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Typ	Průměrná absorbance				Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
		pH 1		pH 4,5		
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
Detvan	KEŘ	0,256	0,007	0,045	0,006	18,6±5,8
	V	0,237	0,006	0,043	0,006	17,2±0,8
Jesan	KEŘ	0,283	0,008	0,045	0,009	21,0±7,6
	V	0,226	0,010	0,041	0,010	16,4±2,5
J.V. Tets	KEŘ	0,270	0,005	0,038	0,005	20,5±2,1
	V	0,268	0,009	0,047	0,010	19,6±5,8
Junnifer	KEŘ	0,355	0,008	0,059	0,008	26,1±3,3
	V	0,365	0,005	0,051	0,005	27,6±2,7
Kozolupský raný	KEŘ	0,325	0,011	0,055	0,011	23,8±4,6
	V	0,0282	0,017	0,057	0,015	19,8±5,6
Losan	KEŘ	0,323	0,007	0,046	0,006	24,4±2,7
	V	0,300	0,004	0,040	0,005	23,1±7,4
NŠLS 11/6	KEŘ	0,116	0,008	0,027	0,007	8,0±2,5
	V	0,121	0,005	0,026	0,005	8,5±1,3
Rovada	KEŘ	0,152	0,003	0,023	0,003	11,5±2,6
	V	0,168	0,008	0,034	0,009	11,9±2,6
Rubigo	KEŘ	0,273	0,002	0,034	0,003	21,2±4,4
	V	0,293	0,013	0,052	0,009	21,0±3,2
Stansa	KEŘ	0,369	0,013	0,064	0,013	27,0±3,3
	V	0,401	0,007	0,058	0,008	30,6±3,0
Tatran	KEŘ	0,222	0,011	0,044	0,010	15,6±1,2
	V	0,162	0,007	0,034	0,008	11,4±4,2

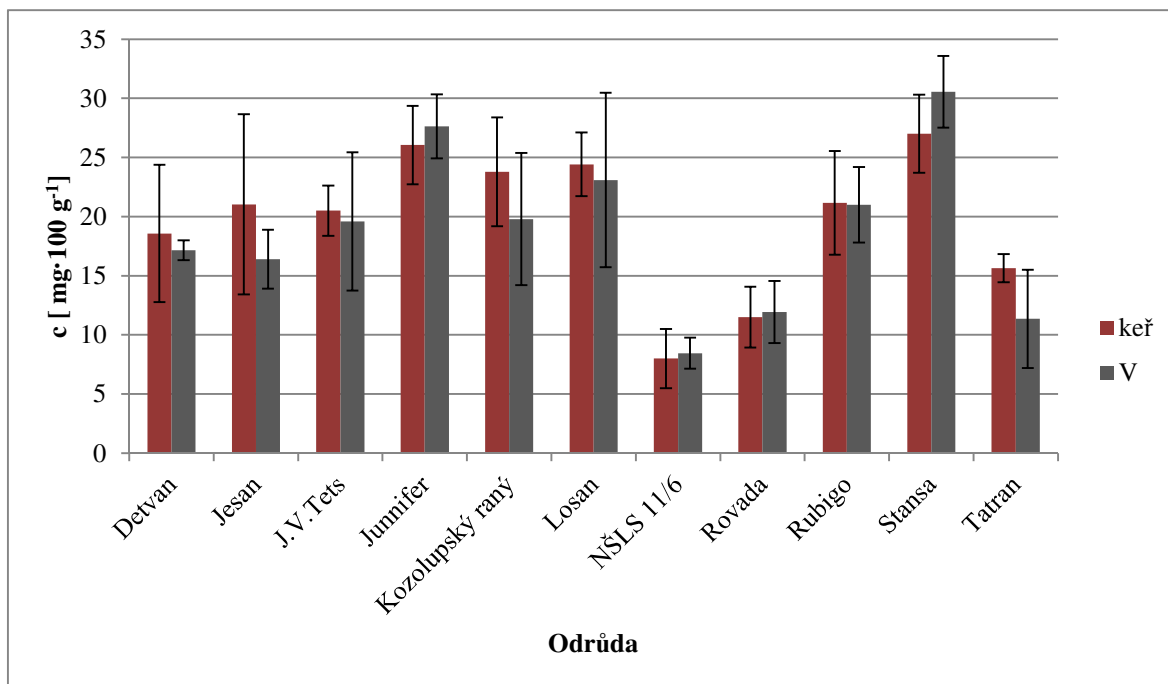
Koncentrace antokyanů obsažených v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovala v rozmezí 8 až 30,6 mg·100 g<sup>-1</sup> vzorku. Nejnižší koncentrace byla naměřena u odrůdy NŠLS 11/6 KEŘ 8,0 mg·100 g<sup>-1</sup>, nejvyšší pak u odrůdy Stansa V 30,6 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty

byly v porovnání s literaturou nižší v obou tvarových modifikacích u odrůd Detvan, NŠLS 6/11, Rovada, Tatran a u tvarové modifikace V u odrůdy Jesan. Ostatní odrůdy měli rozmezí obsahu antokyanů shodné, jako udává literatura.

Byl proveden Studentův test shodnosti obsahu celkových antokyanů u typu KEŘ a V (tabulka 9, graf 5) na hladině statistické významnosti  $\alpha=0,01$  (99 %), kritická hodnota Studentova testu pro daný počet měření a vzorků je  $t_{krit}=9,925$ . Množství antokyanů bylo shodné u obou typů rybízu a lze tedy konstatovat, že tvar rostliny neměl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech červených rybízů.

Tabulka 9 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost modifikací KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Detvan	1,9463	Výsledky jsou shodné
Jesan	4,6969	Výsledky jsou shodné
J.V.Tets	1,1926	Výsledky jsou shodné
Junnifer	2,9905	Výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	4,4671	Výsledky jsou shodné
Losan	1,3708	Výsledky jsou shodné
NŠLS 11/6	1,2754	Výsledky jsou shodné
Rovada	0,9544	Výsledky jsou shodné
Rubigo	0,2433	Výsledky jsou shodné
Stansa	6,3963	Výsledky jsou shodné
Tatran	8,0316	Výsledky jsou shodné



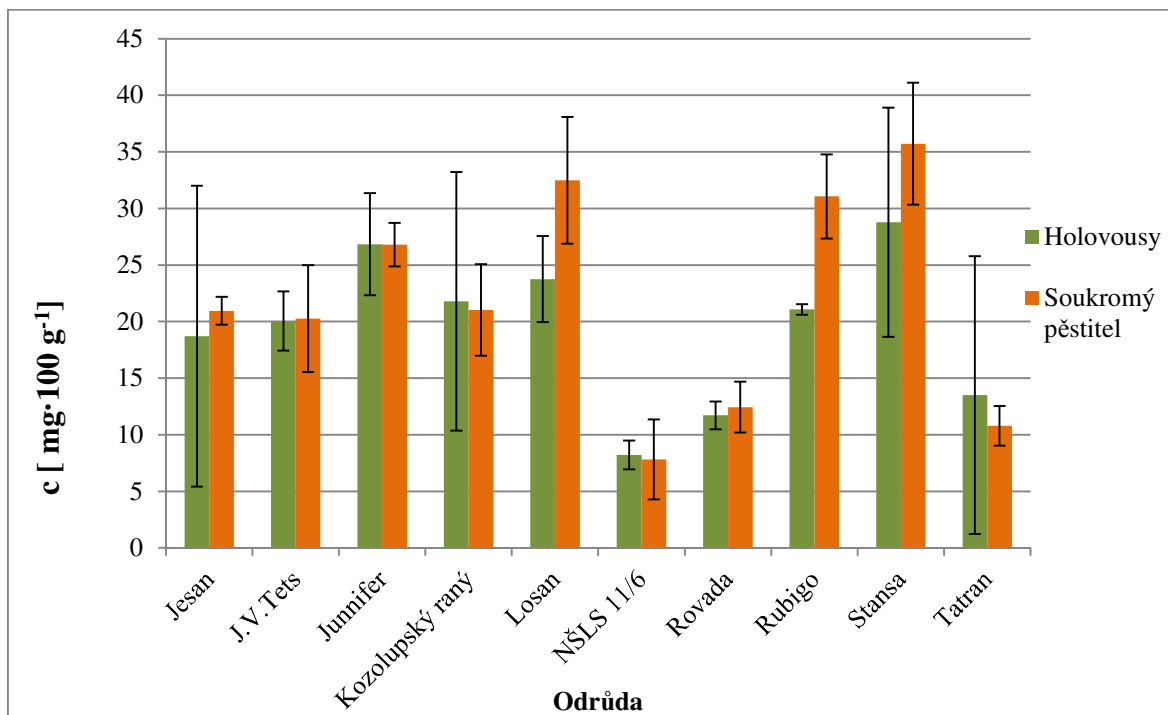
Graf 7 Porovnání hodnot celkových antokyanů mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

#### 4.2.1.2 Stanovení koncentrace antokyanů v odrůdách červených rybízů od soukromého pěstitele

Tabulka 10 Naměřené a vypočítané hodnoty u odrůd červeného rybízu od soukromého pěstitele

Odrůda	Typ	Průměrná absorbance				Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
		pH 1		pH 4,5		
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
<b>Jesan</b>	směs	0,311	0,036	0,048	0,010	21,0±4,7
<b>J.V. Tets</b>	směs	0,278	0,011	0,051	0,012	20,3±1,2
<b>Junnifer</b>	směs	0,361	0,008	0,056	0,009	26,8±1,9
<b>Kozolupský raný</b>	směs	0,301	0,015	0,061	0,016	21,0±4,0
<b>Losan</b>	směs	0,423	0,006	0,058	0,008	32,5±5,6
<b>NŠLS 11/6</b>	směs	0,111	0,005	0,023	0,006	7,8±3,5
<b>Rovada</b>	směs	0,183	0,013	0,043	0,014	12,4±2,2
<b>Rubigo</b>	směs	0,411	0,007	0,060	0,007	31,1±3,7
<b>Stansa</b>	směs	0,479	0,010	0,074	0,010	35,7±5,4
<b>Tatran</b>	směs	0,151	0,009	0,029	0,008	10,8±1,7

Zjištěné hodnoty antokyanů v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele se pohybovaly v rozmezí od 7,82 do 35,7 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší koncentrace byla naměřena u odrůdy NŠLS 11/6 7,8 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůdy Stansa 35,7 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty antokyanů byly shodné s literaturou kromě odrůd NŠLS 11/6, Rovada a Tatran, které byly nižší.



Graf 8 Porovnání hodnot celkových antokyanů mezi odrůdami červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele.

Obsah celkových antokyanů byl vyšší u odrůd Jesan, Losan, Rovada, Rubigo a Stansa od soukromého pěstitele, naopak u odrůd Junnifer, Kozolupský raný, NŠLS 11/6 a Tatran byly vyšší hodnoty ze vzorků z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., odrůda J.V.Tets měla obsah shodný z obou stanovišť.

#### 4.2.2 Stanovení celkových antokyanů v odrůdách bílého rybízu

Bylo analyzováno celkem 6 odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., které byly dodány ve dvou tvarových modifikacích KEŘ a V a 6 odrůd a od soukromého pěstitele, které byly dodány jako směsi obou tvarových modifikací. Zjištěné hodnoty celkových antokyanů byly v závěru porovnány mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V, mezi odrůdami z Výzkumného a šlechtitelského ústavu

ovocnářského Holovously s.r.o. a od soukromého pěstitele a nakonec i mezi bílými a červenými odrůdami. Podle literatury by měly odrůdy bílého rybízu obsahovat asi  $1,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  celkových antokyanů [33].

#### 4.2.2.1 Stanovení koncentrace antokyanů v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovously s.r.o.

Tabulka 11 Naměřené a vypočítané hodnoty u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovously s.r.o.

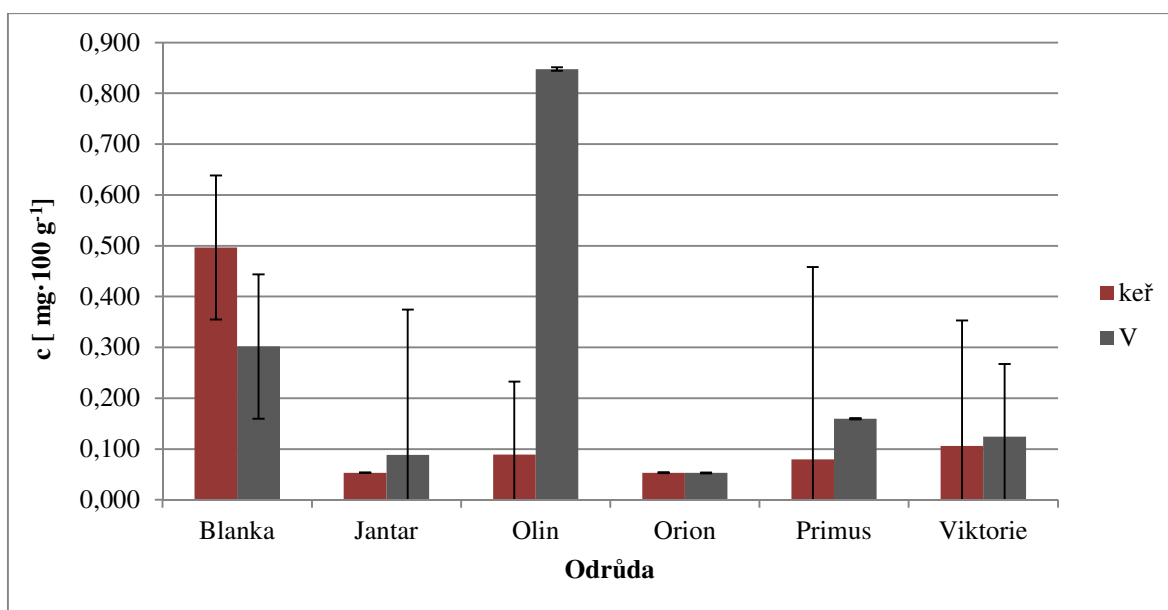
Odrůda	Typ	Průměrná absorbance				Průměrná koncentrace antokyanů [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ]
		pH 1		pH 4,5		
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
Blanka	KEŘ	0,020	0,009	0,019	0,018	$0,5 \pm 0,1$
	V	0,035	0,015	0,033	0,018	$0,3 \pm 0,1$
Jantar	KEŘ	0,026	0,011	0,025	0,012	$0,1 \pm 0,0$
	V	0,023	0,010	0,023	0,012	$0,1 \pm 0,0$
Olin	KEŘ	0,030	0,014	0,028	0,014	$0,1 \pm 0,1$
	V	0,028	0,011	0,019	0,018	$0,1 \pm 0,0$
Orion	KEŘ	0,012	0,004	0,014	0,007	$0,1 \pm 0,0$
	V	0,011	0,006	0,015	0,010	$0,1 \pm 0,1$
Primus	KEŘ	0,018	0,008	0,016	0,009	$0,1 \pm 0,0$
	V	0,030	0,014	0,028	0,015	$0,2 \pm 0,0$
Viktorie	KEŘ	0,012	0,006	0,011	0,007	$0,1 \pm 0,1$
	V	0,012	0,003	0,015	0,008	$0,1 \pm 0,1$

Zjištěné hodnoty antokyanů v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovously s.r.o. se pohybovali v rozmezí od 0,1 do  $0,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Nejnižší koncentrace celkových antokyanů byly naměřena u odrůd Jantar, Olin, Orion a Viktorie u obou tvarových modifikací a u odrůdy Primus KEŘ shodně  $0,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , nejvyšší pak u odrůdy Blanka KEŘ  $0,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Hodnoty byly nižší než obsah antokyanů uvedený v literatuře. Byl proveden Studentův test shodnosti obsahu celkových antokyanů u typu KEŘ a V (tabulka 12, graf 6) na hladině statistické významnosti  $\alpha=0,01$ ,  $t_{\text{krit}}=9,925$ . Množství celkových antokyanů bylo shodné u obou tvarových modifikací u všech odrůd kromě odrůdy Jantar. Lze tedy konstatovat, že tvar rostliny neměl zásadní vliv na obsah antokyanů ve zkoumaných plodech.



Tabulka 12 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost modifikací KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Blanka	3,862	Výsledky jsou shodné
Jantar	10,692	Výsledky nejsou shodné
Olin	1,080	Výsledky jsou shodné
Orion	1,698	Výsledky jsou shodné
Primus	5,514	Výsledky jsou shodné
Viktorie	4,009	Výsledky jsou shodné



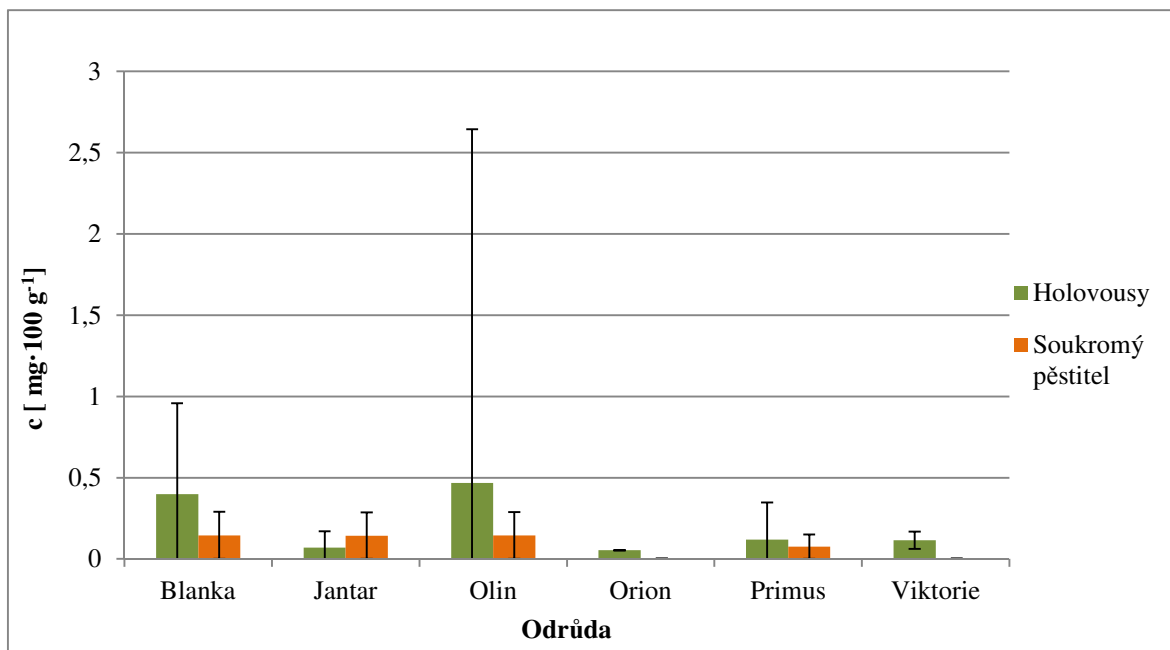
Graf 9 Porovnání hodnot celkových antokyanů mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

#### 4.2.2.2 Stanovení koncentrace celkových antokyanů v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele

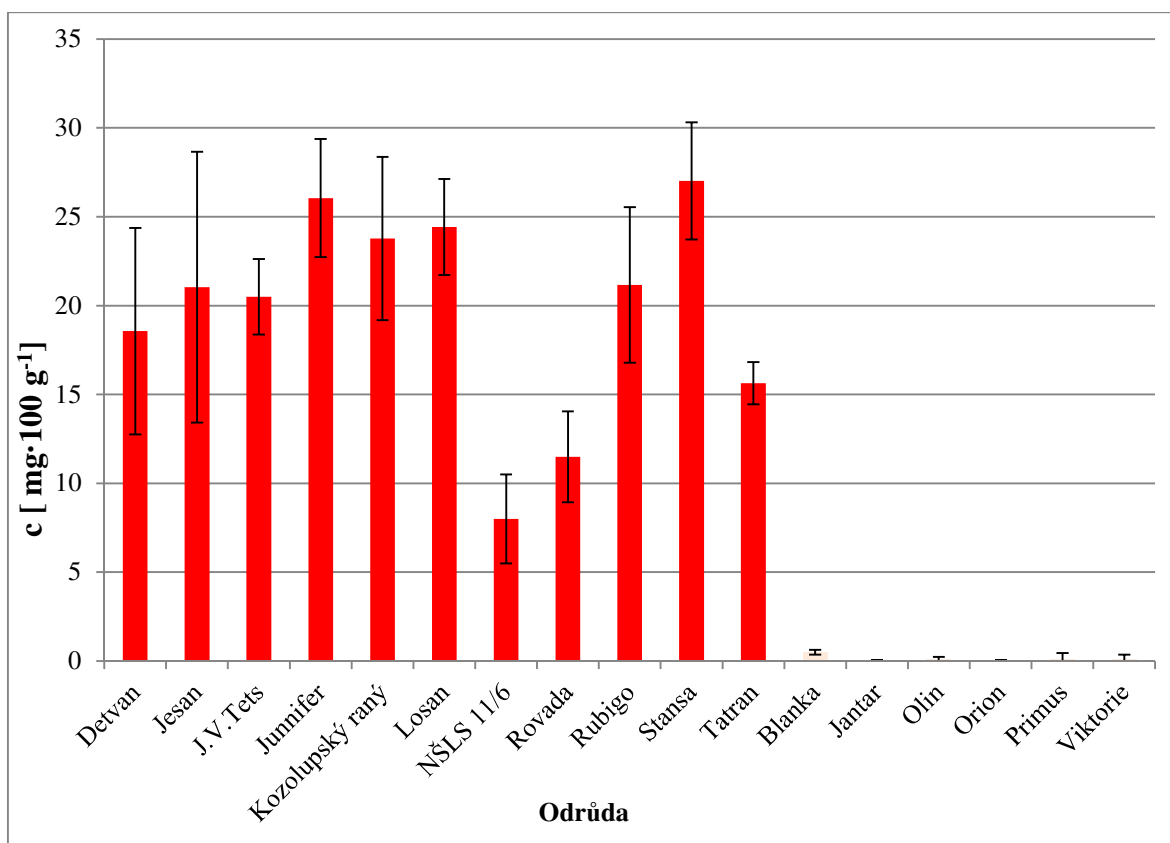
Tabulka 13 Naměřené a vypočítané hodnoty u odrůd bílého rybízu od soukromého pěstitele

Odrůda	Typ	Průměrná absorbance				Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
		pH 1		pH 4,5		
		510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	
<b>Blanka</b>	směs	0,015	0,006	0,013	0,006	0,1±0,1
<b>Jantar</b>	směs	0,017	0,006	0,011	0,006	0,3±0,1
<b>Olin</b>	směs	0,018	0,007	0,015	0,007	0,2±0,1
<b>Orion</b>	směs	0,017	0,008	0,015	0,009	0,2±0,1
<b>Primus</b>	směs	0,024	0,009	0,020	0,010	0,3±0,1
<b>Viktorie</b>	směs	0,016	0,008	0,015	0,008	0,1±0,1

Zjištěné hodnoty celkových antokyanů v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele se pohybovaly v rozmezí od 0,1 do 0,3 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší koncentrace byly naměřeny u odrůd Blanka a Viktorie shodně 0,1 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůd Jantar a Primus 0,3 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty byly nižší než obsah antokyanů uvedených v literatuře. Obsah celkových antokyanů u analyzovaných odrůd bílého rybízu od soukromého pěstitele byl vyšší pouze v případě odrůdy Jantar, u ostatních byl nižší než u odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 10). Z grafu 11 je patrný velký rozdíl v obsahu celkových antokyanů u červených a bílých rybízů, odrůdy bílého rybízu obsahují minimální množství těchto látek.



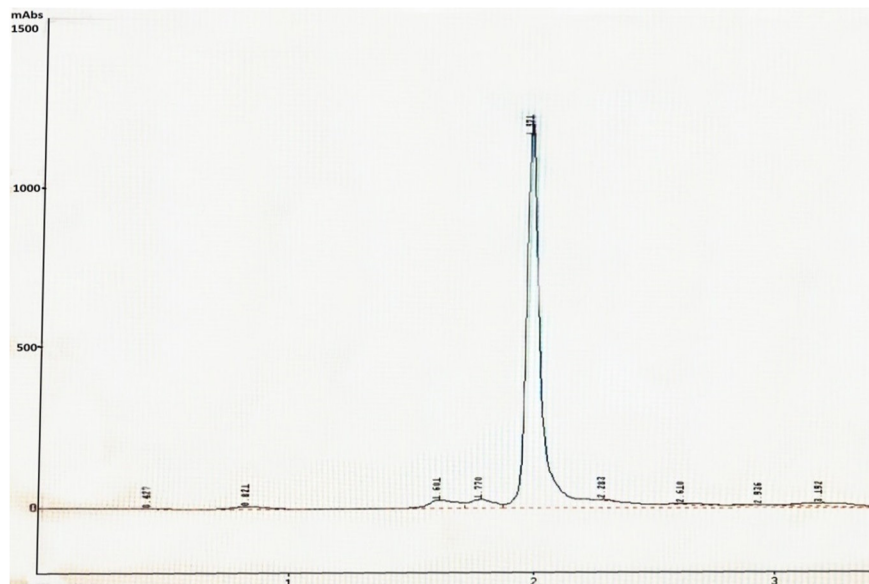
Graf 10 Porovnání hodnot celkových antokyanů mezi odrůdami bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele.



Graf 11 Porovnání obsahu celkových antokyanů u odrůd červeného a bílého rybízu tvarové modifikace KER z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

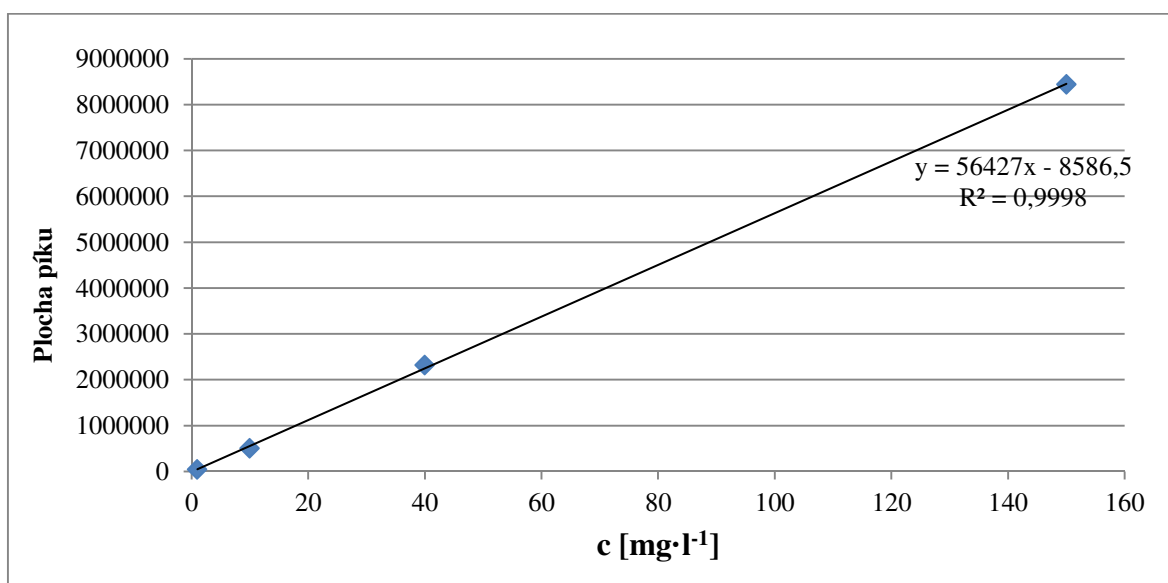
### 4.3 Stanovení vitamínu C

Vitamin C byl ve vzorcích rybízu stanovován HPLC. Retenční čas vitamínu C se pohyboval okolo 2 minut, docházelo k mírnému kolísání v závislosti na tlaku. Na obrázku 13 je zobrazen pík vitamínu C při stanovení odrůdy červeného rybízu Junnifer V.



Obrázek 13 Pík vitamínu C u odrůdy Junnifer V.

Z naměřených ploch píků byla pomocí rovnice regrese kalibrační křivky vypočítán obsah kyseliny askorbové, který byl dále přepočítán na množství kyseliny askorbové na 100 g vzorku.



Graf 12 Kalibrační křivka kyseliny L-askorbové obrátit

#### **4.3.1 Stanovení obsahu vitamínu C v odrůdách červeného rybízu**

Pro stanovení obsahu vitamínu C bylo analyzováno 11 odrůd červených rybízů každá ve tvarové modifikaci KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a 10 odrůd červeného rybízu od soukromého pěstitele jako směs tvarových modifikací KEŘ a V. Byly porovnány zjištěné hodnoty obsaženého vitamínu C mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., dále byly porovnány zjištěné výsledky mezi oběma stanovišti, pro tento účel orientačního porovnání byly hodnoty vitamínu C v obou tvarových modifikacích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. zprůměrovány. Nakonec byl srovnán obsah vitamínu C i mezi červenými a bílými rybízy. Výsledné hodnoty koncentrace vitamínu C by se podle tabulky 1 měly pohybovat okolo hodnoty  $34,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , některé zdroje však uvádí rozpětí od 16 do  $60 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

**4.3.1.1 Stanovení koncentrace vitamínu C v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.**

Tabulka 14 Naměřené a vypočítané hodnoty vitamínu C u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

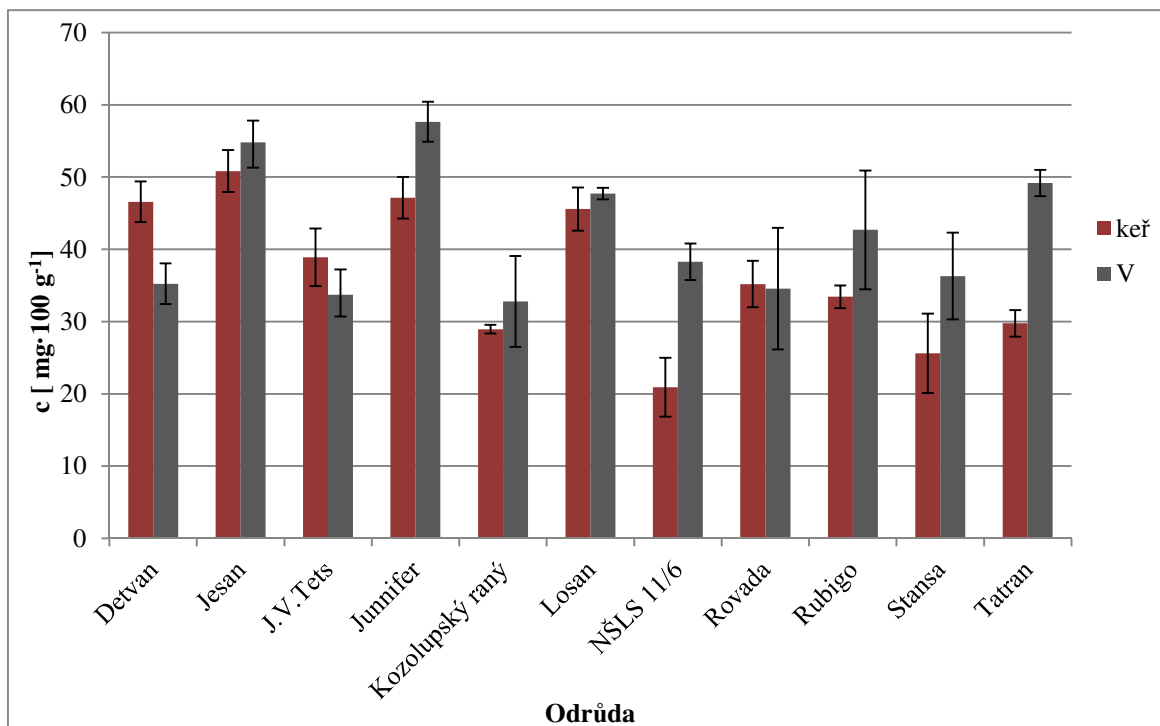
Odrůda	Typ	Průměrná koncentrace vitamínu C [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
Detvan	KEŘ	35,2±2,8
	V	46,6±2,8
Jesan	KEŘ	50,8±2,9
	V	54,8±3,0
J.V. Tets	KEŘ	38,9±4,0
	V	33,7±3,5
Junnifer	KEŘ	47,1±2,9
	V	57,7±2,8
Kozolupský raný	KEŘ	29,0±0,6
	V	32,8±6,3
Losan	KEŘ	45,6±3,0
	V	47,7±0,8
NŠLS 11/6	KEŘ	20,9±4,1
	V	38,3±2,5
Rovada	KEŘ	35,2±3,2
	V	34,6±8,4
Rubigo	KEŘ	33,4±1,6
	V	42,7±8,2
Stansa	KEŘ	25,6±5,5
	V	36,3±6,0
Tatran	KEŘ	29,8±1,8
	V	49,2±1,8

Průměrné koncentrace vitamínu C v odrůdách červeného rybízu se pohybovaly v rozmezí od 20,9 do 57,7 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnota byla naměřena u odrůdy NŠLS 6/11 KEŘ 20,9 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší hodnota u odrůdy Junnifer V 57,7 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty vitamínu C byly u všech odrůd v rozmezí udávané v literatuře 16 až 60 mg·100 g<sup>-1</sup>. V porovnání s hodnotou v tabulce 1 se odchýlily pouze odrůdy Jesan, Junnifer, Losan a Tatran v obou tvarových modifikacích, odrůdy Detvan, NŠLS 11/6, Stansa tvarové modifikace KEŘ a Rubigo V.

Naměřené hodnoty u jednotlivých odrůd tvarové modifikace KEŘ byly porovnány s tvarovou modifikací V pomocí statistického Studentova testu t pro shodnost výsledků (tabulka 15, graf 7) na hladině statistické významnosti  $\alpha=0,01$  (99 %), kritická hodnota Studentova testu pro daný počet vzorků je 9,925. Bylo zjištěno, že shodné hodnoty obsahu vitamínu C byly u sedmi testovaných odrůd - J.V.Tets, Jesan, Kozlupský raný, Losan, Rovada, Rubigo a Stansa a nebyly shodné u 4 odrůd – Detvan, Junnifer, NŠLS 11/6 a Tatran. Z těchto výsledků nelze jednoznačně určit, zda měla tvarová modifikace keře rybízu vliv na obsah vitamínu C.

Tabulka 15 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost obsahu vitamínu C u modifikací KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Detvan	10,812	Výsledky nejsou shodné
Jesan	5,155	Výsledky jsou shodné
J.V. Tets	3,767	Výsledky jsou shodné
Junnifer	15,246	Výsledky nejsou shodné
Kozolupský raný	1,624	Výsledky jsou shodné
Losan	5,087	Výsledky jsou shodné
NŠLS 11/6	18,114	Výsledky nejsou shodné
Rovada	0,209	Výsledky jsou shodné
Rubigo	3,892	Výsledky jsou shodné
Stansa	4,961	Výsledky jsou shodné
Tatran	38,164	Výsledky nejsou shodné



Graf 13 Porovnání hodnot vitamínu C mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

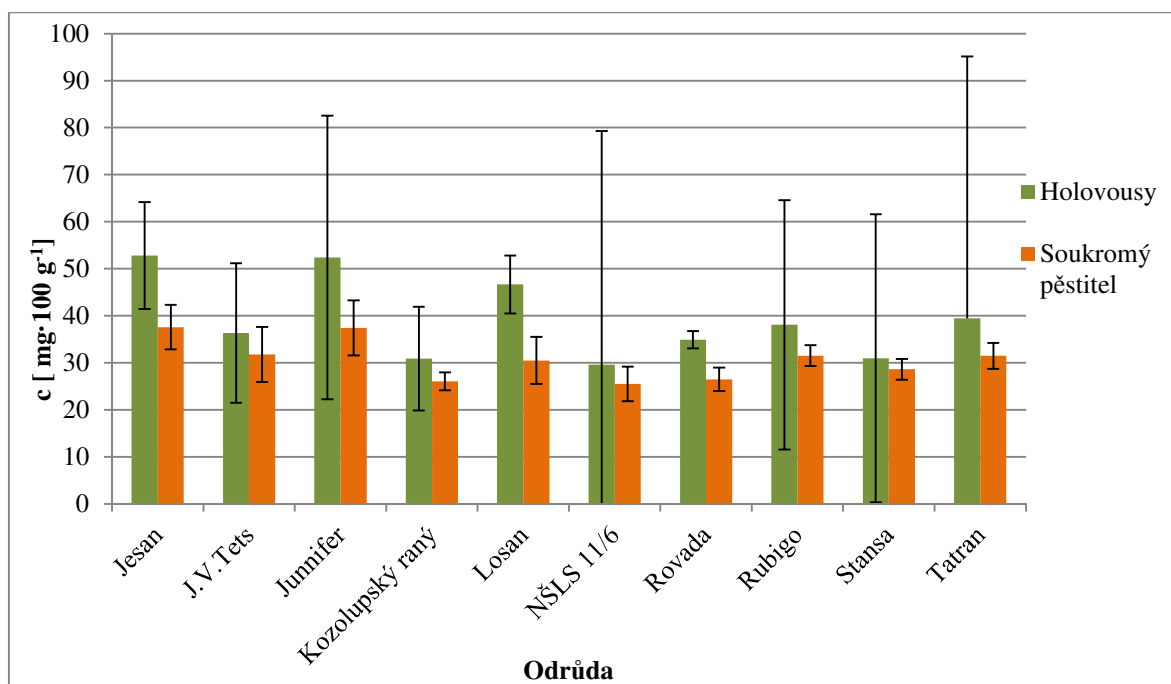
#### 4.3.1.2 Stanovení koncentrace vitamínu C v odrůdách červených rybízů od soukromého pěstitele

Tabulka 16 Naměřené a vypočítané hodnoty vitamínu C u odrůd červeného rybízu od soukromého pěstitele

Odrůda	Typ	Průměrná koncentrace vitamínu C [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
<b>Jesan</b>	směs	37,6±4,7
<b>J.V. Tets</b>	směs	31,8±5,9
<b>Junnifer</b>	směs	37,4±5,9
<b>Kozolupský raný</b>	směs	26,0±1,9
<b>Losan</b>	směs	30,5±5,0
<b>NŠLS 11/6</b>	směs	25,5±3,7
<b>Rovada</b>	směs	26,5±2,5
<b>Rubigo</b>	směs	31,5±2,2
<b>Stansa</b>	směs	28,6±2,2
<b>Tatran</b>	směs	31,5±2,8



Naměřené a vypočítané hodnoty vitamínu C v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele byly v rozmezí od 25,5 do 37,6 mg·100 g<sup>-1</sup>. Nejnižší koncentrace byla naměřena u odrůdy NŠLS 11/6 25,5 mg·100 g<sup>-1</sup> a nejvyšší u odrůd Jesan a Junnifer 37,6 a 37,4 mg·100 g<sup>-1</sup>. Zjištěné hodnoty se pohybovaly v rozmezí udávaném literaturou. Obsah vitamínu C v odrůdách červeného rybízu byl vyšší u všech odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 14).



Graf 14 Porovnání zjištěných hodnot vitamínu C mezi odrůdami červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele

#### 4.3.2 Stanovení obsahu vitamínu C v odrůdách bílého rybízu

Pro stanovení obsahu vitamínu C bylo analyzováno 6 odrůd bílého rybízu každá ve tvarové modifikaci KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele jako směs tvarových modifikací KEŘ a V. Byly porovnány zjištěné hodnoty obsaženého vitamínu C mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., dále byly porovnány zjištěné výsledky mezi oběma stanovišti. Pro toto orientační porovnání byly hodnoty vitamínu C v obou tvarových modifikacích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. zprůměrovány. Nakonec byl srovnán obsah vitamínu C i mezi červenými a bílými rybíz. Výsledné hodnoty koncentrace vitamínu C by se podle tabulky 1 měly pohybovat okolo hodnoty 44,1 mg·100 g<sup>-1</sup>, avšak v literatuře je také uvedeno rozpětí od 15 do 60 mg·100 g<sup>-1</sup>.

#### 4.3.2.1 Stanovení koncentrace vitamínu C v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 17 Naměřené a vypočítané hodnoty vitamínu C u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

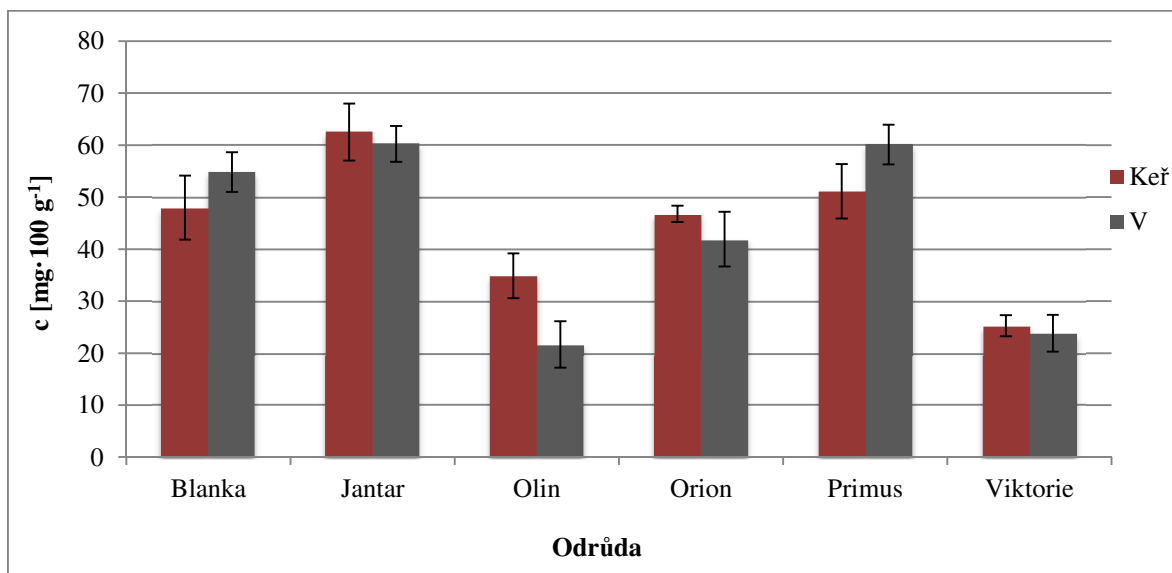
Odrůda	Typ	Průměrná koncentrace vitamínu C [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
Blanka	KEŘ	48,0±6,1
	V	54,8±3,8
Jantar	KEŘ	62,5±5,5
	V	60,2±3,4
Olin	KEŘ	34,9±4,3
	V	21,7±4,5
Orion	KEŘ	46,8±1,6
	V	41,9±5,3
Primus	KEŘ	51,1±5,2
	V	60,1±3,8
Viktorie	KEŘ	25,3±2,0
	V	23,8±3,6

Zjištěné hodnoty vitamínu C v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovali v rozmezí od 21,7 do 62,5 mg·100g<sup>-1</sup>. Nejnižší koncentrace vitamínu C byla naměřena u odrůdy Olin V 21,7 mg·100 g<sup>-1</sup>. nejvyšší pak u odrůdy Jantar KEŘ 62,5 mg·100 g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty vitamínu C byly u všech odrůd kromě odrůdy Jantar tvarové modifikace KEŘ v rozmezí 15 až 60 mg·100 g<sup>-1</sup>. V porovnání s hodnotou v tabulce 1 se odchýlily u všech odrůd kromě odrůdy Orion a Blanka KEŘ.

Shodnost obsahu vitamínu C u tvarových modifikací KEŘ a V byla zjišťována Studentovým testem t (tabulka 18, graf 9) na hladině statistické významnosti  $\alpha=0,01$ . Množství vitamínu C bylo shodné u všech odrůd kromě odrůdy Olin a Primus. Nelze jednoznačně určit, zda měl tvar keře rybízu vliv na obsah vitamínu C.

Tabulka 18 Vypočítané hodnoty Studentova testu t pro shodnost obsahu vitamínu C u modifikací KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	t	Hypotéza
Blanka	7,651	Výsledky jsou shodné
Jantar	2,860	Výsledky jsou shodné
Olin	17,262	Výsledky nejsou shodné
Orion	7,158	Výsledky jsou shodné
Primus	11,281	Výsledky nejsou shodné
Viktorie	2,880	Výsledky jsou shodné



Graf 15 Porovnání hodnot vitamínu C mezi tvarovými modifikacemi KEŘ a V u odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

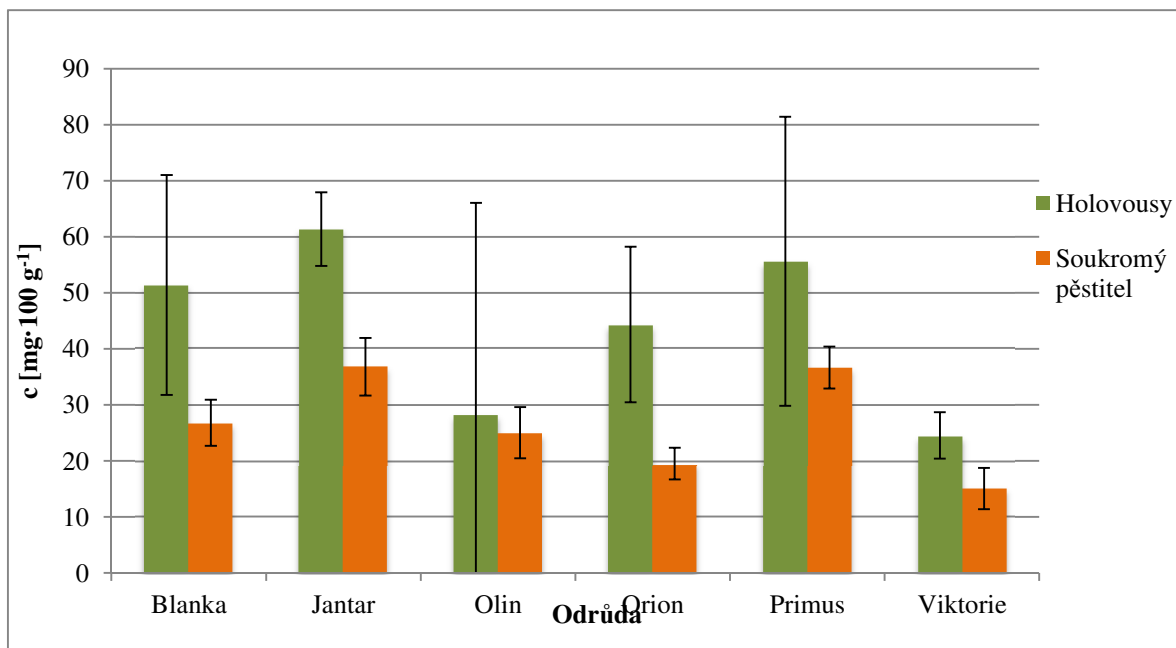
#### 4.3.2.2 Stanovení koncentrace vitamínu C v odrůdách bílých rybízů od soukromého pěstitele

Tabulka 19 Naměřené a vypočítané hodnoty vitamínu C u odrůd bílého rybízu od soukromého pěstitele

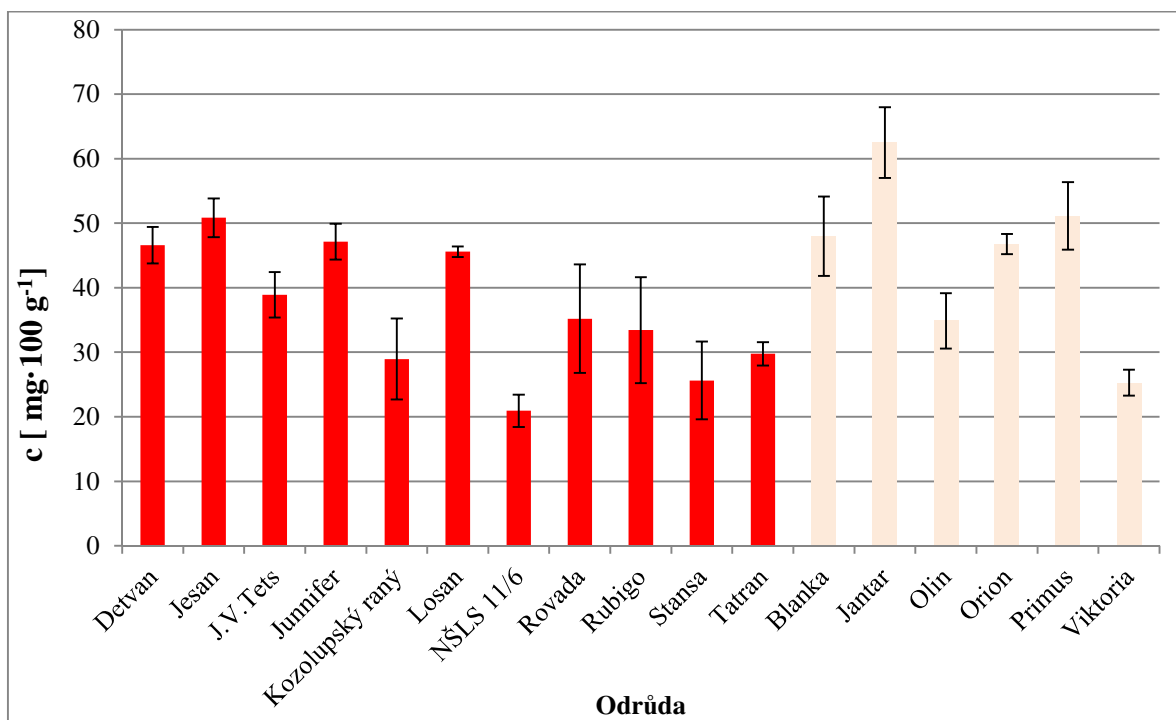
Odrůda	Typ	Průměrná koncentrace vitamínu C [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ]
<b>Blanka</b>	směs	26,8±4,1
<b>Jantar</b>	směs	36,8±5,2
<b>Olin</b>	směs	25,1±4,6
<b>Orion</b>	směs	19,5±2,8
<b>Primus</b>	směs	36,7±3,7
<b>Viktorie</b>	směs	15,1±3,7

Naměřené hodnoty vitamínu C v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele se pohybovali v rozmezí od 15,1 do 36,8  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Nejnižší koncentrace vitamínu C byla naměřena u odrůdy Viktorie 15,1  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , nejvyšší pak téměř shodně u odrůdy Jantar 36,8  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a Primus 36,7  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Koncentrace vitamínu C byly u všech odrůd v rozmezí udávané v literatuře 15 až 60  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . V porovnání s hodnotou v tabulce 1, všechny odrůdy měly nižší obsah vitamínu. Obsah vitamínu C byl porovnán mezi odrůdami bílého rybízu z obou stanovišť a byl vyšší u všech odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 16). Obsah vitamínu C v odrůdách bílého rybízu je mírně vyšší, než v odrůdách červeného rybízu (graf 17).



Graf 16 Porovnání zjištěných hodnot vitamínu C mezi odrůdami bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele



Graf 17 Porovnání obsahu vitamínu C u odrůd červeného a bílého rybízu tvarové modifikace KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

## 5 ZÁVĚR

Tématem této diplomové práce byla analýza šťáv vybraných odrůd červeného a bílého rybízu. V teoretické části práce byl z botanického hlediska krátce charakterizován druh *Ribes rubrum*, jeho pěstování, škůdci a choroby, které ho mohou napadnout. Dále byly v této kapitole popsány biologicky aktivní látky v něm obsažené a využití rybízových plodů v potravinářství.

V experimentální části bylo provedeno stanovení celkových fenolických látek ve šťávách vybraných odrůd rybízu reakcí vzorku s Folin – Ciocaltauovým činidlem za vzniku modrého zbarvení a následným změřením absorbance tohoto roztoku pomocí molekulové absorpční spektrofotometrie. Dále byl stanoven obsah celkových antokyanů pH diferenciální metodou za použití molekulové absorpční spektrofotometrie a obsah vitamínu C prostřednictvím HPLC.

Bylo analyzováno 11 odrůd červeného rybízu a 6 odrůd bílého rybízu pěstovaných ve tvarových modifikacích KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a 10 odrůd červeného rybízu a 6 odrůd bílého rybízu od soukromého pěstitele jako směs tvarových modifikací KEŘ a V. Zjištěné hodnoty vybraných parametrů byly pak statisticky vyhodnoceny a porovnány mezi tvarovými modifikacemi, aby se určilo, zda měl tvar keře vliv na obsah stanovovaných látek, mezi oběma stanovišti, odkud byly rybízy dodány a nakonec také porovnáním obsahu vybraných látek mezi odrůdami červeného a bílého rybízu.

Obsah fenolických látek odrůd červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byl nejvyšší u odrůdy Rovada V  $199,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy NŠLS 11/6 KEŘ  $98,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , u odrůd bílého rybízu pak byly nejvyšší hodnoty naměřeny u odrůdy Olin  $156,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy Viktorie  $94,3 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Ve vzorcích červených rybízů od soukromého pěstitele byla nejvyšší hodnota zjištěna u odrůdy Losan  $160,3 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy NŠLS 11/6  $101,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , u odrůd bílého rybízu byla nejvyšší u odrůdy Orion  $100,3 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy Viktorie  $69,4 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah celkových fenolických látek byl nižší u odrůd bílého rybízu. Při porovnání stanovišť byly odrůdy červeného i bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. bohatší na celkové fenolické látky.

Dále byl stanovován obsah celkových antokyanů. Koncentrace antokyanů obsažených v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla nejvyšší u odrůdy Stansa V  $30,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy NŠLS 11/6 KEŘ  $8,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Z odrůd bílého rybízu ze stejného stanoviště obsahovala nejvyšší koncentraci celkových antokyanů odrůda Blanka KEŘ  $0,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , nejnižší koncentraci obsahovaly shodně  $0,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  odrůdy Jantar, Olin, Orion a Viktorie u obou tvarových modifikací a Primus KEŘ. Nejvyšší množství celkových antokyanů u červených odrůd od soukromého pěstitele obsahovala odrůda Stansa  $35,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší pak odrůda NŠLS 11/6  $7,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Nejvyšší množství celkových antokyanů u bílých odrůd byly naměřeny u odrůd Jantar a Primus  $0,3 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  nejnižší pak u odrůd Blanka a Viktorie  $0,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah celkových antokyanů byl nižší u odrůd bílého rybízu.

Třetí analyzovanou látkou v rybízích byl vitamin C. Nejvyšší hodnota koncentrace vitamínu C v červených rybízích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla zjištěna u odrůdy Junnifer V  $57,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy NŠLS 6/11 KEŘ  $20,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . V bílých rybízích byl nejvyšší obsah stanoven u odrůdy Jantar KEŘ  $62,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy Olin V  $21,7 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Nejvyšší hodnoty koncentrace vitamínu C v červených rybízích od soukromého pěstitele byly zjištěny u odrůdy u odrůdy Jesan  $37,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy NŠLS 11/6  $25,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . V bílých rybízích byl nejvyšší obsah stanoven u odrůdy Jantar  $36,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a nejnižší u odrůdy Viktorie  $15,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Vyšší obsah vitamínu C byl zjištěn u odrůd bílých rybízů. Porovnáním stanovišť byly bohatší na obsah vitamínu C odrůdy červeného i bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Z naměřených koncentrací vybraných biologicky aktivních látek není možné s jistotou určit, zda mělo stanoviště pěstování nebo tvarová modifikace rostliny zásadní vliv na obsah těchto látek, jelikož se výsledky v některých případech shodovaly a v některých zase lišily. Vyšší hodnoty těchto látek byly naměřeny převážně u odrůd z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Odlišné hodnoty byly v některých případech také v porovnání s hodnotami, které udává literatura. Důvodem bylo pravděpodobně odlišné místo pěstování (mimo Českou republiku) a s ním související klimatické podmínky, typ půdy a odrůd charakteristických pro danou oblast případně tak rozdíl ve stupni zralosti rybízů.

Do budoucích let bych doporučovala věnovat pozornost důvodu rozdílů v obsahu analyzovaných látek v rybízích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského

Holovousy s.r.o. a od soukromého pěstitele, jelikož se jedná o rybízy z katastrálních území sousedících obcí, a tudíž by rozdíl v klimatických podmínkách, typech půdy a odrůd neměl být výrazný. Vhodné by také bylo v případě vzorků ze dvou stanovišť jejich dodání ve stejných tvarových modifikacích kvůli vzájemnému porovnání.



## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] LUŽA, J. et al. *Rybíz, angrešt, maliny, ostružiny a jahody*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1967, 384 s.
- [2] DUŠKOVÁ, L., KOPŘIVA, J. *Pěstujeme rybíz, angrešt a jostu*. 1. vyd. Praha: Grada, 2002, 112 s. ISBN 80-247-0223-1.
- [3] BLAŽEK, J. *Ovocnictví*. 1. vyd. Praha: Květ, 1998, 383 s. ISBN 80-853-6233-3.
- [4] DVOŘÁK A KOL. *Atlas odrůd ovoce*. 2. vyd. Praha: SZN, 1979, 399 s.
- [5] *Plants Database* [online]. Natural Resources Conservation Service, 2012 [cit. 2015-01-13]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=RIRU80>
- [6] NESRSTA, D., JAN T., HANČ, M. *Drobné ovoce a skořápkoviny: přes 140 barevných fotografií a popisů odrůd*. 1. vyd. Olomouc: Baštan, 2013, 213 s. ISBN 978-80-87091-40-1.
- [7] DJORDJEVIĆ, B., ŠAVIKIN, K., ZDUNIĆ, G., JANKOVIĆ, T., VULIĆ, T., OPARNICA, Č., RADIVOJEVIĆ, D. Biochemical Properties of Red Currant Varieties in Relation to Storage. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2010, vol. 65, s. 326-332. DOI: 10.1007/s11130-010-0195-z. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-010-0195-z>
- [8] *Online potravinová databáze* [online]. 2010 [cit. 2015-04-14]. Dostupné z: <http://www.pbd-online.sk>
- [9] LEBEDA, A., PETRŽELOVÁ, I., SEDLÁKOVÁ, B., SEDLÁŘOVÁ, M. *Choroby ovoce: Materiály k přednáškám Základy fytopatologie*. Olomouc, 2012.
- [10] JONES, A.T. GRATWICK, M. Black currant reversion disease — the probable causal agent, eriophyid mite vectors, epidemiology and prospects for control. *Virus Research*. 2000, vol. 71, 1-2, s. 354-359. DOI: 10.1007/978-94-011-1490-5\_71.
- [11] *Hnědé (americké) padlí angreštu: Podosphaera mors-uvae*. Praha: Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2006, 8 s.
- [12] BLATNÝ, C. et al. *Rybíz, angrešty, maliníky a ostružiny*. Praha: ČSAV, 1971, 78 s.

[13] HRIČOVSKÝ, I. *Rybíz, angrešt na zahrádce*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990, 52 s. ISBN 80-209-0097-7.

[14] MITIĆ, M., OBRADOVIĆ, M., KOSTIĆ, D., MICIĆ R., PAUNOVIĆ, D. Phenolic profile and antioxidant capacities of dried red currant from Serbia, extracted with different solvent. *Food Science and Biotechnology*. 2011, vol. 20, issue 6, s. 1625-1631. DOI: 10.1007/s10068-011-0224-1.

[15] ONDREJOVIČ, M., MALIAR, T., POLÍVKA, L., ILHÁR, S. POLYFENOLY JABLŮK. *Chemi. Listy*. 2009, č. 103, s. 394-400.

[16] RECHNER, A., KUHNLE, G., BREMNER, P., HUBBARD, G.P., MOORE, K.P., RICE-EVANS, C.A. The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002, vol. 33, issue 2, s. 220-235. DOI: 10.1016/s0891-5849(02)00877-8.

[17] BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*. 1998, vol. 56, issue 11, s. 317-333. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x.

[18] HEINRICH, J., VARCOVÁ I., VALENTOVÁ, K. Plody *Lonicera caerulea*: Perspektivní funkční potravina a zdroj biologicky aktivních látek. *Chemické Listy*. 2008, č. 102, 245–254.

[19] PLESSI, M., BERTELLI, D. a ALBASINI, A. Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry*. 2007, vol. 100, issue 1, s. 419-427. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.09.018.

[20] PETTI, S., SCULLY, C.. Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*. 2009, vol. 37, issue 6, s. 731-746. DOI: 10.1016/b978-0-12-398456-2.00057-8.

Dostupné

z:<http://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S03005712090004>

14

[21] WELCH, C., WU, G., SIMON, J., TAKAHASHI, M., UHLIG, S., MANSFIELD. E. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. *Current Analytical Chemistry*. 2008, vol. 4, issue 2, s. 167-178. DOI: 10.1016/b978-1-78242-228-0.00006-5.

[22] MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, J. Polyphenols: food sources and bioavailability. In: *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2004, s. 727-747 [cit. 2015-04-15]. 79. Dostupné z: <http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full#F1>

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

[24] STRATIL, P., KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*. 2007, vol. 71, issue 4, s. 1741-1751. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.08.012. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914006005741>

[25] LEE, G., ROSSI, M., COICHEV, N., MOYA, H. The reduction of Cu(II)/neocuproine complexes by some polyphenols: Total polyphenols determination in wine samples. *Food Chemistry*. 2011, vol. 126, issue 2, s. 679-686. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.020. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610014275>

[26] SINGLETON, V., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTÓS, R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: *Methods in enzymology*. vol.299, 1999, s. 152-178. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687999990171>

[27] COOKE, D., STEWARD, W., GESCHER, A., MARCZYLO, T., ARANJANI, J., PADMAVATHI, G., KUNNUMAKKARA, A., MATHEW, A. Anthocyanins from fruits and vegetables – Does bright colour signal cancer chemopreventive activity?. *European Journal of Cancer*. 2005, vol. 41, issue 13, s. 161-183. DOI: 10.1142/9789814508896\_0006. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0959804905005174>

74

[28] KONG, J., FRIEDMAN, M., LEVIN, C. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 2003, vol. 64, issue 5, s. 127-161. DOI: 10.1016/b978-0-12-374349-7.00006-4. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0031942203004382>

82

- [29] YUAN, B., MAI, M., KIKUCHI, H., FUKUSHIMA, S., HAZAMA, S., AKAIKE, T., YOSHINO, Y., OHYAMA, K., HU, X., PEI, X., TOYO, H. Cytocidal Effects of Polyphenolic Compounds, Alone or in Combination with, Anticancer Drugs Against Cancer Cells: Potential Future Application of the Combinatory Therapy. *Apoptosis and Medicine*. InTech, 2012-08-16, vol.33, č. 2. DOI: 10.5772/50218. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/apoptosis-and-medicine/cytocidal-effects-of-polyphenolic-compounds-alone-or-in-combination-with-anticancer-drugs-against-ca>
- [30] TIMBERLAKE, C., BRIDLE, P. Flavylum salts, anthocyanidins and anthocyanins II.—Reactions with sulphur dioxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1967, vol. 18, issue 10, s. 479-485. DOI: 10.1002/jsfa.2740181009. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.2740181009>
- [31] DAVÍDEK, J. *Sloučeniny ovlivňující barvu potravin* [online]. [cit. 2015-01-25]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~dolezala/CHPS/11%20Látky%20barevné.pdf>
- [32] CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNÁNDEZ, M., PÁEZ-HERNÁNDEZ, E., RODRÍGUEZ, J., GALÁN-VIDAL, C., BROUILLARD, R. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 2009, vol. 113, issue 4, s. 1-40. DOI: 10.1016/b978-0-12-472550-8.50005-6.
- [33] DELGADO-VARGAS, F., JIMÉNEZ, R., PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2000, vol. 40, issue 3, s. 173-289. DOI: 10.1080/10408690091189257.
- [34] GIUSTI, M., WROLSTAD, R. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2001. ISBN 0471142913.
- [35] VALLS, J., MILLÁN, S., MARTÍ, P., BORRÀS, E., AROLA, L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*. 2009, vol. 1216, issue 43, s. 7143-7172. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.07.030.
- [36] COSTA, C., HORTON, D., MARGOLIS, S. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography–mass spectrometry and capillary

electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 2000, vol. 881, 1-2, s. 403-410. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00328-9.

[37] *Sigma-Aldrich* [online]. 2015 [cit. 2015-04-01]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/a5960?lang=en&region=CZ&gclid=CJ-bkvf25MQCFYuWtAod4lwAZg>

[38] SPÍNOLA, V., LLORENT-MARTÍNEZ, E., CASTILHO, P. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. In: *Journal of Chromatography A*. Funchal: Elsevier B.V., 2014, s. 2-17. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.09.087.

[39] HAMPL, F., PALEČEK, J. *Farmakochemie*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 413 s. ISBN 80-7080-495-5.

[40] KLIMCZAK, I., GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A. Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. In: *Food Chemistry*. Poznań: Elsevier, 2015, s. 100-105. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.104.

[41] DEMAN, J. *Principles of food chemistry*. 3rd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, 1999, vii, 520 p. ISBN 08-342-1234-X.

[42] BELITZ, H., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. *Food chemistry*. 4th rev. and extended ed. Berlin: Springer, c2009. ISBN 9783540699347-.

[43] COMBS, G. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. 3rd ed. Boston: Elsevier Academic Press, c2008, xix, 583 p. ISBN 978-0-12-183493-7.

[44] HERNÁNDEZ, Y, LOBO, G., GONZÁLEZ, M.. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*. 2006, vol. 96, issue 4, s. 654-664. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.04.012.

[45] *Official Methods of Analysis* [online]. 2005 [cit. 2015-03-10]. Dostupné z: <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=14258>

[46] ANTELIDIS, G., VASILAKAKIS, M., MANGANARIS, G., DIAMANTIDIS, G. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 2007, vol. 102, issue 3, s. 777-783. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.06.021.

[47] *Ovocnářská unie* [online]. 2004 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <http://www.ovocnarska-unie.cz/sispo/?str=klima-mapa>

[48] ENVENUTI, S., PELLATI, F., MELEGARI, M., BERTELLI, D. Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*. 2004, vol. 69, issue 3, FCT164-FCT169. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb13352.

## **7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK**

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

CE - capillar electrophoresis

CZE - capillary zone electrophoresis

CUPRAC - copper reduction assay

HILIC - hydrophilic interaction liquid chromatography

HPLC - high performance (pressure) liquid chromatography

LDL - low density lipoprotein

PBM - Price and Butler method

RP-HPLC – reverse phase - high performance (pressure) liquid chromatography

TLC - thin layer chromatography

UHPLC – ultra performance (pressure) liquid chromatography

UV/VIS - ultraviolet/visible radiation

## 8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 2:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 3:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 4:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 5:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 6:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 7:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 8:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 9:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).



- Příloha 10:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 11:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).
- Příloha 12:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).

## 9 PŘÍLOHY

**Příloha 1:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3, \alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	$s_r$ [%]	$s^2$	R	IS
Detvan	KEŘ	0,297	0,243	0,088	0,709	122,396±1,704
	V	0,578	0,419	0,334	1,256	138,117±3,313
J.V. Tets	KEŘ	0,687	0,549	0,472	1,663	125,082±3,936
	V	0,427	0,351	0,183	0,942	121,553±2,448
Jesan	KEŘ	0,218	0,154	0,048	0,492	141,440±1,252
	V	1,178	0,711	1,388	2,695	165,691±6,750
Junnifer	KEŘ	0,675	0,428	0,456	1,616	157,847±3,870
	V	0,131	0,073	0,017	0,292	178,660±0,749
Kozolupský raný	KEŘ	0,081	0,058	0,007	0,195	140,895±0,465
	V	0,094	0,068	0,009	0,206	137,745±0,539
Losan	KEŘ	0,537	0,315	0,288	1,146	170,339±3,077
	V	0,093	0,056	0,009	0,216	165,256±0,534
NŠLS 11/6	KEŘ	0,427	0,432	0,183	1,0114	98,878±2,448
	V	0,542	0,526	0,294	1,225	103,101±3,106
Rovada	KEŘ	0,487	0,249	0,237	1,193	195,715±2,791
	V	0,479	0,240	0,230	0,980	199,594±2,745
Rubigo	KEŘ	0,367	0,280	0,135	0,862	131,206±2,102
	V	0,940	0,678	0,883	2,080	138,622±5,384
Štansa	KEŘ	0,492	0,351	0,242	1,201	140,138±2,821
	V	0,903606	0,602	0,817	2,213	150,209±5,178
Tatran	KEŘ	0,081753	0,051	0,007	0,190	158,889±0,468
	V	0,838619	0,556	0,703	2,046	150,725±4,805

**Příloha 2:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (n = 3, α = 0,01).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
Blanka	KEŘ	1,500	1,317	2,247	3,666	113,845±8,589
	V	0,394	0,325	0,155	0,932	121,232±2,259
Jantar	KEŘ	0,357	0,299	0,128	0,863	119,551±2,047
	V	0,367	0,286	0,135	0,899	128,467±2,103
Olin	keř	0,635	0,407	0,404	1,505	156,048±3,641
	V	0,825	0,538	0,680	1,905	153,163±4,726
Orion	KEŘ	1,940	1,719	3,764	4,679	112,842±11,117
	V	0,319	0,230	0,101	0,747	138,254±1,825
Primus	KEŘ	0,866	0,653	0,751	2,121	132,746±4,964
	V	0,738	0,539	0,545	1,750	137,009±4,230
Viktorie	KEŘ	0,078	0,083	0,006	0,191	94,300±0,447
	V	0,593	0,585	0,351	1,259	101,341±3,397

**Příloha 3:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele (n = 3, α = 0,01).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
J.V. Tets	směs	0,384	0,284	0,147	0,938	135,295±2,201
Jesan	směs	0,330	0,311	0,109	0,547	105,812±1,889
Junnifer	směs	0,449	0,331	0,202	0,885	135,640±2,574
Kozolupský raný	směs	0,534	0,470	0,285	1,242	113,673±3,060
Losan	směs	0,789	0,492	0,623	1,816	160,250±4,522
NŠLS 11/6	směs	0,469	0,461	0,220	0,368	101,751±2,688
Rovada	směs	0,208	0,121	0,043	0,503	172,570±1,193
Rubigo	směs	0,419	0,313	0,176	1,027	134,142±2,403
Stansa	směs	0,387	0,264	0,150	0,700	146,565±2,219
Tatran	směs	0,251	0,206	0,063	0,573	121,861±1,435

**Příloha 4:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových fenolických látek [ $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	$s_r$ [%]	$s^2$	R	IS
Blanka	směs	0,356	0,369	0,126	0,866	96,271±2,038
Jantar	směs	0,518	0,746	0,268	1,261	69,427±2,968
Olin	směs	0,544	0,557	0,296	3,118	97,706±3,118
Orion	směs	0,346	0,345	0,120	0,765	100,308±1,981
Primus	směs	0,256	0,256	0,066	0,621	100,121±1,468
Viktorie	směs	0,823	1,355	0,677	1,777	60,730±4,714

**Příloha 5:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [ $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	$s_r$ [%]	$s^2$	R	IS
Detvan	KEŘ	1,014	5,459	1,028	0,809	18,569±5,809
	V	0,146	0,852	0,021	0,319	17,159±0,838
J.V. Tets	KEŘ	0,371	1,809	0,138	0,905	20,505±2,126
	V	1,019	5,203	1,039	2,487	19,590±5,841
Jesan	KEŘ	1,329	6,315	1,765	3,059	21,036±7,612
	V	0,434	2,650	0,189	1,039	16,394±2,490
Junnifer	KEŘ	0,579	2,223	0,335	1,415	26,051±3,319
	V	0,471	1,703	0,221	1,135	27,629±2,697
Kozolupský raný	KEŘ	0,802	3,370	0,642	1,921	23,782±4,593
	V	0,976	4,931	0,952	2,305	19,792±5,592
Losan	KEŘ	0,471	1,928	0,222	1,100	24,420±2,698
	V	1,287	5,572	1,656	2,793	23,092±7,373
NŠLS 11/6	KEŘ	0,437	5,463	0,191	0,022	8,002±2,505
	V	0,230	2,722	0,053	0,554	8,447±1,317
Rovada	KEŘ	0,477	3,889	0,200	0,980	11,496±2,562
	V	0,458	3,840	0,210	1,099	11,928±2,625
Rubigo	KEŘ	0,763	3,607	0,583	1,790	21,159±4,374
	V	0,559	2,664	0,313	1,370	20,996±3,205
Stansa	KEŘ	0,576	2,132	0,332	1,385	27,016±3,300
	V	0,529	1,731	0,280	1,210	30,552±3,030
Tatran	KEŘ	0,208	1,330	0,043	0,489	15,636±1,191
	V	0,725	6,388	0,526	1,776	11,352±4,155

**Příloha 6:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (n = 3, α = 0,01).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
<b>Blanka</b>	KEŘ	0,025	4,975	0,001	0,053	0,497±0,142
	V	0,025	8,222	0,001	0,053	0,302±0,142
<b>Jantar</b>	KEŘ	0,000	0,114	0,000	0,000	0,053±0,00
	V	0,050	56,621	0,002	0,286	0,088±0,286
<b>Olin</b>	KEŘ	0,025	28,244	0,001	0,000	0,089±0,144
	V	0,001	0,076	0,000	0,002	0,848±0,004
<b>Orion</b>	KEŘ	0,000	0,352	0,000	0,000	0,053±0,001
	V	0,000	0,326	0,000	0,000	0,053±0,001
<b>Primus</b>	KEŘ	0,066	82,719	0,004	0,053	0,080±0,378
	V	0,000	0,160	0,000	0,001	0,160±0,001
<b>Viktorie</b>	KEŘ	0,043	40,701	0,002	0,053	0,106±0,247
	V	0,025	20,084	0,001	0,000	0,124±0,143

**Příloha 7:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele (n = 3, α = 0,01).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
<b>J.V. Tets</b>	směs	0,215	1,061	0,046	0,523	20,261±1,231
<b>Jesan</b>	směs	0,826	3,941	0,682	2,021	20,948±4,731
<b>Junnifer</b>	směs	0,336	1,253	0,113	0,814	26,797±1,924
<b>Kozolupský raný</b>	směs	0,704	3,349	0,496	1,716	21,033±4,037
<b>Losan</b>	směs	0,978	3,009	0,956	2,123	32,491±5,603
<b>NŠLS 11/6</b>	směs	0,618	7,899	0,382	1,367	7,825±3,542
<b>Rovada</b>	směs	0,393	3,157	0,154	0,834	12,433±2,249
<b>Rubigo</b>	směs	0,649	2,090	0,421	1,558	31,063±3,719
<b>Stansa</b>	směs	0,939	2,629	0,882	2,203	35,726±5,382
<b>Tatran</b>	směs	0,305	2,823	0,093	0,742	10,792±1,746

**Příloha 8:** Statistické zpracování výsledků koncentrací celkových antokyanů [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele (n = 3,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
Blanka	směs	0,025	20,464	0,001	0,054	0,124±0,146
Jantar	směs	0,025	8,287	0,001	0,054	0,301±0,143
Olin	směs	0,025	14,179	0,001	0,054	0,178±0,144
Orion	směs	0,000	0,123	0,000	0,002	0,213±0,002
Primus	směs	0,013	4,615	0,000	0,029	0,283±0,075
Viktorie	směs	0,000	0,452	0,000	0,001	0,053±0,001

**Příloha 9:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách červeného rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (n = 3,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [%]	s <sup>2</sup>	R	IS
Detvan	KEŘ	0,494	1,059	0,244	1,078	46,583±2,828
	V	0,493	1,399	1,956	1,206	35,244±2,825
J.V. Tets	KEŘ	0,698	1,794	0,487	1,504	38,895±3,998
	V	0,611	1,813	3,286	1,468	33,721±3,502
Jesan	KEŘ	0,507	0,997	0,257	1,087	50,836±2,904
	V	0,527	0,962	0,925	1,244	54,799±3,020
Junnifer	KEŘ	0,503	1,068	0,253	1,189	47,127±2,885
	V	0,482	0,836	0,699	1,047	57,649±2,762
Kozolupský raný	KEŘ	0,106	0,368	0,011	0,260	28,949±0,610
	V	1,099	3,350	11,220	2,617	32,797±6,295
Losan	KEŘ	0,522	1,145	0,272	1,221	45,573±2,990
	V	0,139	0,292	0,085	0,327	47,724±0,798
NŠLS 11/6	KEŘ	0,713	3,411	0,509	1,707	20,918±4,088
	V	0,441	1,151	1,326	0,996	38,266±2,525
Rovada	KEŘ	0,561	1,594	0,315	1,320	35,199±3,215
	V	1,470	4,253	18,092	0,600	34,564±8,424
Rubigo	KEŘ	0,277	0,830	0,077	0,628	33,432±1,590
	V	1,432	3,354	11,247	0,785	42,692±8,204
Stansa	KEŘ	0,960	3,750	0,923	2,261	25,612±5,504
	V	1,051	2,894	8,373	0,478	36,307±6,020
Tatran	KEŘ	0,322	1,081	0,104	0,777	29,760±1,844
	V	0,317	0,644	0,415	0,697	49,185±1,815

**Příloha 10:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	$s_r[\%]$	$s^2$	R	IS
Blanka	KEŘ	1,073	2,237	1,15	2,244	47,976±6,149
	V	0,670	1,222	0,449	1,641	54,821±3,839
Jantar	KEŘ	0,958	1,533	0,918	2,326	62,497±5,492
	V	0,601	0,998	0,361	1,472	60,209±3,445
Olin	KEŘ	0,748	2,144	0,559	1,815	34,873±4,285
	V	0,779	3,590	0,607	1,850	21,694±4,463
Orion	KEŘ	0,274	0,586	0,075	0,622	46,774±1,572
	V	0,918	2,191	0,844	2,146	41,922±5,263
Primus	KEŘ	0,919	1,784	20,225	2,086	51,120±5,225
	V	0,663	1,103	0,440	1,624	60,115±3,801
Viktorie	KEŘ	0,352	1,39362	0,525	0,852	25,272±2,014
	V	0,621	2,607	0,386	1,393	23,823±3,558

**Příloha 11:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ] v odrůdách červeného rybízu od soukromého pěstitele ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	$s_r[\%]$	$s^2$	R	IS
J.V. Tets	směs	1,023	3,221	1,046	2,482	31,763±5,862
Jesan	směs	0,825	2,196	0,681	1,761	37,563±4,727
Junnifer	směs	1,022	2,730	1,044	2,493	37,421±5,855
Kozolupský raný	směs	0,334	1,284	0,112	0,786	26,041±1,915
Losan	směs	0,868	2,846	0,753	2,112	30,501±4,974
NŠLS 11/6	směs	0,644	2,526	0,415	1,547	25,511±3,692
Rovada	směs	0,430	1,624	0,185	1,027	26,481±2,464
Rubigo	směs	0,390	1,237	0,152	0,941	31,520±2,234
Stansa	směs	0,384	1,344	0,148	0,876	28,600±2,203
Tatran	směs	0,480	1,526	0,231	1,136	31,470±2,751

**Příloha 12:** Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [mg·100 g<sup>-1</sup>] v odrůdách bílého rybízu od soukromého pěstitele (n = 3,  $\alpha = 0,01$ ).

Odrůda	Typ	s	s <sub>r</sub> [ %]	s <sup>2</sup>	R	IS
<b>Blanka</b>	směs	0,721	2,687	0,519	1,668	26,816±4,129
<b>Jantar</b>	směs	0,899	2,443	0,808	2,169	36,811±5,152
<b>Olin</b>	směs	0,797	3,181	0,636	1,413	25,067±4,570
<b>Orion</b>	směs	0,489	2,502	0,239	1,143	19,529±2,800
<b>Primus</b>	směs	0,654	1,784	0,428	1,511	36,662±3,748
<b>Viktorie</b>	směs	0,641	4,253	0,411	1,442	15,006±3,672