

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIZERTAČNÍ PRÁCE

Brno, 2016

Ing. Jitka Četkovská



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**  
FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**ZHODNOCENÍ FYZIKÁLNÍCH A CHEMICKÝCH  
PARAMETRŮ PLODŮ DOSUD MÉNĚ VYUŽÍVANÝCH  
DRUHŮ DROBNÉHO OVOCE A NÁVRH NOVÉHO  
NEALKOHOLICKÉHO NÁPOJE Z TOHOTO OVOCE**

EVALUATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF STILL LESS EXPLOITED SPECIES OF  
SMALL FRUIT AND PROPOSAL OF A NEW SOFT DRINK FROM THIS FRUIT

**DIZERTAČNÍ PRÁCE**  
DOCTORAL THESIS

**AUTOR PRÁCE**  
AUTHOR

Ing. Jitka Cetkovská

**ŠKOLITEL**  
SUPERVISOR

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.

**BRNO 2016**



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

## Zadání dizertační práce

Číslo dizertační práce:

**FCH-DIZ0135/2015**

Akademický rok: **2015/2016**

Ústav:

Ústav chemie potravin a biotechnologií

Student(ka):

**Ing. Jitka Cetkovská**

Studijní program:

Chemie a technologie potravin (P2901)

Studijní obor:

Potravinářská chemie (2901V021)

Vedoucí práce

**doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.**

Konzultanti:

### Název dizertační práce:

Zhodnocení fyzikálních a chemických parametrů plodů dosud méně využívaných druhů drobného ovoce a návrh nového nealkoholického nápoje z tohoto ovoce

### Zadání dizertační práce:

Cílem dizertační práce bylo ve spolupráci se Zahradnickou fakultou Mendlové Univerzity v Brně a Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousích zhodnotit fyzikální a chemické parametry plodů vybraných odrůd méně využívaných druhů drobného ovoce. Dále se práce zaměřila na navržení nového nealkoholického nápoje s obsahem šťávy z jednoho z hodnocených druhů ovoce.

### Termín odevzdání dizertační práce: 31.8.2016

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

-----  
Ing. Jitka Cetkovská  
Student(ka)

-----  
doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.  
Vedoucí práce

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

V Brně, dne 1.9.2015

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

## **ABSTRAKT**

Předložená dizertační práce se zabývá dosud méně využívanými druhy drobného ovoce, posouzením jejich fyzikálních a chemických parametrů a návrhem nového nealkoholického nápoje vyrobeného z jednoho ze studovaných druhů ovoce.

Byly vybrány, optimalizovány a validovány titrační, spektrofotometrické, chromatografické a elektroforetické metody pro charakterizaci základních nutričních parametrů (sušiny, obsahu organických kyselin a sacharidů) a biologicky aktivních látek (vitaminu C, anthokyanů a fenolických látek). Byla také optimalizována příprava vzorků.

Po tři roky (2010–2012) byl sledován obsah uvedených parametrů v několika odrůdách celkem pěti druhů drobného ovoce: v sedmi odrůdách rakytníku řešetlákového, v deseti odrůdách dřínu obecného, ve dvanácti odrůdách jeřábu ptačího, ve dvou odrůdách aronie černé a v sedmnácti odrůdách bezu černého. S využitím Duncanova testu, analýzy hlavních komponent a shlukové analýzy byly největší rozdíly mezi jednotlivými odrůdami pozorovány především u rakytníku řešetlákového a jeřábu obecného, kde byly jednotlivé odrůdy snadno rozlišitelné na základě genetického původu.

Na základě porovnání stanovených obsahových látek ve studovaném ovoci a ve spolupráci se soukromým potravinářským subjektem byl vybrán druh ovoce vhodný pro komerční využití – bez černý, jako významný zdroj anthokyanů a fenolických látek. Byl vytvořen návrh využití tohoto ovoce ve formě nealkoholického nápoje – ovocné šťávy nebo nektaru s podílem bezové šťávy.

Z bezové a hroznové šťávy byly připraveny vícedruhové džusy nebo nektary o různém složení, které byly podrobeny senzorickému hodnocení. Nejlépe byly hodnoceny 100% ovocné šťávy připravené s 30–50% podílem bezové šťávy. Jejich složení bylo právně ochráněno.

Na základě této ochrany byl společností zabývající se zpracováním ovoce uveden na trh výrobek – 100% ovocná šťáva s 10% podílem bezové složky kombinované s jablečnou a hroznovou šťávou.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

rakytník řešetlákový, dřín obecný, jeřáb ptačí, aronie černá, bez černý, organické kyseliny, sacharidy, vitamin C, polyfenoly, anthokyany

## **ABSTRACT**

This thesis deals with still less exploited species of small fruit, evaluation of its physical and chemical parameters and proposal of a new soft drink from one of the studied species of fruit.

Firstly, for the characterisation of basic nutrition parameters (dry matter, content of organic acids and saccharides) and biologically active substances (vitamin C, anthocyanins and phenolic compounds) suitable titration, spectrophotometric, chromatographic and electrophoretic methods were chosen, optimized and validated. The sample preparation procedure was optimized as well.

For three years (2010–2012) the content of listed parameters was monitored in some cultivars of five species of small fruit: in seven cultivars of sea buckthorn, in ten cultivars of cornelian cherry, in twelve cultivars of rowanberry, in two cultivars of chokeberry and in seventeen cultivars of elderberry. By means of Duncan's test, analysis of principal components (PCA) and cluster analysis (CLU) the main differences between studied cultivars were observed mainly in sea buckthorn and rowanberry, where single cultivars were easily distinguishable from others on the basis of genetic origin.

On the basis of comparison of determined parameters in studied species of fruit and with collaboration with fruit processing company the suitable species of fruit for commercial utilization was chosen – elderberry, as an important source of anthocyanins and phenolic compounds. A new soft drink as a proposal of utilization of this fruit was created – fruit juice or nectar with portion of elderberry juice.

Mixed juices and nectars with various composition were prepared from elderberry and grape juice and the sensory analysis of these drinks was performed. The best evaluated were 100% fruit juices prepared with 30–50% portion of elderberry juice. The composition was jurally protected.

On the basis of this protection the product consisted from 100% fruit juice with 10% of elderberry component mixed with apple and grape juice was introduced to the market by the fruit processing company.

## **KEY WORDS**

sea buckthorn, cornelian cherry, rowanberry, chokeberry, elderberry, organic acids, saccharides, vitamin C, polyphenols, anthocyanins

CETKOVSKÁ, J. *Zhodnocení fyzikálních a chemických parametrů plodů dosud méně využívaných druhů drobného ovoce a návrh nového nealkoholického nápoje z tohoto ovoce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 214 s. Vedoucí dizertační práce doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Dizertační 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

*Chtěla bych na tomto místě poděkovat především RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D. za cenné rady, přátelský přístup, ochotu a trpělivost. Taktéž děkuji doc. Ing. Jiřině Omelkové, CSc. za vedení mé dizertační práce a doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za odbornou pomoc.*

*Za spolupráci, poskytnutí vzorků a informací pro dizertační práci bych chtěla poděkovat prof. Ing. Vojtěchu Řezníčkovi, CSc. z Mendelovy univerzity v Brně a Ing. Aleši Matějíčkovi, Ph.D. z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského v Holovousích.*

*Děkuji i všem, kteří mě během studia inspirovali či jakkoliv přispěli k dokončení této práce, všem svým kolegům za přátelské, nejen pracovní, prostředí.*

*Velký dík patří mé rodině a všem mým blízkým za trpělivost a podporu po celou dobu studia.*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY.....</b>	<b>11</b>
2.1	MÉNĚ VYUŽÍVANÉ DRUHY OVOCE.....	11
2.1.1	<i>Rakytník řešetlákový.....</i>	11
2.1.2	<i>Dřín obecný.....</i>	14
2.1.3	<i>Jeřáb ptačí.....</i>	17
2.1.4	<i>Aronie černá.....</i>	19
2.1.5	<i>Bez černý.....</i>	21
2.2	VYBRANÉ BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY V DOSUD MÉNĚ VYUŽÍVANÝCH DRUZÍCH DROBNÉHO OVOCE....	25
2.2.1	<i>Vitamin C .....</i>	25
2.2.2	<i>Stanovení vitaminu C .....</i>	29
2.2.3	<i>Fenolické látky .....</i>	33
2.2.4	<i>Stanovení fenolických látek .....</i>	36
2.3	SENZORICKÁ ANALÝZA .....	40
2.4	VYUŽITÍ STUDOVANÝCH DRUHŮ OVOCE V POTRAVINÁŘSTVÍ .....	41
2.4.1	<i>Ovocné šťávy.....</i>	41
2.4.2	<i>Technologie zpracování ovocných šťáv.....</i>	42
2.5	OZNAČOVÁNÍ POTRAVIN.....	44
<b>3</b>	<b>CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE .....</b>	<b>46</b>
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>47</b>
4.1	LABORATORNÍ VYBAVENÍ, CHEMIKÁLIE .....	47
4.2	VZORKY .....	48
4.2.1	<i>Původ vzorků.....</i>	48
4.2.2	<i>Jednotlivé vzorky.....</i>	49
4.3	OPTIMALIZACE A VALIDACE ANALYTICKÝCH METOD .....	53
4.3.1	<i>Optimalizace podmínek přípravy vzorků.....</i>	53
4.3.2	<i>Optimalizace podmínek přípravy vzorku pro analýzu vitaminu C .....</i>	53
4.3.3	<i>Validace analytické metody pro stanovení vitaminu C .....</i>	54
4.3.4	<i>Optimalizace a validace analytické metody pro stanovení celkových polyfenolů .....</i>	55
4.4	POUŽITÉ ANALYTICKÉ METODY .....	56
4.4.1	<i>Příprava vzorků k analýze.....</i>	57
4.4.2	<i>Gravimetrické stanovení sušiny.....</i>	57
4.4.3	<i>Stanovení refraktometrické sušiny.....</i>	57
4.4.4	<i>Stanovení titrovatelných kyselin.....</i>	58
4.4.5	<i>Stanovení celkových polyfenolů dle Folin-Ciocaltaeua .....</i>	58
4.4.6	<i>Stanovení celkových anthokyanů pH-diferenční metodou.....</i>	58
4.4.7	<i>Stanovení sacharidů HPLC.....</i>	58
4.4.8	<i>Stanovení vitaminu C HPLC .....</i>	59
4.4.9	<i>Stanovení organických kyselin CZE .....</i>	59
4.4.10	<i>Stanovení rutinu HPLC .....</i>	60
4.5	SENZORICKÉ HODNOCENÍ .....	61
4.6	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT .....	61
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>62</b>
5.1	OPTIMALIZACE ANALYTICKÝCH METOD .....	62
5.1.1	<i>Optimalizace podmínek přípravy vzorku .....</i>	62
5.1.2	<i>Optimalizace podmínek přípravy vzorku – vitamin C .....</i>	63
5.1.3	<i>Validace analytické metody pro stanovení vitaminu C .....</i>	64
5.1.4	<i>Optimalizace a validace analytické metody pro stanovení celkových polyfenolů .....</i>	72
5.2	ANALÝZA PLODŮ .....	77
5.2.1	<i>Rakytník řešetlákový.....</i>	77
5.2.2	<i>Dřín obecný.....</i>	91
5.2.3	<i>Jeřáb ptačí.....</i>	106
5.2.4	<i>Aronie černá.....</i>	124

5.2.5	<i>Bez černý</i> .....	126
5.2.6	<i>Srovnání a zhodnocení ovoce</i> .....	141
5.3	ANALÝZA BEZOVÝCH ŠTÁV .....	145
5.4	SENZORICKÁ ANALÝZA .....	146
5.4.1	<i>Úvod</i> .....	146
5.4.2	<i>Posouzení pomocí stupnice</i> .....	146
5.4.3	<i>Posouzení pomocí profilového testu</i> .....	147
5.4.4	<i>Posouzení pomocí pořadového testu</i> .....	150
5.4.5	<i>Závěr</i> .....	151
5.5	ETIKETA .....	152
5.6	ANALÝZA FINÁLNÍHO PRODUKTU .....	155
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>157</b>
<b>7</b>	<b>ZKRATKY</b> .....	<b>160</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>162</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>177</b>
<b>10</b>	<b>PŘÍLOHY</b> .....	<b>178</b>
10.1	PŘÍLOHA 1 – DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ .....	178
10.2	PŘÍLOHA 2 – VZOROVÉ CHROMATOGRAMY .....	184
10.3	PŘÍLOHA 3 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – RAKYTNÍK ŘEŠETLÁKOVÝ .....	186
10.4	PŘÍLOHA 4 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – DŘÍN OBECNÝ .....	187
10.5	PŘÍLOHA 5 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – JEŘÁB PTAČÍ .....	189
10.6	PŘÍLOHA 6 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – ARONIE ČERNÁ .....	191
10.7	PŘÍLOHA 7 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – BEZ ČERNÝ .....	192
10.8	PŘÍLOHA 8 – UŽITNÝ VZOR č. 23248 .....	195
10.9	PŘÍLOHA 9 – UŽITNÝ VZOR č. 23809 .....	200
10.10	PŘÍLOHA 10 – ŽIVOTOPIS .....	204
10.11	PŘÍLOHA 11 – PUBLIKACE .....	205

# 1 ÚVOD

Ovoce je pro člověka jedním ze zdrojů výživových a biologicky aktivních látek (kyselin, sacharidů, vlákniny, vitaminů či fenolických látek). Proto by mělo být nezbytnou součástí lidské výživy a mělo by být konzumováno v co nejširším sortimentu [1].

V poslední době se ze strany spotřebitelů zvyšuje poptávka po nápojích a potravinách s novými příchutěmi a ingredientami. Trend se odklání od tradičních citrusových k exotičtějším ovocným příchutím (brusinka, granátové jablko) [2].

V České republice má mnoho druhů ovoce dlouhou tradici v pěstování, v mnoha případech rostou i divoce, avšak ne všechny jsou průmyslově využívány. Mnohé druhy jsou stále na okraji zájmu spotřebitelů i zástupců potravinářského průmyslu, i když mají potenciál stát se vhodnými surovinami pro výrobu nejrůznějších potravinářských výrobků (známější a více průmyslově využívané jsou tyto druhy v zahraničí). V České republice se už déle pěstují a šlechtí např. dřín obecný, jeřáb ptačí či bez černý. Jiné druhy ovoce byly na začátku 20. století s úspěchem dovezeny, jejich pěstování v našich klimatických podmínkách je velmi snadné, mají bohatou úrodu a jsou stále populárnější i mezi spotřebiteli (rakytník řešetlákový, aronie černá).

Každý druh uvedeného ovoce je bohatý na jinou ze zdravotně významných látek, které jsou známé především pro své antioxidační účinky: vitamin C (rakytník, dřín, jeřáb, bez), flavonoidy, anthokyany (především aronie a bez, v menší míře dřín), karotenoidy (rakytník) [1, 3].

V České republice jsou šlechtěny i nové odrůdy uvedených druhů ovoce, avšak chybí kompletní data o množství zdravotně významných látek a tedy možnost je porovnat s hodnotami uvedenými v zahraniční odborné literatuře. Srovnání by umožnilo vybrat vhodnou odrůdu daného ovoce pro průmyslové využití z hlediska optimálního poměru zdravotně významných látek. Pro kvantifikaci a identifikaci biologicky aktivních látek se používají hlavně separační techniky v čele s nejpoužívanější kapalinovou chromatografií.

Pro technologické využití mají uvedení zástupci drobného bobulovitého ovoce význam především ve formě pasterovaných šťáv, které jsou schopny uchovat zdravotně významné látky a chuť v téměř nezměněné podobě. V poslední době se trend potravinových a nápojových inovací posunuje od tradičních sycených nápojů k nápojům, které mohou mít pozitivní účinky na lidský organismus, jako jsou nesycené ovocné nápoje a chlazené čerstvé šťávy s minimálním obsahem sladidel či konzervačních látek [2].

## 2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1 MÉNĚ VYUŽÍVANÉ DRUHY OVOCE

Z širokého sortimentu drobného ovoce bylo vybráno pět druhů. Každý z nich je výjimečný obsahem určité biologicky aktivní látky. Jedním z nejbohatších zdrojů vitaminu C je rakytník řešetlakový. Plody dřínu obecného obsahují vyvážený poměr sledovaných biologicky aktivních látek, a proto jsou vhodné k přímé konzumaci. Plody jeřábu ptačího jsou zejména významným zdrojem fenolických látek a vitaminu C. Významná množství anthokyanů a tříslovin lze nalézt v plodech aronie černé. Plody bezu černého se vyznačují vysokým obsahem rutinu a anthokyanů [3].

#### 2.1.1 Rakytník řešetlakový

Rakytník řešetlakový (*Hippophae rhamnoides*, L.) je 2–5 metrů vysoký keř náležící do čeledi hlošinovité (*Elaeagnaceae*). Pochází ze Střední a Východní Asie, odkud se rozšířil přes Kavkaz do severní i střední Evropy a dále do Severní Ameriky. Roste v okolí řek či na výslunných stepních, alpských i krasových stráních. Je mrazuvzdorný a dobře snáší i znečištěné půdy a je ideální pro zpevňování písčitých půd proti erozi [3, 4].

Jde o hustě větvený, opadavý trnitý keř s kopinatými zelenostříbřitými listy, kvete v dubnu až v květnu a od srpna do září dozrávají oválné peckovičky žluté až tmavě oranžové barvy. Začíná plodit od třetího roku po výsadbě a velkých výnosů dosahuje zhruba do dvacátého roku [3, 4].



Obrázek 1: Rakytník řešetlakový (*Hippophae rhamnoides* L.) [5]

Druh *Hippophae rhamnoides* zahrnuje několik poddruhů (*subspecies*), jejichž počet a dělení je stále ve vývoji. Nyní se tento druh rozděluje na 9 poddruhů: *H. rhamnoides carpatica* (území Rumunska a okolí), *caucasica* (Kavkaz), *fluviatilis* (Střední Evropa), *gyantsensis*, *mongolica* (Mongolsko, Rusko – Altaj), *rhamnoides* (Severní Evropa, Pobaltí), *sinensis* (Čína), *turkestanica* (Turkmenistán a okolní státy) a *yunnanensis*. Křížením v rámci jednotlivých poddruhů i mezi poddruhy vzniklo velké množství odrůd s různými vlastnostmi [6, 7].

V 70. letech byly vypěstovány v tehdejším Sovětském svazu altajské odrůdy (*subsp. mongolica*) ('Novost Altaj', 'Dar Katuni', 'Vitamínová', 'Olejová'). V 80. letech hybridy altajského a sajánského typu s velkými plody, chutné, s menší trnitostí, avšak s nižší produktivitou a mrazuvzdorností. V 90. letech poté hybridy altajsko-pobaltské (*subsp. mongolica × rhamnoides*) s lepší mrazuvzdorností a odolností vůči chorobám ('Trofimovský', 'Perčík', 'Finská', 'Ljubitelna', 'Botanický'). V Německu potom odrůdy (*subsp. rhamnoides*) 'Leicora', 'Frugana', 'Hergo' a samčí 'Pollmix' [3, 4, 7].

### 2.1.1.1 Obsah zdravotně významných látek v plodech rakytníku řešetlákového

Obsah látek záleží na genetickém pozadí, klimatu, stanovišti, zralosti při sběru, zpracování a v neposlední řadě na účinnosti extrakce a metodě stanovení sledované látky [8, 9].

Plody rakytníku řešetlákového obsahují především vysoké množství vitaminu C. Jeho obsah výrazně závisí na poddruhu. Čínský poddruh *sinensis* obsahuje nejvyšší množství, zatímco evropský *rhamnoides* a altajský *mongolica* obsahuje i 10krát nižší množství. Obsah vitaminu C v průběhu zrání plodů od konce srpna do listopadu klesá. Bylo prokázáno, že v plodech rakytníku, ani ve šťávě z nich připravené, se i po třinácti měsících skladování v mrazničce ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) množství vitaminu C výrazně nelíší [10].

Tabulka 1: Srovnání obsahu vitaminu C v plodech jednotlivých poddruhů rakytníku řešetlákového

poddruh	obsah vitaminu C [ $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ čerstvých plodů]	literatura
<i>fluviatilis</i>	460–1 330	[9]
<i>mongolica</i>	40–300	[9]
	131	[11]
<i>rhamnoides</i>	28–310	[9]
	180–370	[12]
	129	[13]
<i>rhamnoides × mongolica</i>	93	[13]
	59–80	[11]
<i>sinensis</i>	200–2 500	[9]
<i>turkestanica</i>	294	[14]

Plody rakytníku jsou výrazným zdrojem organických kyselin. Kyseliny jablečná a chinová tvoří devadesát procent z celkového obsahu kyselin. U poddruhu *mongolica* je obsah celkových kyselin  $21\text{--}32 \text{ g.l}^{-1}$  šťávy, *rhamnoides*  $42\text{--}65 \text{ g.l}^{-1}$  šťávy a *sinensis*  $35\text{--}91 \text{ g.l}^{-1}$  šťávy. Obsah cukrů je nejvyšší v poddruhu *sinensis* ( $56\text{--}227 \text{ g.kg}^{-1}$ ), nižší v poddruhu *mongolica* ( $20 \text{ g.kg}^{-1}$ ) a nejnižší v poddruhu *rhamnoides* ( $13 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Nejzastoupenějšími cukry jsou glukosa a fruktosa, obsahuje však i nízká množství manitolu, sorbitolu a xylitolu [9, 15].

Fenolické látky jsou zastoupeny především flavonoly – deriváty isorhamnetinu, kvercetinu a kaempferolu. Jako minoritní složky se vyskytují proanthokyanidiny, flavan-3-oly a fenolické kyseliny [9, 11]. Průměrný celkový obsah fenolických látek v plodech byl stanoven na  $312 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  [11]. Oranžovou barvu propůjčují plodům karotenoidy (zeaxanthin,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kryptoxanthin). Obsah  $\beta$ -karotenu z celkového množství karotenoidů dosahuje 15–55 % v závislosti na poddruhu. Během zrání se obsah kyselin postupně snižuje a obsah karotenoidů vzrůstá [9, 12].

Obsah vitaminu E v olejové složce plodů se v rámci poddruhů nijak výrazně neliší. Jeho obsah v dužině se pohybuje od  $3\text{--}21 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  čerstvé dužiny, v semenech  $4\text{--}30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  semen [10]. Nejvyšší zastoupení má  $\alpha$ -tokoferol [3].

Ze srovnání ruské odrůdy Orange (*subsp. mongolica*) s německou odrůdou Hergo (*subsp. rhamnoides*) lze posoudit ruskou odrůdu jako chuťově vyrovnanější díky lepšímu poměru cukrů ku kyselinám ( $1,14$  *mongolica* vs.  $0,34$  *rhamnoides*). Ruská odrůda měla vyšší obsah cukrů (také větší poměr glukosy z celkového množství cukrů) a nižší obsah kyselin než německá odrůda, která měla ovšem jednou takový obsah vitaminu C [15].

Další studie srovnávala poddruhy *sinensis* a *rhamnoides*. Obsah celkových kyselin v čerstvých plodech byl podobný ( $33,8\text{--}47,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  vs.  $22,0\text{--}44,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), avšak obsah sacharidů byl v případě poddruhu *sinensis* přibližně pětkrát vyšší ( $45,0\text{--}77,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  vs.  $3,7\text{--}21,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Stejně tak byl v plodech poddruhu *sinensis* vyšší i obsah vitaminu C ( $192,9\text{--}676,2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  vs.  $50\text{--}201,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) [13].

*Tabulka 2: Obsah vybraných látek v poddruhu *rhamnoides* (odrůdy 'Askola', 'Hergo', 'Leicora') [12]*

skupina látek	látky	obsah látky v čerstvých plodech
organické k. [g.kg <sup>-1</sup> ]	jablečná k.	1 940–4 660
	chinová k.	810–2 820
	citronová	90–160
cukry [g.kg <sup>-1</sup> ]	glukosa	260–2 100
	fruktosa	140–540
flavonoly [mg.100g <sup>-1</sup> ]	isorhamnetin	35–66
	kvercetin	3–10
	kaempferol	0,2–0,5
karotenoidy [mg.100g <sup>-1</sup> ]	zeaxanthin	3–15
	$\beta$ -karoten	0,3–5,0
	$\beta$ -kryptoxanthin	0,5–1,9

### 2.1.1.2 Využití rakytníku řešetlákového ve farmacii a tradiční medicíně

Rakytník je nedílnou součástí tradiční medicíny v Asii (Čína, Tibet, Indie, apod.), kde byl užíván především pro léčení nachlazení, potíží s trávením, podpoření krevního oběhu a k léčbě poranění. Nejčastěji konzumací čerstvých plodů, oleje či extraktů z listů [16].

Připisují se mu hlavně antioxidační účinky, které byly prokázány v mnoha různých *in vitro* i *in vivo* studiích [16–18]. Plody rakytníku obsahují antioxidanty jak vodné, tak lipidické povahy. Silné antioxidační vlastnosti má i extrakt z listů. Ve studii provedené na krysách byly prokázány účinky šťávy na snižování růstu nádorů. Její konzumace zvyšuje hladinu HDL-cholesterolu v krvi a způsobuje snížení náhylnosti LDL-cholesterolu k oxidaci. U oleje byly prokázány hepatoprotektivní a radioprotektivní účinky, podpůrně působí i při léčbě

žaludečních vředů a má pozitivní účinek na shlukování krevních destiček. Olej z dužiny je při orálním podání prospěšný při léčbě atopické dermatitidy [16].

### 2.1.1.3 Využití plodů rakytníku řešetlákového v potravinářství

Využívá se hlavně olej ze semen, žlutý pigment a šťáva. Šťáva je vhodná pro přípravu nejrůznějších nápojů, cukrovinek či džemů. Pigment a olej nalézá uplatnění především ve farmacii a kosmetice. Plody lze sušit do čajových směsí.

Sklizeň probíhá většinou ručně, protože plody dobře drží na větvích. Při mechanickém procesu je sklizeň často znečištěna listy nebo částmi větví. Před zpracováním je třeba plody umýt vodou pro odstranění mikroorganismů a charakteristického pižmového zápachu [3, 8].

Šťáva se nejčastěji získává lisováním pomocí plachetkových, pásových nebo šnekových lisů. Lze dosáhnout výtěžek asi 67 %. Šťáva je hustá a kalná a obsahuje olejovou fázi z dužiny. Na spotřebitelském obalu může zůstat olejový kruh, což je z hlediska spotřebitele nežádoucí. Proto je vhodné technologický postup doplnit o dekantaci a vysokorychlostní centrifugaci pro odstranění suspendovaných pevných látek a vrchní tukové vrstvy z vodné fáze. Lze také aplikovat preparáty s pektinásami (pektinmethylesterasa, polygalakturonasa, celulasa a další), které sníží viskozitu šťávy, což zlepší účinnost odstranění suspendovaných částic [8].

Byl zkoumán i pokles vitaminu C při průmyslovém zpracování bobulí rakytníku. Původní bobule obsahovaly asi 400 mg vitaminu C ve 100 g plodů. Průmyslová výroba šťávy a technologický postup způsobil asi 5–11% pokles sledovaného vitaminu. Při produkci koncentrované šťávy klesl obsah vitaminu C o 50 %. Skladováním šťávy po 7 dnech při teplotě kolem 6 °C pokleslo množství vitaminu C o 11–12 % [19].

### 2.1.2 Dřín obecný

Dřín obecný (*Cornus mas*, L.) je až 7 metrů vysoký keř naležící do čeledi dřínovité (*Cornaceae*) pochází z jižní Evropy a Blízkého Východu. U nás je rozšířen v teplejších oblastech, především na Jižní Moravě, kde roste hlavně na výslunných a sušších stanovištích s vápenatými půdami. Přes svou teplomilnost je to dřevina poměrně mrazuvzdorná. Má tmavě zelené eliptické listy s podélnou nervaturou. Časně zjara, ještě před olistěním, se na keři objevují žluté stopkaté květy v okolíkových svazcích a od srpna do října dozrávají podlouhlé peckovice oválného až hruškovitého tvaru zvané dřínky. Plody jsou jasné až tmavě červené, někdy i žluté barvy [3, 20], mají hmotnost asi 5–8 gramů a 7,5–11 % jejich váhy zaujímá pecka [21].



Obr. 2: Dřín obecný (*Cornus mas L.*) [22]

Odrůd dřínu je celá řada. Slovenské odrůdy 'Devín' a 'Titus' vznikly výběrem z jedenácti selekcí planých plodů z lokalit Vihorlat, Strážovská hornatina a Moravské předhoří a byly zaregistrovány v roce 1989. V roce 1991 Dr. Helmut Pirc v Rakousku zaregistroval odrůdu 'Jolico'. Z Ukrajiny pochází několik dalších odrůd – mj. 'Vydubecký', 'Elegantní', 'Lukjanovský' [3, 20, 21].

Dřín bohatě a pravidelně plodí a sklizeň lze mechanizovat, např. setřásáním plodů. Je doporučeno pěstovat 400–625 keřů na hektar a výtěžek na rostlinu se pohybuje v rozmezí 30–80 kg. Výtěžek na hektar bývá průměrně 20–25 tun [3, 20, 21].

#### 2.1.2.1 Zdravotně významné látky v plodech dřínu obecného

Plody dřínu obsahují ze zdravotně významných látek především fenolické látky (anthokyany, třísloviny, flavonoidy), vitamin C, cukry a pektiny. Obsah vitaminu C, stejně jako obsah ostatních látek záleží především na odrůdě a době sběru [23].

Pomocí HPLC-DAD-ESI-MS byly v plodech dřínu identifikovány následující anthokyany (seřazeny dle četnosti zastoupení): pelargonidin-3-glukosid, kyanidin-3-galaktosid a pelargonidin-3-rutinosid v celkovém množství  $117 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů [23].

Ve studii, kterou provedl Seeram a kol. [24], byl identifikován odlišný profil anthokyanů: kyanidin-3-galaktosid, pelargonidin-3-galaktosid a delphinidin-3-galaktosid. Obsah byl  $107,9 \text{ mg}$ ,  $71 \text{ mg}$  a  $28 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů (celkem  $206,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů). Byly též prokázány antioxidační a protizánětlivé účinky vybraných izolovaných anthokyanů [24].

Analýzou tureckých odrůd byly identifikovány následující anthokyany: pelargonidin-3-glukosid, kyanidin-3-glukosid a kyanidin-3-rutinosid [25].

Z flavonoidů byly prokázány NMR spektrometrií aromadendrin-7-glukosid, kvercetin-3-rutinosid a kvercetin-3-glukuronid. Dalšími flavonoidy detekovanými pomocí HPLC-DAD-ESI-MS byly především O-3-glykosidy kvercetinu (xylosid, rhamnosid,

galaktosid a glukosid) a kaempferol-3-galaktosid. Nejvíce zastoupené byly kvercetin-3-glukuronid a kaempferol-3-galaktosid. Kvantitativní analýzou bylo stanoveno celkové množství flavonoidů na  $2\,213\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů [23].

Obsah vlákniny v plodech dřínu se v polských odrůdách pohyboval v rozmezí  $10,7\text{--}16,1\text{ g}$  neutrální frakce  $\cdot 100\text{ g}^{-1}$  sušiny a  $7,6\text{--}12,2\text{ g}$  kyselé frakce  $\cdot 100\text{ g}^{-1}$  sušiny. Obsah ligninu dosahoval hodnot mezi  $3\text{--}8,5\text{ g}$ , obsah hemicelulosy  $1,3\text{--}4,6\text{ g}$  a celulosy  $3,1\text{--}6,7\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  sušiny [26].

V plodech dřínu převažuje obsah glukosy ( $25\text{--}70\text{ g}\cdot \text{kg}^{-1}$ ) nad fruktosou ( $22\text{--}38\text{ g}\cdot \text{kg}^{-1}$ ) [27].

*Tabulka 3: Srovnání obsahu vybraných látek v čerstvých plodech dřínu obecného*

původ	množství vitaminu C [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]	zdroj
Turecko	43,8–76,8	[28]
Turecko	16,0–88,0	[25]
Slovensko	16,4–38,5	[29]
Řecko	103,3	[30]
Srbsko	15,0–38,9	[31]
Turecko	31–112	[32]
ČR	148–311	[33]
Polsko	75,1	[34]
titrační kyselost [ $\text{g}\cdot \text{kg}^{-1}$ ]		
Turecko	22,2–46,9	[28]
Turecko	12,5–38,9	[32]
Turecko	11,0–25,3	[25]
Slovensko	46,0–74,0	[29]
celkové cukry [ $\text{g}\cdot \text{kg}^{-1}$ ]		
Turecko	42,2–99,6	[28]
Turecko	76,8–154,0	[25]
Slovensko	65,0–155,0	[29]
celkové polyfenoly [ $\text{mg k. gallové}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]		
ČR	261–811	[33]
Řecko	1 592	[30]
Turecko	281–579	[25]
Polsko	464	[34]
celkové anthokyany [ $\text{mg kyanidinu-3-glykosidu}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]		
Řecko	223	[30]
Turecko	148–228	[32]
Turecko	112–292	[25]
Polsko	160	[34]

Charakterizace jednotlivých odrůd dřínu obecného je v současné odborné literatuře velmi rozšířená. Hledání vhodných odrůd z hlediska fyzikálních a chemických parametrů se v Evropě věnují především v Turecku [25, 28, 32, 35–44], Srbsku [31, 45–47], Řecku [30, 48], Chorvatsku [49], Rumunsku [27], ale i v Polsku [50], v České republice [33] a na Slovensku [29, 51].

Taktéž je často posuzována antioxidační kapacita ovoce pomocí různých metod: DPPH [33, 36, 49, 52, 53], FRAP [25, 30, 32, 48, 49, 53], TEAC [33, 49, 54], ORAC [49].

### **2.1.2.2 Využití dřínu obecného ve farmacii a tradiční medicíně**

Použití dřínu v léčitelství není příliš hojně. Zkoumáním zdravotních účinků tohoto ovoce se zabývá jen několik studií prováděných především na laboratorních zvířatech: anthokyany a ursolová kyselina izolované z plodů dřínu zlepšují určité metabolické parametry u krys krmených stravou s vysokým obsahem nasycených tuků [55], plody mohou zlepšit poškození slinivky způsobené volnými radikály u potkanů trpících diabetem [56]. Pokusy na králících byl též zjištěn pozitivní účinek plodů dřínu na pacienty s vysokou hladinou LDL-cholesterolu v krvi [57].

### **2.1.2.3 Využití plodů dřínu obecného v potravinářství**

Díky své zajímavé a příjemné chuti lze dřínky využít v potravinářství samotné nebo ve směsi. Nejčastěji se z nich připravují šťávy, sirupy, zavařeniny či džemy [3]. Např. v Polsku [58] se pokouší optimalizovat složení dýňového pyré s japonskou kdoulí, dřínky, jahodami a jablkami. V Turecku [59, 60] připravují tradiční pekmez z moruše a dřínek či zpracované dřínky používají pro ochucení jogurtů. Plody dřínu lze sušit např. do různých čajových směsí [61, 62] a vyrábí se z nich též i alkoholické nápoje [63].

Byly provedeny experimenty pro optimalizaci receptury pro výrobu pyré z dřínek s aroniemi, jahodami a malinami. Samotné pyré z plodů je poměrně kyslé, má vysokou viskozitu a vysoký obsah pektinu. Z hlediska obsahu zdravotně významných látek s antioxidačními účinky dle experimentu vyšlo nejlépe spojení dřínkového pyré s aroniemi, kdy se s 20% přídavkem aronií zvýšil obsah anthokyanů 2,5krát, polyfenolů 2krát a antioxidační aktivity (DPPH) 1,8krát. Díky nízkému obsahu vitaminu C v aroniích však obsah tohoto vitaminu ve výrobku poklesl [63].

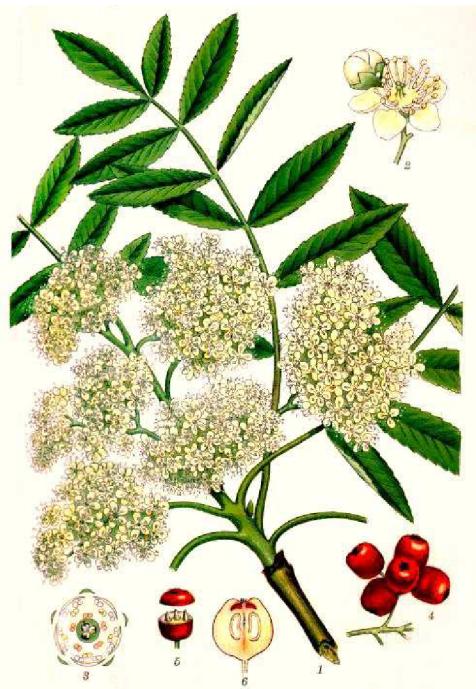
## **2.1.3 Jeřáb ptačí**

Jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia* L.) náležící do čeledi růžovité (*Rosaceae*) je významná dřevina vyskytující se roztroušeně po celé severní polokouli. Dorůstá výšky 15–20 m. Má lichospřepené listy a bílé květy rostou v chocholičnatých latách. Je mrazuvzdorný. Od srpna do října dozrávají oranžové až červené malvice – jeřabiny, s průměrem 6–9 mm [3, 64].

Počátkem 19. století byla u obce Ostružná nalezena odrůda s nasládlou chutí, která se rozšířila do celé Evropy jako jeřáb moravský sladkoplodý *Sorbus aucuparia* L. var. *moravica* f. *dulcis*, někdy v literatuře jako *S. aucuparia* Edulis. Šlechtění odrůd jeřábu s dalšími druhy ovoce na začátku 20. století v tehdejším Sovětském svazu zahájil V. Mičurin. Křížil jeřáb s hlohem, mišpulí či hrušní a vznikly tak odrůdy 'Burka' (*Sorbus aucuparia* × *Sorbus alpina* – jeřáboplodec horský), 'Titan' (vyšlechtěn z odrůdy 'Burka'), 'Likernaja' ('Likérová') (*Sorbus aucuparia* × *Aronia melanocarpa* Neynhold), 'Granatnaja' (*Sorbus aucuparia* × *Crataegus sanguinea* Pall. – hloh sibiřský), 'Desertnaja', 'Krasavica' (jeřáb opylovaný pylom z hrušně), 'Rubínovaja' ('Rubínová') [3, 65]. Vyšlechtil i formu jeřábu se sladšími plody – odrůda 'Nevěžinský'. Další odrůdy jsou např. 'Kubovaja' (z této odrůdy byla vyšlechtěna později odrůda 'Businka'), 'Krasnaja', 'Želtaja' (oranžově žluté plody), 'Sacharnaja' (vysoký obsah cukru), 'Krupnoplodnaja' (velké plody). Taktéž v Rusku byla vypěstována odrůda 'Alaja Krupnaja' křížením *Sorbus aucuparia* s rodem *Pyrus* (hrušeň) [3, 65–68].

Ve šlechtitelské stanici v Pillnitz u Drážďan byly z odrůdy 'Nevěžinský' vyšlechtěny odrůdy 'Rosina' a 'Koncentra' s vysokým obsahem vitaminu C. Ze Slovenska pochází odrůda

'Granatina' vzniklá křížením *Sorbus aucuparia* × *Crataegus sanguinea* × *Crataegus laevigata* [69]. V České republice se šlechtěním moravského sladkoplodého jeřábu zabývala Šlechtitelská stanice ovocnářská ve Velkých Losinách – odrůda 'Sorbinka' (ze *Sorbus aucuparia dulcis*) [3].



Obr. 4: Jeřáb ptačí (*Sorbus aucuparia*) [70]

#### 2.1.3.1 Zdravotně významné látky v plodech jeřábu ptačího

Jeřabiny obsahují především fenolické látky jako jsou flavonoly a hydroxyskořicové kyseliny. Celkový obsah fenolických látek se v jednotlivých odrůdách pohyboval v rozmezí 550–1014 mg·100 g<sup>-1</sup> čerstvých plodů. Z uvedeného množství plody obsahovaly 16–36 mg·100 g<sup>-1</sup> flavonolů, mezi kterými byly identifikovány čtyři glykosidy kvercetinu (nejvíce kvercetin-3-galaktosid a kvercetin-3-glukosid; tyto kvercetin-3-hexosa-hexosidy přispívají 78 % k celkovému obsahu flavonolů) a dva glykosidy kaempferolu [66, 71]. V Polských odrůdách byl navíc identifikován i myricetin a luteolin [72]. Jeřabiny obsahují především významná množství hydroxyskořicových kyselin jako jsou kyselina chlorogenová (v plodech 29,1–160,4 mg·100 g<sup>-1</sup>, v džusu 544 mg·l<sup>-1</sup>) a neochlorogenová (v plodech 34,2–103,9 mg·100 g<sup>-1</sup>, v džusu 273 mg·l<sup>-1</sup>). Množství těchto kyselin dosahuje podobných hodnot jako v kávě [66, 71].

Obsah anthokyanů v jeřabinách není vysoký (80 mg·100 g<sup>-1</sup> čerstvých plodů odrůdy Burka). Byly identifikovány následující anthokyany: kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-glukosid a kyanidin-3-arabinosid. Stejné kyanidinové glykosidy byly nalezeny i v druzích ovoce, které byly použity pro křížení a vyšlechtění analyzovaných odrůd – jablko, hruška, aronie či hloh [66].

Výše uvedené látky jsou známy především pro své antioxidační účinky, které byly studovány různými metodami: např. DPPH [66], FRAP [66], ORAC [73], TRAP [73]. Nalezená antioxidační kapacita dle metod ORAC a TRAP byla přibližně stejná nebo mírně nižší než u černého rybízu [73].

### **2.1.3.2 Využití plodů jeřábu ptačího ve farmacii a tradiční medicíně**

V lidovém léčitelství se plody jeřábu používaly jako projímadlo, při léčení a prevenci onemocnění dýchacích orgánů [3].

### **2.1.3.3 Využití plodů jeřábu ptačího v potravinářství**

Z jeřabin lze připravit šťáva, nápoje, sirup, ocet, džemy, želé, zavařeniny i cukrovinky a pálenku, ovšem použití těchto plodů není moc rozšířené kvůli hořké chuti některých odrůd. Proto se stále více rozšiřuje šlechtění nových, sladkých odrůd [66]. Z plodů se získával (i průmyslově) sorbitol jako sladidlo diabetiků. Sorbitol je také základní látkou pro průmyslovou výrobu kyseliny askorbové [3].

## **2.1.4 Aronie černá**

Aronie černá je starší a častěji používaný název pro temnoplodec černoplodý (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot), náležící do čeledi růžovitých (*Rosaceae*). Pochází ze Severní Ameriky a podobně jako velmi příbuzný jeřáb ptačí roste po celé severní polokouli, avšak má menší a kompaktnější růst. Snáší nízké teploty, potřebuje dostatek světla a humózní půdy [3].

Bílé květy aronie v chocholících se na větvích objevují v květnu a tmavě červené malvice dozrávají koncem srpna až začátkem září. Dřevina má vysokou a pravidelnou sklizeň a spolehlivě plodí i více než 20 let. Šlechtěním se České Republiky zabývala Šlechtitelská stanice ovocnářská ve Velkých Losinách, odkud pochází odrůda 'Nero'. Odrůda 'Viking' je finského původu [3, 67].



Obr. 5: Aronie černá (*Aronia melanocarpa*)

#### **2.1.4.1 Zdravotně významné látky v plodech aronie černé**

Plody aronie mají poměrně málo organických kyselin v porovnání s ostatním drobným bobulovitým ovocem. Hlavními kyselinami jsou kyseliny jablečná a citronová, které zaujímají asi  $10\text{--}15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  plodů. Obsah redukujících cukrů se pohybuje mezi  $130\text{--}180 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  v závislosti na odrůdě. Nejzastoupenější jsou glukosa a fruktosa. Také byl enzymaticky stanoven sorbitol ve šťávě v množství  $80 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  [74].

Plody obsahují ve 100 g plodů jen asi 0,14 g tuků. Hlavním zdrojem lipidů jsou semena, která obsahují glycerinový olej s linolovou kyselinou v množství  $19,3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 2,8 g fosfolipidů a  $1,2 \text{ g sterolů}\cdot\text{kg}^{-1}$  semen [74].

Plody aronie obsahují vitaminy B1, B2, B6 a C, kyselinu panthenovou a niacin. Taktéž obsahují  $\beta$ -karoten ( $1,67 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů) a  $\beta$ -kryptoxanthin ( $12,2 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů). Množství vitaminu C se pohybuje v rozmezí  $13\text{--}27 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů [74].

V plodech lze nalézt i amygdalin v množství 20,1 mg ve 100 g plodů, který je zodpovědný za hořkomandlové aroma plodů [74].

Významnou skupinou látek vyskytujících se v plodech aronie jsou anthokyany. Analýzou methanolových extraktů pomocí HPLC-ESI-MS-MS bylo identifikováno osm anthokyanů, z nichž majoritní byly kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-arabinosid a kyanidin-3-xylosid. Anthokyany reprezentují asi 25 % z celkových fenolických látek. V čerstvé šťávě byly stanoveny v množství  $88\text{--}197 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  [74, 75] či  $34,1\text{--}116,3 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  [71].

Celkové množství polyfenolů měřených Folin-Ciocaltaovou metodou a vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové se pohybovalo mezi  $2\,010\text{--}6\,902 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů a  $3\,760\text{--}4\,210 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  sušiny. Nejzastoupenější skupinou polyfenolických látek v plodech aronie jsou proanthokyanidiny typu B – oligomerní a polymerní jednotky převážně ( $-$ )-epikatechinu, jejichž množství v plodech bylo kvantifikováno na  $663,7 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů a  $3\,992\text{--}5\,182 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  sušiny, což je více než v jiném ovoci. Proanthokyanidiny způsobují charakteristickou svírávou chuť plodů [74, 75].

Plody aronie obsahují také dva zástupce hydroxyskořicových kyselin, kyselinu chlorogenovou a neochlorogenovou, jejichž obsah  $96 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  sušiny tvoří 7,5 % z celkového množství polyfenolů v plodech a stejně jako v případě proanthokyanidinů jejich obsah převyšuje množství těchto fenolických kyselin v ostatním bobulovitém ovoci. Ve šťávě bylo kvantifikováno jejich celkové množství v rozmezí  $49,0\text{--}141,2 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  [76]. Flavanoly (mezi hlavní patří kvercetin-3-galaktosid, kvercetin-3-glukosid a kvercetin-3-rutinosid) se vyskytují v plodech aronií v menším množství než ostatní fenolické sloučeniny (asi 1,3 % z celkových fenolických látek). V čerstvých plodech bylo detekováno  $71 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  a ve šťávě  $20,4\text{--}65,6 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  kvercetinových 3-glykosidů [74, 77].

Plody aronie obsahují poměrně málo pektinu, avšak mohou sloužit jako zdroj jiné vlákniny – mikrokristalické celulosy, ligninů a kondenzovaných tanninů [74].

Látky obsažené v plodech aronií vykazují nejvyšší antioxidační účinky z bobulovitého ovoce, často jde však jen o *in vitro* stanovení (*in vivo* studií je zatím jen několik). Antioxidační kapacita plodů je zkoumána nejčastěji metodami: DPPH [78–81], TEAC [76, 82], ORAC [73, 75], TRAP [73].

#### **2.1.4.2 Využití plodů aronie černé ve farmacii a tradiční medicíně**

V dostupné literatuře nejsou žádná data o nežádoucích nebo toxických účincích plodů [74]. Plody aronie mají ochranné účinky na jaterní či endoteliální buňky, mají také protisrážlivé a vasoprotektivní vlastnosti [74]. Experimenty se srážením krve odhalily vhodnost vodného extraktu při prevenci patologických stavů trombózy [77]. Šťáva zamezuje zvyšování celkového LDL cholesterolu a lipidů v plasmě. U jedinců s mírně zvýšenou hladinou LDL-cholesterolu pravidelné pití čtvrt litru šťávy denně po šest týdnů vyústilo ve značný úbytek celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a triglyceridů v plasmě. Také se snížila hladina glukosy, homocysteingu a fibrinogenu a snížily se mírně i obě složky tlaku. Studie ukazují i roli v prevenci a kontrole diabetes mellitus II a s diabetem spojenými komplikacemi [74].

#### **2.1.4.3 Využití plodů aronie černé v potravinářství**

Plody aronie lze využít pro výrobu šťáv džemů či vína [83]. Velkopěstění aronií začalo v tehdejším Sovětském svazu v čtyřicátých letech 20. století a v roce 1984 dosáhlo 17 800 hektarů. Ovoce se pěstovalo hlavně pro produkci šťáv a vína, často ve směsi s jablkovou šťávou. Výhodou je možnost mechanické sklizně a velká odolnost rostlin proti mrazům [67].

Aronie lze použít i pro výrobu nektarů a pyré. Nejnáhylnějšími látkami k degradaci během technologického postupu a skladování produktů jsou v tomto ovoci anthokyany a kyselina askorbová. Vyšší pokles kyseliny askorbové byl zaznamenán v nektarech při zpracování (4krát nižší obsah proti původnímu stavu) a v pyré při skladování (4krát). Pokles obsahu anthokyanů byl větší v nektarech při zpracování (6krát) a v pyré při skladování (4krát) [84].

### **2.1.5 Bez černý**

Bez černý (*Sambucus nigra* L.) náleží do čeledi zimolezovitých (*Caprifoliaceae*) a je rozšířen v celé Evropě, velké části Asie, severní Afriky a USA. Jde o rychlerostoucí keř, který se vyskytuje především na mezích, strání, rumištích a podobných stanovištích. Daří se mu i na podřadných půdách. Květem jsou široké a ploché vrcholíky smetanově bílých květů s intenzivní vůní, které vykvétají od května do června. Od srpna do října uznávají černé až černofialové trojsemenné peckovičky – bezinky [85, 86].



Obr. 3: Bez černý (*Sambucus nigra*) [87]

V Evropě se pěstuje druh *Sambucus nigra*, v USA *Sambucus canadensis*, který se odlišuje např. jiným složením anthokyanů, které jsou v případě amerického druhu většinou acylované. V roce 1983 byla vyšlechtěna odrůda 'Sambo' ve Výzkumném ústavu ovocných a okrasných rostlin v Bojnicích. Odtud pochází i odrůdy 'Dana' a 'Bohatka' vyšlechtěné později. Velmi často se ve střední Evropě vysazují i rakouské odrůdy 'Donau' a především 'Haschberg'. Pěstování a šlechtění bezu černého se věnují také v Dánsku (odrůdy 'Allesø', 'Korsør', 'Sambu', 'Sampo') [3, 86].

#### **2.1.5.1 Zdravotně významné látky v plodech bezu černého a jejich využití v alternativní medicíně**

Obsah uvedených látek v plodech bezu je podmíněn především geneticky. Závisí však též na klimatu, stanovišti či době sběru. Zvýšení jejich obsahu v plodech lze ovlivnit také šlechtěním a výběrem genotypu s nejlepšími vlastnostmi [85, 88, 89].

Průměrné hodnoty sušiny v dánských odrůdách se pohybovaly v rozmezí 18,2–25,5 %, obsah rozpustné sušiny dosahoval 8,6–15,8 %. Titrační kyselost se pohybovala v rozmezí 6–17 g·kg<sup>-1</sup> čerstvých plodů [88]. Z organických kyselin, které se vyskytují v čerstvých plodech v množství nad 0,5 g·kg<sup>-1</sup>, mají největší zastoupení kyseliny citronová a jablečná. Majoritními složkami cukrů v plodech jsou fruktosa a glukosa. Celkový obsah cukrů byl stanoven v průměru na 8,8 g·100 g<sup>-1</sup> čerstvých plodů [85]. Plody obsahují taktéž asi 7 % vlákniny [90], která se skládá především z pektinu, polygalakturonové kyseliny, protopektinu (hemicelulózy a pektinátu vápenatého) [91].

Plody bezu černého obsahují také vitamin C, kyselinu listovou, biotin, nikotinamid, β-karoten, vitaminy B2 a B6 a taktéž kyselinu panthotenovou [89]. Množství vitaminu C se

pohybuje v rozmezí  $6\text{--}35 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy, v závislosti na odrůdě a způsobem výroby šťávy [92].

Mezi další zdravotně významné sloučeniny přítomné v bezinkách lze zařadit flavonoidy a anthokyany [89].

HPLC analýza odhalila přítomnost pěti anthokyanů. Nejvíce zastoupené jsou kyanidin-3-glukosid a kyanidin-3-sambubiosid [85]. Další, minoritní anthokyany charakteristické pro tento druh ovoce jsou kyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid a kyanidin-3,5-diglukosid [88]. Průměrné hodnoty celkových anthokyanů byly kvantifikovány na  $863,8 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů [85] a  $738\text{--}2\,820 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy [88].

*Tabulka 4: Identifikované anthokyany v extraktech z plodů bezu černého dle různých zdrojů [75, 85, 89]*

anthokyan	[85]	[89]	[75]
kyanidin-3-glukosid	x	x	x
kyanidin-3,5-diglukosid	x	x	x
kyanidin-3-sambubiosid	x	x	x
kyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid	x	x	x
kyanidin-3-ramnoglukosid		x	
kyanidin-3-xyloglukosid		x	
kyanidin-3-rutinosid	x		x
pelargonidin-3-glukosid			x
pelargonidin-3-sambubiosid			x

Ze skupiny kvercetinů byly detekovány následující flavonoly: kvercetin, kvercetin-3-rutinosid (rutin), kvercetin-3-glukosid [85] a kvercetin-3-galaktosid [89]. Nejhojnějším z kvercetinů je rutin s obsahem  $35,6\text{--}52,0 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  čerstvých plodů. Celkový obsah kvercetinů byl stanoven v rozmezí  $52\text{--}73 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  [85]. Taktéž byla detekována neochlorogenová a chlorogenová kyselina v celkovém množství  $2,0\text{--}57,2 \text{ mg}\cdot100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy [88].

Plody bezu černého obsahují oligomery proanthokyanidinů jen v malém množství. V methanolových extraktech byl stanoven pomocí HPLC-ESI-MS-MS jejich obsah na  $23,3 \text{ mg}\cdot100 \text{ g}^{-1}$  [75].

U plodů bezu a aronie bylo nalezeno vyšší množství celkových polyfenolů, celkových anthokyanů a antioxidační kapacity (ORAC) než u plodů černého a červeného rybízu či angreštu [75].

Čerstvé plody obsahují ovšem také toxické látky: lektiny a kyanogenní glykosid sambunigrin (asi  $18 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  v divokých odrůdách bezu [93]), který se v trávicím traktu hydrolyzuje na kyanid. Toxické účinky sambunigrinu lze snížit záhřevem, např. při pasteraci šťávy [93, 94]. Antioxidační účinky plodů a extraktů byly testovány nejrůznějšími metodami: např. DPPH [80, 95], TEAC [95], FRAP [92], ORAC [75].

### 2.1.5.2 Využití bezu černého ve farmacii a tradiční medicíně

Lektiny z plodů, kůry a listů mohou být jedovaté a alergenní, avšak na druhou stranu jsou zodpovědné za některé antivirotické účinky extraktů a šťáv. Obecně, extrakty z plodů bezu černého mají především antivirotické, protizánětlivé a antioxidační účinky [94].

Byly identifikovány flavonoidy v plodech bezu, které mají nejvyšší podíl na antivirotickém účinku extraktu – *in vitro* bylo dokázáno, že se vážou přímo na viry H1N1 a zabraňují tak

jejich vstupu do hostitelských buněk [96]. Extrakty z plodů jsou také schopny *in vitro* chránit buňky tlustého střeva proti účinkům oxidativního stresu [97]. Bylo prokázáno, že výrobek Sambucol® (vodný extrakt plodů bezu) má podpůrné účinky při léčbě chřipky. Před optimalizací doporučené dávky pro prevenci či podpůrnou léčbu těchto onemocnění by měly být tyto slibné efekty preparátů z plodů bezu podloženy pečlivějšími studiemi [89].

Několika studiemi byla i prověřena dobrá a rychlá vstřebatelnost anthokyanů z výrobků z plodů bezu černého. Močí bylo vyloučeno méně než 0,5 % podávaného množství anthokyanů ve výrobku [94].

Sušené květy i plody bezu se v lidovém léčitelství používají pro svůj potopudný a močopudný účinek při léčbě nachlazení [3, 94].

Účinky výrobků z bezu na lidské zdraví však nebyly dosud zkoumány a prokázány v dostatečné míře, aby bylo schváleno jakékoli zdravotní tvrzení týkající se těchto plodů [98].

#### **2.1.5.3 Využití plodů bezu černého v potravinářství**

Plody bezu černého jsou vhodné pro přípravu šťávy, nápojů, sirupu (i květy), zavařenin, džemů či cukrovinek. Plody i květy jsou po usušení vhodné pro přípravu čajových směsí [1]. Jako doplněk stravy lze na zahraničním i českém trhu nalézt nejrůznější sirupy a tablety s extraktem z bezu černého. Koncentrát z bezinek se používá na barvení potravin místo syntetických potravinářských červení.

Plody bezu černého se komerčně zpracovávají nejen v Evropě (např. v Dánsku, Itálii, Maďarsku či Rakousku), ale i v Chile nebo v USA [86].

Během zpracování ovoce je důležité co nejvíce omezit přístup kyslíku či zahřívání meziproduktu. Je doporučováno skladovat suroviny, meziprodukty i produkty při nižších teplotách, aby se zamezilo degradaci fenolických látek a snížení antioxidační kapacity [89].

Bylo prokázáno, že pektinolýza nemá významný efekt na zvýšení výtěžku šťávy při lisování ovoce. Průměrná výtěžnost z čerstvě zmražených plodů byla s užitím pektinolýzy 74 %. Výtěžnost bez pektinolýzy byla 77 %. Tato vyšší hodnota v druhém případě může však být ovlivněna narušením buněčných struktur při mražení a tedy zvýšením výtěžnosti [88].

Během zpracování šťávy se extrahuje 70–80 % anthokyanů, zbytek zůstane ve výliscích. Optimalizace teploty a koncentrace pektolytických enzymů zvýší výtěžek anthokyanů až o 25 %. Pektinolýza však může zlepšit přístupnost anthokyanů během zpracování šťávy, což může vést k jejich degradaci. Taktéž má na obsah flavonoidů vliv teplota nejen během pasterace a skladování, ale i v průběhu enzymatických pochodů. Ze soudobých výzkumů vyplývá, že obsah fenolických kyselin, flavonoidů a anthokyanů v bezových šťávách bez použití enzymů je porovnatelný nebo dokonce vyšší než obsah nalezený ve šťávách, které jsou zpracovány pektolyticky. Aplikace enzymů není nezbytně nutná pro zvýšení obsahu hodnotných antioxidantů ve šťávě z plodů bezu [88].

Bыло také dokázáno, že probublávání bezové šťávy dusíkem s přídavkem kyseliny askorbové redukuje oxidativní degradaci dvou hlavních anthokyanů a kvercetinu [99].

## 2.2 VYBRANÉ BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY V DOSUD MÉNĚ VYUŽÍVANÝCH DRUZÍCH DROBNÉHO OVOCE

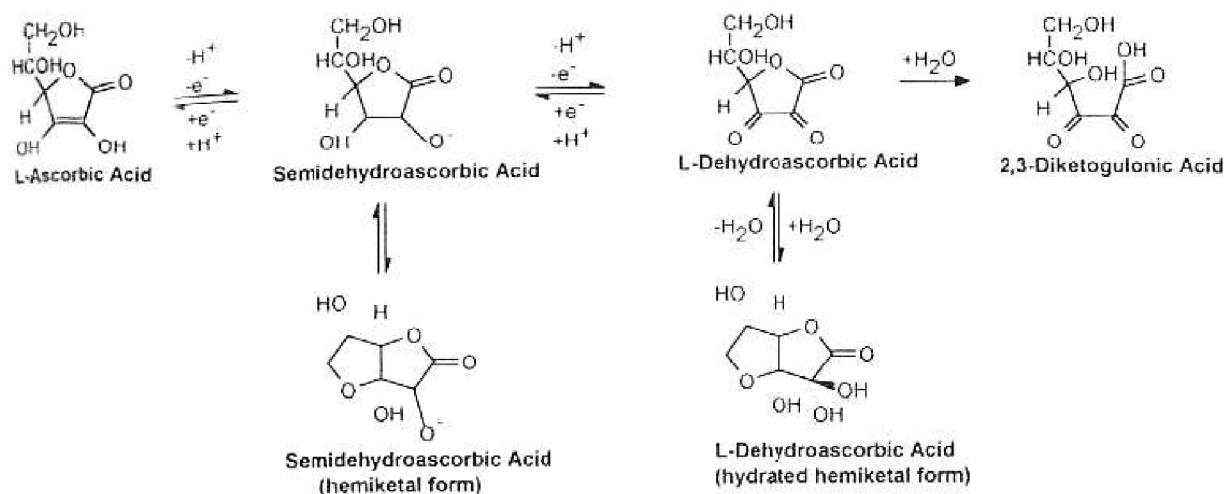
Ovoce je významným zdrojem mnoha biologicky aktivních látek, k nimž patří především vitamin C a skupina fenolických látek. Vitamin C, jakožto jeden z nejméně stabilních vitaminů, lze využít pro optimalizaci technologických operací s ohledem na zachování množství zdravotně významných látek. Společnou vlastností vitaminu C a fenolických látek jsou jejich antioxidační schopnosti [2, 100, 101].

### 2.2.1 Vitamin C

Vitamin C zahrnuje celý reverzibilní systém od kyseliny L-askorbové přes askorbylradikál až na kyselinu dehydroaskorbovou. Další stereoisomery, kyselina D-askorbová, L-isoaskorbová, D-isoaskorbová mají aktivitu vitaminu C velice slabou nebo vůbec žádnou [100, 102].

Kyselé vlastnosti má kyselina L-askorbová v důsledku snadné ionizace hydroxylových skupin na uhlíkách C<sub>3</sub> (pK<sub>1</sub> = 4,17) a C<sub>2</sub> (pK<sub>2</sub> = 11,79). Karbonylová endiolová skupina má silné redukční účinky [102].

Kyselina L-askorbová (dále AA) snadno a reverzibilně oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou (dále DHAA) za vzniku askorbátového radikálového aniontu (semidehydroaskorbát, monodehydroaskorbát, askorbylradikál) jako intermediátu. DHAA se snadno redukuje v lidském těle na AA. V chemickém slova smyslu DHAA není kyselina, jelikož jí chybí disociovatelné protony, které má AA na uhlíku C<sub>2</sub> a C<sub>3</sub>. DHAA se ve vodě vyskytuje jako hydratovaný hemiacetal, v krystalickém stavu jako dimer. DHAA rychle podléhá ireverzibilním reakcím rozpadnutímu kruhu za vytvoření kyseliny 2,3-diketogulonové, která již nemá aktivitu vitaminu [100, 102–104].



Obr. 6: Schéma jednoelektronové oxidace kyseliny L-askorbové [105]

### **2.2.1.1 Stabilita a reakce vitaminu C**

Vitamin C je velice nestabilní. Nejvýznamější reakcí AA je oxidace na DHAA, k níž dochází vlivem enzymů, kyslíku a různých oxidačních činidel. Vliv má i teplota, přítomnost antioxidantů či redukujících složek, přechodných kovů, mají vliv i efekty oxidace lipidů a další faktory. Oxidace AA může probíhat přenosem jednoho nebo dvou elektronů. Při jednoelektronovém přesunu vzniká v reverzibilním redoxním systému AA a DHAA intermediát kyseliny semidehydroaskorbové (někdy také kyselina monodehydroaskorbová). Při redukci volného radikálu L-askorbátem dochází ke klasické terminaci volných radikálů, askorbátový radikál reaguje s dalším askorbátovým radikálem za tvorby ekvimolární směsi AA a DHAA. Dvouelektronové přenosy se vyskytují při oxidaci AA katalyzované přechodnými kovy [100, 106].

#### **Enzymatická oxidace**

Enzym, který nejvíce ovlivňuje degradaci AA v rostlinném pletivu po sklizni je askorbátoxidasa, která katalyzuje oxidaci AA na DHAA. Primárním produktem je askorbylradičál. Reakce je vratná (redukce zpět na AA např. glutathionem či cysteinem). Maximální aktivitu má enzym při 40 °C a při 65 °C dochází k jeho inaktivaci. To znamená, že rychlé zahřátí jako blanšírování ovoce a zeleniny nebo pasterace ovocných šťáv zamezuje účinku enzymu během dalšího skladování [100, 102].

Za ztráty AA je také nepřímo odpovědný enzym fenolasa, který oxiduje *o*-difenoly na *o*-chinony. AA redukuje *o*-chinony zpět na původní *o*-difenoly a zabraňuje tak vzniku polymerních hnědých pigmentů [100, 104].

AA je v rostlinných pletivech chráněna před těmito a dalšími enzymy strukturou buňky. Enzymatická destrukce začíná až se sklizní [102].

#### **Chemická oxidace**

Asi k největším ztrátám dochází při oxidaci AA vzdušným kyslíkem (autooxidace). Může k ní docházet i za katalýzy přechodnými kovy. Oxidace AA se řídí kinetikou prvního řádu v pH rozsahu 3–7. Vyšší stability dosahuje v kyselejší oblasti. Při pH 1 je ionizace kyseliny askorbové potlačena a plná protonace molekuly je relativně pomalu atakována kyslíkem [100, 102].

Při katalytické oxidaci dojde k tvorbě ternárního komplexu tvořeného kovem, AA, kyslíkem a dvěma π-elektrony, které se posunou z AA na kyslík přes přechodný kov. Komplex poté disociuje za vzniku DHAA, peroxidu vodíku a iontu kovu [106].

AA může také redukovat ionty kovů, což celkově urychluje oxidační reakce a tím způsobuje nežádoucí změny senzorických vlastností potravin [100].

Antioxidační schopnosti AA mají původ v reakcích kyseliny s volnými radikály, s peroxylovými radikály mastných kyselin, s alkoxylovými radikály či s toxickými formami kyslíku (hydroxylový radikál, anion superoxidového radikálu, singletový kyslík) [100].

#### **Další reakce**

V silně kyselém prostředí dochází k dekarboxylaci a dehydrataci za vzniku oxidu uhličitého a furan-2-karbaldehydu. Tato reakce tak způsobuje změny obsahu vitaminu C i v kyselých potravinách. Rychlosť reakce je však nižší, než rychlosť autooxidace katalyzované kovovými ionty. AA je charakteristický redukton a vstupuje také do neenzymatických

Maillardových reakcí hnědnutí. Vitamin C tak výrazně snižuje hnědnutí potravinářských produktů [100, 106].

### Ztráty vitaminu C při technologickém zpracování

Ztráty při technologickém zpracování záleží na stupni zahřátí, schopnosti kyseliny se vyluhovat do vařícího média, na ploše povrchu vystaveného vodě či kyslíku, pH roztoku, přítomnost přechodných kovů a další faktory, které usnadňují oxidaci AA a její konverzi na biologicky neaktivní formy [106].

Chemickou oxidaci AA lze snížit během technologického zpracování např. vakuovou deaerací nebo použitím inertního plynu jako ochrany před vzdušným kyslíkem. Účinné také může být působení glukosoxidasy a katalasy, kvašením a přídavkem hydrogensiřičtanů. Vhodné je vyloučit přímý kontakt s kovovými materiály. Autooxidaci lze potom zpomalit např. EDTA, citráty, fosfáty, ale také bílkovinami, sacharidy, kyselými polysacharidy, flavonoidy a syntetickými antioxidanty (BHA, BHT, propylgallát). K nižším ztrátám také dochází při snížení aktivity vody a hodnoty pH [100, 102].

Za vhodný obalový materiál může být považováno sklo. Na rozdíl od něj jsou plastové lahve a krabice propustné pro kyslík, tudíž může ve výrobku dojít k poklesu množství vitaminu C [102].

Studií prováděnou na pomerančové šťávě bylo prokázáno, že ztráty kyseliny askorbové korelují s množstvím kyslíku rozpuštěného v nápoji a nacházejícího se nad jeho hladinou. Když je vyčerpán všechn kyslík na aerobní degradaci, nastane degradace vlivem tepla. Ztráty vitaminu C také korelují s nárustem hnědnutí šťávy [102].

K určitým ztrátám dochází i při ozařování ovoce. Při ošetření vysokým tlakem se při nízkých teplotách obsah vitaminu C zachovává. Vhodným způsobem pro skladování ovoce a zeleniny je i mražení [100, 102].

#### 2.2.1.2 Fyziologické účinky, výskyt a využití vitaminu C

Přibližně 80–90 % obsahu vitaminu C v potravinách se vyskytuje v redukované formě, kyselině askorbové. Zbylé množství náleží oxidované formě – kyselině dehydroaskorbové. Obě kyseliny jsou absorbovány separovanými transportními mechanismy. Celý systém střevního transportu a metabolismu je navržen k maximalizaci konzervace vitaminu C a také k udržování vitaminu v jeho redukované formě. Příjem L-askorbátu je kompetitivně inhibován kyselinou D-isoaskorbovou, která je potenciálním antivitaminem C [102].

#### Fyziologické účinky

Kyselina askorbová je nezbytná pro celou řadu především redoxních procesů v lidském těle. Různorodost účinku AA může stát i za jeho pozitivním působení při nachlazení a podobných onemocněních [104].

V tělech živočichů se AA účastní hydroxylačních reakcí: tvorbou kolagenu hydroxylací prolinu či hydroxylace dopaminu na noradrenalin. Kyselina askorbová redukuje železité ionty na železnaté, které jsou lépe vstřebatelné. AA také hraje roli v transportu železa v krvi a jeho mobilizaci z rezerv. AA je začleněna do antioxidačního komplexu s vitaminem E, β-karotenem a dalšími karotenoidy jako je lutein, lykopen, ale i s flavonoidy a selenem. Slouží jako vychytávač volných radikálů, včetně vychytávání singletového kyslíku. Chrání lipidy v plasmě a LDL proti peroxidaci zhášením peroxylových radikálů. V oku chrání svými

antioxidačními schopnostmi části oka před fotolyticky generovanými volnými radikály [104, 106, 107].

Avšak vitamin C může působit i jako silný prooxidant redukcí železitých iontů na železnaté, které jsou potenciálními katalyzátory a producenty volných radikálů. Je však pravděpodobné, že ve zdravém těle působí askorbát hlavně jako antioxidant [107].

Běžný denní příjem vitaminu C se pohybuje od 30 do 180 mg za den a účinnost absorpce v tomto rozmezí je 70–90 %. Čím se dávka zvyšuje, tím se snižuje i účinnost vstřebávání. Mezi biodostupností vitaminu C v potravinách a syntetického vitaminu C nebyl nalezen rozdíl. Ethanol může snižovat dostupnost AA z ovoce a účinky vitaminu C silně snižuje kouření [102, 107].

Nedostatek (hypovitaminosa) vitaminu C se projevuje únavou, poruchami spánku, ztrátou chuti k jídlu, náchylností k infekci a krvácení dásní. Avitaminosa způsobuje onemocnění zvané kurděje (scorbut). Vlivem nedostatku vitaminu sloužícího jako kofaktor enzymu pro hydroxylaci prolinu, dochází k selhávání pojivových tkání, špatnému hojení ran a vnitřnímu krvácení. Nedostatečná tvorba noradrenalinu potom může napomáhat nedostatečné funkci nervové soustavy spojené s tímto onemocněním [100, 104, 107].

## Výskyt

Vitamin C se vyskytuje především v potravinách rostlinného původu a 90–95 % vitaminu je ve formě kyseliny askorbové. Z živočišných zdrojů obsahují nejvíce vitaminu C játra. Nejvýznamnějším zdrojem vitaminu C je ovoce a zelenina. Obsah vitaminu C není ovlivněn jen druhem ovoce či zeleniny, ale záleží i na mnoha faktorech, např. stupni zralosti, stanoviště či způsobu při následném zpracování [100].

Tabulka 5: Obsah vitaminu C v běžných druzích ovoce a zeleniny [100]

potravina	množství [mg·100 g <sup>-1</sup> ]
jablka	2–5
hrušky	2–4
černý rybíz	110–300
šípky	250–1 000
kiwi	70–127
paprika	62–300
brambory	8–40

## Využití v potravinářství

Poměrně levná cena umožňuje AA hojně využívat v potravinářství k mnoha účelům, většinou založených na jejích oxidačně-redukčních vlastnostech jako antioxidant, inhibitor hnědnutí, které katalyzují fenolasy. V masných produktech se používá jako redukční činidlo pro snižování koncentrace nitritů přidaných pro růžovou barvu a v pekařství slouží ke zlepšení vlastností mouky. Dále se využívá pro úpravu chuti (stabilizátor, modifikátor a zvýrazňovač) či stabilizátor barvy [104, 106]. Jako stabilizátor ji lze přidat při zpracování nápojů či vín [102]. Při výrobě ovocných šťáv se používá při prevenci proti nežádoucím změnám aroma a jako inhibitor reakcí enzymového hnědnutí [100].

## 2.2.2 Stanovení vitaminu C

Většina metod pro stanovení vitaminu C je založena na principu redoxních reakcí systému kyseliny askorbové a dehydroaskorbové [104]. Z potravinových matric se vitamin C získává extrakcí, v připraveném extraktu lze redukovat DHAA zpět na AA a tím usnadnit detekci, která probíhá nejčastěji spektrofotometricky. Ke stanovení se používá titrační metoda, která je v poslední době nahrazována kapalinovou chromatografií [106].

### 2.2.2.1 Extrakce vitaminu C

Jelikož je AA velmi nestabilní ve vodných roztocích, je třeba se při extrakci vyvarovat zvýšené teploty, zvýšeného pH, přítomnosti kyslíku, kovových iontů a nevystavovat vzorek světlu [108].

Extrakční roztok by měl být schopný udržet kyselé prostředí, chelatovat kovy, inaktivovat askorbátoxidasu a srážet škrob a proteiny. Výběr extrakčního činidla záleží na typu matrice a postupu vlastního stanovení. Extrakční činidlo by mělo být k vzorku přidáno už před homogenizací a všechny extrakční postupy by měly být vykonávány rychle za omezeného přístupu světla. Homogenizace by měla být vykonávána bez záhřevu a kdykoliv je to možné, měl by být vzorek během extrakčních i skladovacích procedur překryt dusíkem. Lyofilizace není příliš doporučována pro koncentraci a zachování vzorku, jelikož stabilita AA v porézní matrici klesá [106].

Pro extrakci se používají nejčastěji kyselina metafosforečná (monohydrogenfosforečná), směsi kyselin metafosforečné s ledovou kyselinou octovou, kyselina trichloroctová, kyselina citronová, směsi kyselin citronové a ledové octové. Také se AA extrahuje pomocí kyseliny sírové, fosforečné či šťavelové [106].

Nejčastěji bývá používána kyselina metafosforečná. Někdy ve směsi s jinými kyselinami. Je však třeba uvážit, že kyselina metafosforečná není kompatibilní s některými HPLC systémy [106].

Kyselina metafosforečná je směsí různých kyselin fosforečných od orthofosforečné po kyseliny fosforečné s dlouhým řetězcem (P16), zahrnuje také cyklické formy (trimetafosforečná). Bylo prokázáno, že kyselina metafosforečná je účinnou při prevenci oxidace kyseliny askorbové v přítomnosti měďnatých a železitých iontů [109].

V porovnání s kyselinou *o*-fosforečnou, chlorovodíkovou a sírovou je schopna lépe chránit kyselinu askorbovou před oxidací při vyšších hodnotách pH (až pH = 3) [110]. Inhibuje askorbátoxidasu a sráží proteiny a škroby, což usnadňuje vyčištění vzorku. Přídavek ethanolu či acetonu k metafosforečné kyselině pak sráží rozpustný škrob. Tento krok je nezbytný pro analýzu zejména škrobnaté zeleniny (brambory, kukuřice a luštěniny) pomocí spektrometrických metod. Aceton je vhodný pro odstranění siřičitanů a oxidu siřičitého z dehydratovaného ovoce a ovocných šťáv. Tato redukční činidla interferují s 2,6 dichlorindofenolovou titrací založenou na redukci oxidovaného barviva. Často se používá i s přídavkem kyseliny octové nebo sírové či s EDTA, která se přidává pro své chelatační schopnosti. Je účinná pro chelataci mědi v kyselině metafosforečné a trichlorooctové, avšak pro chelataci kyseliny šťavelové není vhodná [106].

Tabulka 6: Použitá extrakční činidla pro různé matrice z různých zdrojů (MPA – metaphosphoric acid, kyselina metafosforečná)

matrice	činidlo	zdroj, rok
rakytník, šťáva	DTT	[10], 2002
rakytník, plody	2% MPA	[12], 2004
rakytník, šťáva	DTT	[111], 2006
rakytník, šťáva i plody	2 % MPA	[19], 2008
černý rybíz, plody	5 % MPA	[112], 2006
tropické ovoce, plody	3% MPA v 8% kyselině octové 0,1% kyselina šťavelová	[113], 2006
šípky, plody	5% MPA	[114], 2008
ovoce, plody	4,5% MPA, DTT	[115], 2007

### 2.2.2.2 Redukce DHAA na AA

Většina metod funguje na principu oxidace, tudíž dokáže stanovit jen kyselinu askorbovou. Aktivitu vitaminu C má však i DHAA a pro stanovení celkového množství vitaminu C je třeba kvantifikovat obě složky. Simultánní stanovení obou kyselin není jednoduché. Pro stanovení celkového vitaminu C se používá redukce přítomné DHAA na AA, protože stanovení AA je jednodušší. Pro redukci se nejčastěji používají redukční činidla obsahující thioskupiny: dithiothreitol, dimerkaptopropanol, cystein, homocystein, glutathion a další. Lze také použít sloučeniny obsahující fosfor (TCEP – tris-2-karboxyethylfosfin), nebo využití enzymatických metod [106, 116].

Nejčastěji se pro redukci používá DTT (dithiothreitol), který je však účinný v neutrálních a slabě alkalických podmínkách, což není prostředí vhodné pro stabilitu kyseliny askorbové [117]. Pro redukci v kyselých podmínkách je efektivnější použít TCEP. Bylo zjištěno, že DTT je prakticky inaktivní při pH 3. Rychlosť redukce pomocí TCEP je při pH 3 vyšší než redukce pomocí DTT při pH 5. Nevýhodou TCEP je jeho toxicita a vyšší cena [116].

### 2.2.2.3 Spektroskopické metody pro stanovení vitaminu C

Absorpční schopnosti AA i DHAA jsou závislé na stupni ionizace, tzn. na pH média. Nad pH 5,0 má kyselina askorbová absorpční maximum při 265 nm, nedisociovaná při nízkých pH potom absorbuje při 245 nm. DHAA má menší absorpční maximum při pH 3,1 na 223 nm [106].

Nejčastěji používanou metodou pro stanovení obsahu kyseliny askorbové ve vzorku je titrace pomocí 2,6-dichlorfenolindofenolu. Metoda je účinná jen pro AA, nerozlišuje mezi AA a isoAA, která však aktivitu vitaminu C nemá. Kvůli barevnému přechodu u konce titrace je určení bodu ekvalence těžší. Vliv barevné matrice lze eliminovat modifikací metody – spektrofotometrickým stanovením po extrakci titrovacího činidla xylenem [118]. 2,6 dichlorfenolindofenol reaguje i s dalšími redukčními sloučeninami přítomnými ve vzorku, např. měďnaté, železnaté a cínnaté ionty, siřčitany, thiosírany, třísloviny, betanin, cystin, glutathion, reduktony a další [106].

Kyselinu dehydroaskorbovou lze stanovit až po derivatizaci. Jedna z nejpoužívanějších sloučenin pro derivatizaci DHAA je *o*-fenylendiamin [106].

#### 2.2.2.4 Stanovení vitaminu C pomocí HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je v současné době nejčastěji používaná metoda pro stanovení vitaminu C v různých matricích.

#### Systémy

Nejčastěji se pro stanovení vitaminu C používá kapalinová chromatografie s reverzní fází, avšak velmi malé polární molekuly je těžké v tomto systému zadržet. Používá se často mobilní fáze s vysokým obsahem vody a pufrů v kombinaci s nízkým pH, což snižuje stabilitu klasických náplní s reverzní fází. Vhodnější je tedy použít hybridní či modifikované („endcappované“) stacionární fáze, které jsou odolnější vůči nízkým hodnotám pH. Iontopárová chromatografie používá většinou komplexní mobilní fáze složitější na přípravu a má slabší reprodukovatelnost a selektivitu. Pro stacionární fázi se využívá často sulfonovaných sferických polystyren-divinylbenzenových pryskyřic v různé iontové formě [106, 108].

HILIC (hydrophilic interaction liquid chromatography) je alternativou k reverzní a normální fázi. Mobilní fází bývá 5–40 % vody v acetonitrilu, méně se používá methanol. Principem HILIC je rozdělování analytu mezi vodou obohacenou vrstvu mobilní fáze na hydrofilní stacionární fázi a relativně hydrofobní zbytek mobilní fáze. Je vhodná na separaci velmi polárních látek a lze s ní separovat kyselinu askorbovou od kyseliny dehydroaskorbové. Simultánní stanovení AA a DHAA zahrnuje několik problémů daných metodou, retencí obou kyselin, výběrem vhodné detekce, interního standardu a v poslední řadě stabilitou obou látek v roztoku [108].

#### Detekce

Nejčastější způsob detekce je fotometrická (UV). UV detekce se pohybuje v rozmezí vlnových délek 245–265 nm, nejčastěji bývá používána vlnová délka 254 nm. Je vhodná pro vysoce koncentrované vzorky, či ovocné šťávy. DHAA bývá ve vzorku často v menší koncentraci a díky její špatné absorbanci (široké maximum, které je blízko absorbance mobilních fází) je odezva nižší. Stanovení obou složek vitaminu C je vhodné s využitím redukce DHAA na AA (viz kapitola 2.2.2.2) [106, 108].

Fluorescenční detekce je vhodná pro stanovení kyseliny dehydroaskorbové, která se postkolonově derivatizuje pomocí *o*-fenylendiaminu [108].

Detekce vitaminu C pomocí hmotnostní spektrometrie je většinou spojena se stanovením směsi vitaminů či jiných látek použitím elektrosprejové ionizace s detekcí v negativním módu. Kyselina askorbová se monitoruje v negativním módu jako  $[M-H]^- = 175$ , avšak stanovení DHAA je obtížnější. Tvoří v roztoku hydratovaný hemiketal a je více náchylná k hydrolýze [108]. Pro detekci obou složek vitaminu C (AA i DHAA) byla využita i HPLC metoda s použitím CAD (Corona Charged Aerosol Detector) detektoru [119].

Pro stanovení vitaminu C lze použít elektrochemickou detekci (coulometrická a amperometrická), pomocí níž nelze stanovit DHAA, která je elektrochemicky inaktivní [106]. Tento způsob detekce má však nejlepší citlivost a selektivitu, lze pomocí něj redukovat interference výběrem vhodného potenciálu na elektrodě, který je pro každou látku za daných podmínek specifický. Nevýhodou jsou dlouhé časy pro ustavení rovnováhy, nutnost použití velmi čistých chemikálií a zajištění konstatního tlaku a teploty [108].

Tabulka 7: Stanovení vitaminu C pomocí HPLC

matrice	kolona	mobilní fáze	detekce	zdroj
rakytník, šťáva	LiChrospher 100 RP18 (250 × 4 mm; 5 µm)	0,5% KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 0,1% DTT	UV 254 nm	[10], 2002
rakytník, šťáva	LiChrospher RP18 (250 × 4 mm; 5 µm)	0,5% KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + 0,1% DTT, 0,4 ml.min <sup>-1</sup>	UV 254 nm	[111], 2006
rakytník, šťáva i plody	LiChrospher 100 RP18 (250 × 4 mm; 5 µm)	0,1M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> : methanol 1:9, 0,7 ml.min <sup>-1</sup>	UV 265 nm	[19], 2008
černý rybíz, plody	monolitická Onyx (100 × 4,6 mm)	A: 30mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 2,8, B: acetonitril, 2,5 ml.min <sup>-1</sup>	UV 265 nm	[112], 2006
šípky, plody	Spherical RP C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm)	0,5% NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 2,25: acetonitril 93:7, 1,2 ml.min <sup>-1</sup>	UV 245 nm	[114], 2008
ovoce, plody	RP C18 Spherisorb ODS2 (250 × 4,6 mm; 5 µm)	0,01% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH 2,6, 1 ml.min <sup>-1</sup>	UV 245 nm	[115], 2007
ovoce, plody	NH <sub>2</sub> Spherisorb S5 (250 × 4,6 mm; 5 µm)	10 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 3,5: acetonitril, 60:40	UV 245 nm	[115], 2007
biologické matrice	Obelisk R (100 × 3,2 mm; 5 µm)	75 mM octan amonný pH 4,2 : acetonitril, 15:85, 1 ml.min <sup>-1</sup>	CAD, UV: 268 nm AA, 210 nm DHAA	[119], 2009

#### 2.2.2.5 Další metody pro stanovení vitaminu C

Enzymatické metody se používají především pro stanovení kyseliny askorbové v biologických vzorcích. Bývají spřaženy s přímou spektrofotometrií či derivatizací pomocí *o*-fenylenediaminu. Nejčastěji se používají enzymy askorbát oxidasa a askorbát peroxidasa [106].

Pro stanovení vitaminu C v barevných roztocích lze použít jednoduchou potenciometrickou metodu s kombinovanou Hg-Pt elektrodou [120].

Rozvíjí se také stanovení vitaminu C pomocí kapilární elektroforézy. Metoda je účinná, rychlá, univerzální, s nízkou spotřebou rozpouštědel a kolon. Detekce probíhá fotometricky v UV oblasti [106].

## 2.2.3 Fenolické látky

Fenolické sloučeniny tvoří rozsáhlou skupinu sekundárních metabolitů rostlin. Řadí se sem sloučeniny vzniklé přes šikimátovou a fenylpropanoidní metabolickou dráhu. Jsou lokalizovány v buněčných vakuolách a slouží jako obrana rostlin před patogeny a predátory. Dělí se na flavonoidy, fenolické kyseliny, trisloviny, stilbeny a lignany [121, 122].

### 2.2.3.1 Struktura a dělení fenolických látek

Nejpočetnější skupinou fenolických látek jsou **flavonoidy** [122]. Mají kostru difenylpropanů – dvou benzenových jader spojených trojuhlíkatým řetězcem tvořícím uzavřený pyranosový kruh s benzenovým jádrem [89].

V závislosti na stupni nasycenosti a oxidace tříuhlíkatého řetězce se flavonoidy člení do několika skupin, které jsou uvedeny v Tabulce 8. Dále se v rámci skupin liší jednotlivé flavonoidy povahou a polohou substituentů připojených k základní struktuře – flavanu. Často jsou substituovány hydroxy- nebo methoxy- skupinami. K strukturální komplexitě přispívá i jejich hojný výskyt ve formě *O*-glykosidů, kdy jsou určité hydroxylové skupiny flavonoidu připojeny na sacharidickou složku hemiacetalovou vazbou. Nejčastěji se váže D-glukosa, dále D-galaktosa, L-rhamnosa, D-xylosa a L-arabinosa. Taktéž se vyskytují disacharidy, nejvíce rutinosa a neohesperidosa. Sacharidická složka může být též acylována, kdy je jedna či více cukerných hydroxylových skupin derivativizována kyselinou. Vyskytují se zřídka i *C*-glykosidy. Méně jsou zastoupeny flavonoidy ve volné nebo polymerní formě [121, 123].

Tabulka 8: Dělení flavonoidů [121, 123]

název skupiny	zástupci v ovoci
flavony	nejsou v ovoci běžné
flavanony	
flavonoly	kaempferol, myricetin, rhamnetin, isorhamnetin kvercetiny (isokvercitrin, kvercitrin, hyperin, rutin)
dihydroflavonoly	
flavan-3-oly	(+)-katechin, (-)-epikatechin, (+)-gallocatechin a (-)-epigallocatechin
flavan-3,4-dioly	leukosanthokyanidiny
anthokyanidiny	kyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin, malvidin
dihydrochalkony, chalkony, aurony	
isoflavony, neoflavonoidy	floretein-6-glukosid

Jednu třetinu fenolických látek tvoří **fenolické kyseliny**. Vyskytují se ve volné formě i vázané na různé sloučeniny pomocí etherických, esterových či acetalových vazeb. Dělí se na dvě podskupiny [89, 122, 123]:

- hydroxybenzoové kyseliny (gallová, p-hydroxybenzoová, vanilová)
- hydroxyskořicové kyseliny (kávová, ferulová, p-kumarová, sinapová, chlorogenová).

Další skupinou jsou **třísloviny**, které se dělí na [89, 122, 123]:

- hydrolyzovatelné (gallotaniny a ellagotanniny), kde je kyselina gallová estericky vázana na D-glukosu)
- kondenzované (proanthokyanidiny, oligomery a polymery odvozené od flavan-3-olu, kde základní stavební jednotkou je nejčastěji (+)-catechin (-)-epicatechin, dle typu vazeb se dělí na proanthokyanidiny typu A, B, C, přičemž typ B je nejrozšířenější
- komplexní třísloviny (kombinace obou).

Další skupinu tvoří **stilbeny a lignany**. V ovoci je nejzastoupenější stilben resveratrol, který se vyskytuje v *cis* a *trans* konformaci, často glykosylovaný. Je produkován rostlinami jako obrana proti infekci patogeny a různým stresovým podmínkám a vyskytuje se v hroznech a jiných bobulovinách [122].

#### 2.2.3.2 Funkce fenolických sloučenin a jejich využití

Tato různorodá skupina fytochlórenin má v rostlinách celou řadu funkcí. Jsou přírodními pigmenty a jejich úkolem je chránit rostliny před oxidačním stresem způsobeným UV zářením, znečištěním prostředí či chemikáliemi. Mají celou řadu biologických aktivit, nejvíce jsou ceněny a zmiňovány antioxidační a protizánětlivé účinky [101].

Antioxidační schopnosti zajišťuje přítomnost *O*-dihydroxylových substituentů na B jádře, dvojná vazba mezi C2 a C3 a hydroxylové skupiny v C3 a C5 pozicích. Jsou účinné jak proti volným kyslíkovým radikálům, tak reaktivním kyslíkatým sloučeninám. Flavonoidy jsou v trávicím traktu snadno metabolizovány, čímž ztrácí svou antioxidační kapacitu (záleží i na složení mikroflóry v gastrointestinálním traktu), imunitní systém je také může rozpoznat jako cizí sloučeniny a mohou být tedy pozměněny a následně vyloučeny potem či močí. Mají sice větší antioxidační aktivitu než vitamíny, ale jsou absorbovány v daleko menším množství [101].

Celkově mají fenolické sloučeniny silný účinek na signalizační procesy v buňce a expresi genů při rakovinných a cévních onemocněních. Mohou také působit v těle jako xenobiotika, čímž aktivují fázi II detoxifikace enzymů, která pomáhá při eliminaci mutagenů a karcinogenů [101].

Prostřednictvím celé řady studií bylo zjištěno, že fenolické látky zlepšují stav vlásečnic, snižují tlak, jsou dobré v prevenci oxidace LDL cholesterolu a snižují schopnost koagulace krve. Při onemocnění rakovinou zháší volné radikály a regulují produkci oxidu dusnatého, inhibují také adhezi leukocytů, indukci apoptosis a buněčnou proliferaci. Jsou schopné zvyšovat sekreci insulinu při metabolickém syndromu. Mohou také ovlivňovat v dlouhodobém hledisku kognitivní funkce a tím oddalovat rozvoj Alzheimerovy nemoci [101].

Třísloviny mají protizánětlivé a antialergenní účinky a mají příznivý vliv na atherosklerosu. Mají schopnosti vázat kovy, srážet proteiny a mají též antioxidační účinky [122].

Příjem fenolických látek závisí na různém životním stylu, kultuře, druzích jídel apod. Doporučované denní dávky jsou různé od 3,4–351 mg na den [101]. Ze zeleniny, ovoce a nápojů konzumuje člověk přibližně 25–30 % svého celkového denního příjmu fenolických látek [121].

Nejlépe vstřebatelné jsou isoflavony, flavonoly (glykosidy kvercetinu), katechiny, gallokatetiny a anthokyany. Jsou metabolizovány enzymy z enterocytů a jaterních buněk a mikroflórou v gastrointestinálním traktu. Původní molekuly se potom mohou lišit od molekul detekovaných v plasmě. Isoflavony se používají jako prebiotika [123].

Flavonoidy mohou přispívat ke kvalitě ovoce celou řadou procesů – propůjčují ovoci některé senzorické atributy jako je barva a aroma. V některých druzích ovoce (např. jablka) přispívají i k textuře. Podílejí se také vlivem enzymatické oxidace fenolů na chinony a jejich polymerací na tvorbě nežádoucích hnědých pigmentů v čerstvém ovoci během poškození pletiva při zpracování či během skladování. Hnědnutí také ovlivňuje barvu, chuť a nutriční hodnotu potraviny a samozřejmě odolnost ovoce a zeleniny proti ostatním patogenům, např. plísním. Na celkový profil flavonoidů vyskytujících se v ovoci má také vliv technologie zpracování [121].

#### 2.2.3.3 Popis vybraných zástupců fenolických látek

Kromě vitaminu C obsahuje ovoce i významná množství biologicky aktivních látek, patřících do skupiny flavonoidů, kam se řadí mj. anthokyany a flavonoly. Anthokyanová barviva lze nalézt ve velkém množství především v plodech bezu a aronie. Kromě jejich nesporného zdravotního přínosu jsou v současné době žádaným potravinářským barvivem přírodního původu. Plody bezu černého taktéž obsahují významná množství flavonolu rutinu, který má prokázané zdravotní účinky. Působí synergicky s účinkem vitaminu C, čímž se podílí na vysoké antioxidační aktivitě plodů bezu černého [85, 74, 123, 124].

#### Anthokyany

Anthokyany jsou glykosidy anthokyanidinů (náležících do skupiny flavonoidů), jejichž základní strukturou je flavyliový kation s hydroxylovou skupinou v poloze C4'. Jednotlivé anthokyanidiny se liší dle polohy a povahy substituentů [123].

Nejčastěji se vyskytuje 6 základních anthokyanidinů (cyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin, malvidin) na které je přes hydroxylovou skupinu nejvíce v poloze C3 (někdy navíc C5) navázána glykosidická složka. Nejčastěji vyskytující se sacharidy jsou D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, D-xylosa, L-arabinosa. Nejzastoupenější disacharidy: rutinosa, sambubiosa, soforosa, laminaribiosa a gencibiosa. Sacharidické hydroxylové skupiny mohou být také acylovány fenolovými kyselinami (*p*-kumarovou, kávovou, ferulovou, sinapovou) nebo malonovou a octovou kyselinou [123].

Charakteristickou vlastností této skupiny látek je značný vliv pH na jejich strukturu. Při nízkém pH (pH 1) se vyskytují jako červený flavyliový kation. Při zvyšování pH ztrácí proton a přijímají vodu – vzniká tak bezbarvá karbinolová pseudobáze (pH 4–4,5). Při neutrálním pH se vytváří se purpurová chinolinová báze, která po ionizaci (vzniku aniontu) změní barvu na tmavě modrou (pH 7,5–8). Dalším stáním a zvyšováním pH vzniká žlutě zbarvený chalkon [104, 123].

Stabilitu ovlivňuje i mnoho dalších faktorů jako jsou struktura molekuly (počet a druh substituentů), přítomnost některých enzymů (glykosidas, polyfenoloxidasy), teplota (při vyšší teplotě vznik oligomerů), přítomnost kyslíku (vznik nebarevných či hnědých produktů) či působení záření (fotooxidace). Reagují také s AA, oxidem siřičitým, fenoly či kovy [123].

Jsou absorbovány v gastrointestinálním traktu do cytosolu vaskulárních endotheliálních buněk, které tím chrání proti oxidativním útokům peroxidu vodíku a jiných reaktantů.

Po vstřebání jsou anthokyany inkorporovány do plasmy a jater, kde si udržují svou strukturální neporušenost ve formě glykosidů. Anthokyany mají poměrně nízkou absorpci v gastrointestinálním traktu, avšak aby se projevily jejich antioxidační vlastnosti, je třeba velice malého množství [89].

V potravinách mohou anthokyany reagovat s dalšími flavonoidy, také vytváří komplexy s kovy (interakce s obalem potraviny). Siřičitany ve vyšším množství (1–1,5 %) ale i jiná oxidační činidla (peroxid vodíku) způsobují nevratné odbarvení anthokyanů. Starší výrobky hnědnou vlivem polymerizace anthokyanů s ostatními flavonoidy – tvoří se tanniny, které jsou zodpovědné za svírávou chuť [104].

V potravinářství se ze slupek a sedimentů hroznů, bezu a aronie vyrábí barvivo využívané zejména pro kyselé potraviny [123].

## Rutin

Rutin (kvercetin-3-rutinosid) se řadí do skupiny flavonolů. Má antioxidační vlastnosti, zháší hydroxylové a superoxidové radikály, chrání lipidy před peroxidací a má chelatační vlastnosti. Vykazuje protizánětlivé a vasoprotektivní účinky, snižuje propustnost kapilár a příznivě působí na jejich pružnost. Má taktéž ochranné účinky na žaludeční sliznici proti vředům [125]. Spolu s dalšími bioflavonoidy chrání kyselinu askorbovou před oxidací [123]. Ve farmaci se využívá rutin na léčení hemoragií, hypertenze, alergií a jako adjuvans při infekčních onemocněních [124].

### 2.2.4 Stanovení fenolických látek

Fenolické látky obsahují sloučeniny různých struktur a vlastností. Všechny fenoly absorbují UV či viditelné záření. Flavonoidy mají dvě maxima 240–285 nm a 300–550 nm [121], čehož lze využít přímým měřením absorbance jednotlivých sloučenin. Než přímé měření absorbance se častěji vyskytuje spektrofotometrické měření jako detekční metoda pro fenolické látky při separačních technikách (HPLC) [126].

Společnou vlastností fenolických látek jsou antioxidační schopnosti, kterých využívá jedna ze základních metod pro stanovení celkových polyfenolických látek v potravinách - metoda s použitím Folin-Ciocalteauova činidla [126].

Dalšími metodami pro stanovení fenolických látek je titrace manganistanem (větší interference, např. cukry) či kolorimetrická metoda se solemi železa (monofenoly nereagují). [126]. Katechiny a proanthokyanidiny lze stanovit pomocí vanilinu [121].

#### 2.2.4.1 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Stanovení pomocí Folin-Ciocalteuova činidla (dále jen F-C) využívá přenosu elektronů v alkalickém médiu z fenolických sloučenin na komplexy kyseliny fosfomolybdenové a fosfowolframové za tvorby modrého komplexu, který se stanovuje spektroskopicky nejčastěji při 760 nm. Přesný mechanismus reakce není znám, ale předpokládá se, že jde o sekvenci reverzibilních jedno či dvouelektronových redukčních reakcí, které vedou k modrým komplexům [127].

Hlavním problémem F-C stanovení je nespecifičnost mechanismu reakce, kdy může docházet k aditivním či násobným interferencím dalších oxidačních substrátů. Aditivní efekty se vyskytují u fenolů, aromatických aminů, u vysoké hladiny cukrů nebo kyseliny askorbové

v extraktu. Kyselina askorbová s F-C činidlem také reaguje a musí být brána do úvahy. Dalšími interferujícími látkami s aditivními účinky jsou siřičitan a oxid siřičitý, které se nejčastěji vyskytují ve víně [127].

Jako srovnávací standard se nejčastěji používá kyselina gallová (levná, rozpustná ve vodě, schopná rekryystalizace, lehce vysušitelná, stabilní v suché formě). Také lze použít flavonoid (+)-katechin [126].

Metoda je často zařazována jako srovnávací při stanovení antioxidační kapacity vzorku. Používá se jako parametr pro charakterizaci plodů dřínu [25, 30, 32, 33, 49, 52] bezu [92], aronií [78, 79, 128], jeřabin [66] a rakytníku [17].

#### 2.2.4.2 Stanovení anthokyanů

Anthokyanы jsou velkou skupinou látek s různou strukturou a vlastnostmi. Jednou z jejich společných vlastností je změna zbarvení roztoku v závislosti na změně pH, čehož se využívá pro stanovení celkových anthokyanů ve vzorku pomocí pH-diferenční metody. Pro přesnější kvantifikaci a hlavně identifikaci slouží separace kapalinovou chromatografií se spektrofotometrickou či hmotnostní detekcí [129, 130].

##### pH-diferenční metoda

Metoda využívá odlišných vlastností jednotlivých forem anthokyanů v závislosti na pH. Vzorky jsou rozpuštěny ve vodných pufrech pH 1,0 a 4,5 a je měřena absorbance při vlnové délce maximální absorbance pro roztok pH 1,0. Rozdíl absorbance mezi dvěma roztoky pufrů je způsoben monomerickými anthokyanovými pigmenty. Polymerizované anthokyanové pigmenty a pigmenty neenzymatického hnědnutí nevykazují reverzibilní chování se změnou pH a jsou tedy vyloučeny z výpočtu absorbance [129].

Pro výpočet celkových anthokyanů se používá molekulární váha a molární extinkční koeficient pro majoritní anthokyan v matrici (nejčastěji se používá kyanidin-3-glukosid [66, 131]). Počet anthokyanů, pro které lze zjistit molekulární extinkční koeficienty je však limitovaný. Problémy mohou nastat při určování správného extinkčního koeficientu. Záleží zde na povaze roztoku, v kterém je anthokyan rozpuštěn, na čistotě použitých standardů a samozřejmě na vlnové délce, při které je měřena absorbance vzorku či standardu a hygroskopickita či vlhkost standardů [129].

Metoda je vhodná pro určení základního množství celkových anthokyanů. Mezi laboratořemi bylo dosaženo výborné shody: RSD 1,06–4,16 % a reprodukovatelnosti 2,69–10,12 % [129].

Daleko vhodnější je však užití HPLC nejen pro kvantifikaci celkového množství anthokyanů ve vzorku, ale i k kvalitativnímu stanovení jednotlivých složek [129].

*Tabulka 9: Stanovení anthokyanů pH-diferenční metodou v plodech studovaného ovoce*

matrice	anthokyan	extinkční koeficient $\epsilon$ [ $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]	molární hmotnost $M [\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}]$	zdroj, rok
jeřáb	kyanidin-3-glukosid	29 000	449,2	[66], 2006
aronie, jeřáb	kyanidin-3-galaktosid	30 200	445,0	[67], 2000
aronie	kyanidin-3-glukosid	26 900	449,2	[131], 2007
bez	kyanidin-3-glukosid	29 600	-	[92], 2009
dřín	kyanidin-3-glukosid	29 600	-	[30], 2007
dřín	kyanidin-3-glukosid	29 600	-	[32], 2009

## HPLC

Pro extrakci anthokyanů z matrice se nejčastěji používá lehce okyselený roztok (kyselinou chlorovodíkovou nebo mravenčí) methanolu nebo acetonu. Nízké pH se používá pro stabilitu formy flavylového kationtu (absorpční schopnosti, stabilita molekuly). Jako předseparační a přečišťovací krok je vhodné zařadit i SPE [130].

Nejčastěji se používají kolony reverzní fáze s oktadecylovými skupinami (C18), méně potom C12 a fenylové skupiny. Jako mobilní fáze je rozšířená směs okyselené vody (nejčastěji kyselinou mravenčí) s methanolem nebo acetonitrilem. Méně se používají kyselina fosforečná nebo trifluorooctová. pH mobilní fáze se ideálně udržuje pod hodnotou 2,0 [130].

Detekce se používá nejčastěji fotometrická (kolem 520 nm vlnové délky). Pro přesnou identifikaci anthokyanů je vhodnější použít hmotnostní detekci či NMR spektrometrii pro potvrzení struktury molekuly [130].

*Tabulka 10: Stanovení anthokyanů ve sledovaných druzích ovoce pomocí HPLC*

matrice	extrakce	kolona	mobilní fáze	teplota	detekce	zdroj, rok
bez, šťáva	-	Purospher STAR RP18 (250×4,6 mm; 5 µm)	A: 0,5 % trifluoroctová kyselina, B: acetonitril, gradient: [čas (min) - obsah B (%)]: 0-7/60-30/65-50/70-7, 1 ml.min <sup>-1</sup>	35 °C	UV-VIS 520 nm	[88], 2008
dřín, plody	methanol + 1% obj. HCl	Xterra RP-18 (150×4,6 mm; 5 µm)	4% k. fosforečná/ acetonitril 9:1, isokraticky, 0,75 ml.min <sup>-1</sup>	35 °C	UV-VIS 520 nm	[24], 2002
dřín, plody	methanol + 1% obj. HCl	Luna C18 (250×4,6 mm; 5 µm)	A: 0,5% kyselina fosforečná, B: voda/acetonitril/ kyselina octová/kyselina fosforečná 50:48,5:1:0,5 gradient: [čas (min) - obsah B (%)]: 26-20/30-60/35-20, 1 ml.min <sup>-1</sup>	30 °C	UV-VIS 515 nm	[25], 2008
aronie, plody	methanol + 1% obj. HCl	OmniSpher C18 (250×4,6 mm; 5 µm)	A: 0,5% kyselina fosforečná, B: 100% methanol gradient: [čas (min) - obsah B (%)]: 0-3/38-65/45min, 1 ml.min <sup>-1</sup>	20 °C	UV-VIS 520 nm	[131], 2007

#### 2.2.4.3 Stanovení rutinu

Rutin bývá často stanoven spolu s dalšími glykosidy kvercetinu, anthokyany či jinými flavonoidy. Pro extrakci z matrice se nejčastěji používá, podobně jako v případě anthokyanů okyselený roztok (kyselinou chlorovodíkovou) methanolu s vodou nebo i bez ní. Často se zařazuje i technika SPE [132].

Stejně jako v případě anthokyanů, i zde se používá nejčastěji kolony s reverzní fází. Složení mobilní fáze bývá také velmi podobné (směs okyselené vody s methanolem nebo acetonitrilem) a kvůli komplexnosti směsi bývá téměř vždy použita gradientová eluce [133].

Nejpoužívanější detekcí je fotometrická detekce. Flavonoly mají dvě absorpcní maxima: první mezi vlnovými délками 350–385 nm a druhé mezi 250–280 nm. Nejčastěji se v případě rutinu používá vlnová délka 360 nm. Pro přesnější identifikaci a vyloučení koeluujících složek se používá stále rozšířenější hmotnostní detekce [133].

Tabulka 11: Stanovení rutinu ve sledovaných druzích ovoce pomocí HPLC

matrice (sledované analyty)	extrakce	kolona	mobilní fáze	teplota	detekce	zdroj, rok
aronie, šťáva (flavonoly)	přímo	Synergi Fusion RP-8A (150 × 4,6 mm; 4 µm)	A: 2,5% octová kyselina, B: acetonitril, gradient [čas (min) - obsah B (%)]: 0-0/36-25, 1 ml.min <sup>-1</sup>	30 °C	UV 360 nm	[134], 2005
šťáva z aronií a citronů (flavonoidy)	přímo	Lichrocart RP18 (250 × 4 mm; 5 µm)	A: 5% mravenčí kyselina, B: methanol, gradient: [čas (min) - obsah B (%)] 0-15/15-30/20-30/30-50		UV 360 nm	[135], 2008
bez, plody (anthokyany a kvercetiny)	methanol + 1% obj HCl + 1% BHT	Gemini C18 (150 × 4,6 mm; 3 µm)	A: 1% kyselina mravenčí, B: 100% acetonitril, lineární gradient, 1 ml.min <sup>-1</sup>	25 °C	UV (350 nm) ESI-MS (neg.mód)	[85], 2009

## 2.3 SENZORICKÁ ANALÝZA

Senzorická analýza je důležitým parametrem, který je třeba brát v úvahu při vývoji a optimalizaci složení potravinářského výrobku. Jde o vědeckou metodu, která se používá k posuzování vzorku (potraviny) pomocí lidských smyslů (zrak, čich, vůně, hmat a sluch). Posuzování provádí porota – hodnotitelé, která je sestavena především na základě účelu senzorického testování. Pro vyhodnocení většiny senzorických zkoušek se používají statistické metody [136, 137].

Senzorické hodnocení se provádí pomocí různých zkoušek v závislosti na jeho účelu. Ty se dělí na tři hlavní skupiny – rozdílové zkoušky (testují rozdíly či podobnost mezi jednotlivými vzorky), popisné zkoušky (definice senzorického profilu na základě specifických atributů – senzorických vlastností), zkoušky používající stupnice nebo kategorie (určování pořadí nebo velikost rozdílů). Většina běžných senzorických zkoušek je normalizována pomocí ČSN ISO norem [136, 137].

Nejčastěji se v senzorické analýze používají k hodnocení kategorové ordinální (pořadové) stupnice, které umožňují rozhodnout, jestli je mezi sledovanými znaky rozdíl a určit jeho směr. Stupnice mohou být sestaveny intenzitně (posuzování intenzity určité senzorické vlastnosti – deskriptoru) nebo hedonicky (určení příjemnosti). Jednotlivé stupně jsou doprovázeny definicí – dostatečným slovním popisem nebo lze celou stupnicí vyjádřit i graficky (strukturovaně nebo nestrukturovaně) [136, 137].

Pořadové testy se provádí tehdy, kdy je třeba zjistit, zda existuje rozdíl mezi více než dvěma vzorky. Vzorky jsou seřazeny dle příjemnosti/intenzity sledovaného znaku [136, 137].

Velmi užitečným typem testu je profilový test, který zhodnocuje vzorky na základě několika dílčích senzorických vlastností – deskriptorů. Hodnotitel určuje intenzitu deskriptorů dle intenzitní nebo hedonické stupnice. Profilový test je vhodný právě při vývoji či změně výrobku. Také se používá pro určení charakteru a intenzity deskriptorů, které mohou pozitivně či negativně ovlivňovat celkový senzorický vjem z produktu. Proto by jednotlivé deskriptory měly zahrnovat nejdůležitější organoleptické vlastnosti příslušného vzorku potraviny a další typické a charakteristické deskriptory. Spojením vjemů chut'ových a čichových spolu s počítky, které potravina vyvolá v nosní a ústní dutině, vzniká tzv. *flavour*, k jehož charakterizaci lze použít i instrumentální analýzu těkavých látek v potravině např. plynovou chromatografií [136, 137].

Vztah mezi senzorickou analýzou a instrumentální analýzou těkavých látek ve šťávách z bezu černého byl zkoumán Kaackem a kol. [138]. Byly izolovány tři sloučeniny s chakteristickým bezovým aroma ( $\beta$ -damascenon, nonanal, dihydroedulan), které úzce korelovaly s výsledky senzorické analýzy. Taktéž bylo vybráno 24 těkavých látek, které měly hlavní podíl na „ovocném“, „květovém“ a „trávovém“ aroma [138]. Při senzorickém hodnocení bezových šťáv byl taktéž nalezen významný rozdíl mezi jednotlivými zkoumanými odrůdami [139].

## **2.4 VYUŽITÍ STUDOVANÝCH DRUHŮ OVOCE V POTRAVINÁŘSTVÍ**

Studované druhy ovoce mohou nalézt v potravinářství celou řadu využití, avšak z hlediska zachování obsahu, a tedy pozitivního účinku látek na lidský organismus, je vhodné použít šetrné technologické operace a minimalizovat záhřev surovin. Z tohoto důvodu se zdá být vhodná příprava ovocných šťáv, které mohou i ve směsi s jiným, známějším ovocem, být vhodnou cestou k představení těchto méně využívaných druhů ovoce spotřebiteli.

### **2.4.1 Ovocné šťávy**

Legislativa zemí Evropské unie se řídí Směrnicemi a Nařízeními Evropského parlamentu, rady a komise. Základním dokumentem v případě ovocných šťáv je Směrnice Rady č. 2001/112/ES o ovocných šťávách a některých podobných produktech určených k lidské spotřebě, která byla změněna Směrnicí Komise č. 2009/106/ES [140].

Producenty ovocných šťáv zastupuje na úrovni Evropské Unie AIJN – Evropská asociace producentů ovocných šťáv, která se snaží zastupovat zájmy výrobců ovocných šťáv na evropských úřadech či institucích, spolupracuje s evropským systémem pro kontrolu kvality, informuje a radí zástupcům průmyslu zpracovávajícím ovoce a pokouší se udržovat soutěživost a komerční životaschonost tohoto segmentu potravinářského průmyslu. Zabývá se také kvalitou ovocných šťáv a jejich autentifikací [140].

Směrnice a Nařízení Evropského společenství musí členské státy zařadit do své legislativy. V České republice je základním dokumentem pojednávajícím o nealkoholických nápojích Vyhláška 335/1997 Sb ve znění pozdějších předpisů [140, 141].

Ovocnou nebo zeleninovou šťávou se dle Vyhlášky 335/1997 Sb. ve znění pozdějších předpisů rozumí „šťáva, zkvasitelný, ale nezkvašený výrobek získaný z přiměřeně zralého a zdravého, čerstvého nebo chlazeného ovoce nebo zeleniny, a to jednoho nebo více druhů, s charakteristickou barvou, vůní a chutí, které jsou typické pro šťávu pocházející z příslušného ovoce nebo zeleniny; aroma, dužnina a buňky ze šťávy, které jsou odděleny v průběhu zpracování, mohou být do téže šťávy vráceny...“ [142].

Nektarem se rozumí „nezkvašený, ale zkvasitelný výrobek získaný přídavkem pitné vody a popřípadě též přírodních sladidel, sladidel, medu, nebo jejich směsi k ovocné nebo zeleninové šťávě, ovocné nebo zeleninové šťávě z koncentrátu, koncentrované ovocné nebo zeleninové šťávě, sušené ovocné nebo zeleninové šťávě, k ovocné dřeni nebo ke směsi těchto výrobků v souladu s přílohou č. 1“ [142].

Ovocný nebo zeleninový nápoj představuje „ochucený nealkoholický nápoj, vyrobený z ovocných nebo zeleninových šťáv nebo jejich koncentrátů...“ [141].

Ovocná šťáva je komplexní matricí, skládající se z vody, cukrů, organických kyselin, proteinů, tuků, minerálů, vitamínů (nejzastoupenější je vitamin C) a dalších látek jako jsou fenolické látky (polyfenoly, anthokyany) či karotenoidy. Obsah vody se v závislosti na druhu ovoce pohybuje v rozmezí 82–92 %. Sacharidy se vyskytují ve formě jednoduchých cukrů, jako je fruktosa a glukosa, až po polysacharidy (škrob, celulosa, hemicelulosy, pektin). Vyskytuje se i další, minoritní sacharidy, jako je xylosa, manosa, arabinosa, galaktosa či maltosa. V některých druzích ovoce, např. v hruškách, švestkách a jeřabinách se vyskytuje i cukerný alkohol – sorbitol. Celkový obsah sacharidů se velmi liší, nejčastěji se pohybuje mezi

3–15 %. Ovoce je důležitým zdrojem vlákniny (0,7–4,7 %). Obsah proteinů a lipidů bývá zpravidla do 1 %. Z minerálů se nejvíce vyskytuje draslík, často v kombinaci s organickými kyselinami. Mezi další sloučeniny v ovoci lze zařadit pigmenty a organické kyseliny, které jsou důležité pro zajištění organoleptického vyvážení sladkosti [2].

## 2.4.2 Technologie zpracování ovocných šťáv

Šťávy se dle způsobu konzervace dělí na pasterizované, konzervované asepticky, konzervované chladem, antiseptikami či oxidem uhličitým. Dle zákalu je lze rozdělit na šťávy s obsahem dřeně, šťávy zakalené a průzračné (čířené) [143].

Ovocný mošt je filtrovaná nekvašená ovocná šťáva, která může obsahovat i ovocnou dužinu. Přírodní ovocné šťávy mohou být sterilované bez chuťové úravy (jablka, hrozny), upravené cukrem a vodou (zpravidla z kyselejšího ovoce) a směsi ovocných šťáv upravené vodou a cukrem. Pro výrobu lze použít jak čerstvé ovoce tak koncentráty [144].

Hlavní část produkce ovocných šťáv tvoří koncentrované šťávy, ze kterých se vyrábí rekonstitucí (přidáním vody) běžné šťávy. Také mohou být přidány i těkavé složky separované při koncentraci šťáv [2].

Suroviny pro výrobu ovocných šťáv musí splňovat určité požadavky: hlavní je poměr obsahu cukrů a kyselin, také se sleduje množství tříslovin, aromatických či barevných látek. Plody musí být zdravé, bez náznaků mechanického poškození, hnily nebo plísní. Rozhodující je i zralost ovoce [143].

Mezi nejběžnější operace patří praní (odstranění nečistot, mikroorganismů, postříků), třídění (dle barvy, tvaru, zralosti, čerstvosti, neporušenosti či velikosti), odstopkování a odpeckování (pro ulehčení odstranění pecek se peckovice trochu předehřejí), čištění a mletí (drcení) [2, 143].

Ovocné šťávy bez dužiny se připravují lisováním či extrakcí. Množství šťávy závisí na složení pletiva plodů a technice použitých operací. Pro větší výtěžnost a při technologických krocích jako je číření, zkapalňování či macerace, lze použít pektolytické enzymy, které narušují buněčné struktury rostlinných pletiv. Zpravidla se enzymy aplikují při zvýšené teplotě (40–45 °C) po dobu 1–4 hodin. Použité množství a složení pektináz se však liší v závislosti na druhu ovoce, jeho zralosti a použitým technologickým operacím [2, 143, 145].

Vlastní lisování záleží na jakosti a vlastnostech ovoce, druhu použitého lisu a vyvinutého tlaku (doba trvání, velikost), teplotě či tloušťce lisované vrstvy [144].

Pro vznik průzračné šťávy se zařazuje do výroby technologický krok číření a filtrace, které zlepšují stabilitu šťáv při skladování a usnadňují jejich koncentraci. Při výrobě šťáv se však částečně odstraňují minerální a další látky. Šťáva se číří a filtruje, poté se může upravit 50% převařeným a zfiltrovaným roztokem cukru (po jeho případku následuje další filtrace). Pro výrobu dřeňových šťáv (džusy, kokteily) se používá ovoce a zelenina, které se po drcení dále dezintegruje a homogenizuje [143, 144].

Šťáva se poté dle normy upravuje cukrem či kyselinou citronovou. Následuje deaerace, plnění a sterilace v závislosti na pH výrobku. Pro zachování antioxidační ochrany a nutriční hodnoty výrobku bývá šťáva někdy fortifikována vitaminem C, jehož množství během zpracování ovoce zpravidla klesá [2, 144].

Konečné zpracování zahrnuje teplotní operace pro ochranu před mikrobiálním a enzymatickým znehodnocením potraviny a balení. Šťávy s delší dobou údržnosti jsou baleny jak do skla, tak do laminovaných kartonů a plněny v prostředí, které zajišťuje aseptické

plnění. Pro laminované obaly stačí menší tepelný záhřev než pro sklo, lépe se využije prostor při převozu, mají menší váhu a větší možnosti pro potisk [2].

Pro delší dobu údržnosti (12 měsíců při běžné teplotě) se používá bleskové pasterace v integrovaném aseptickém balicím systému – Tetra Pak, Combibloc, PET. Záhřev probíhá v deskovém pasteru v rozmezí teplot 85–90 °C po dobu 15–30 sekund [2].

Lehce pasterované produkty nejsou asepticky balené. Záhřev probíhá po několik sekund při 90–92 °C a při skladovací teplotě 2–5 °C je doba údržnosti 10–12 měsíců. Tento typ tepelné operace lépe zachovává chuť výrobku. Pasterace lze provést i v již baleném výrobku (in-pack, tunelová pasterace). Před aplikací vlastní pasterační teploty se výrobek předeheřuje pro minimalizaci termálního šoku obalu. Typické podmínky pasterace jsou 20 minut při 70 °C s kratší periodou předeheření. Poté je výrobek schlazen na běžnou teplotu. Používá se pro šťávy balené ve skle a plechovkách a v některých typech plastových obalů. Pokud není výrobek dostatečně zchlazen může se zhoršit organoleptická údržnost výrobku [2].

Dalším způsobem je horké plnění. Používají se nejčastěji modifikované deskové pastery s teplotou 85–90 °C. Horký produkt je okamžitě plněn do kontejnerů a uzavřen a zbytkové teplo slouží k pasteraci produktu, obalu i uzávěru. Pro lepší distribuci horké tekutiny v obalu a uzávěru je při plnění třeba mechanická rotace obalů. Proces je náročný na energii a také je třeba obaly chladit a následně ošušit [2].

Zmražené šťávy bez pasterizace pod -10 °C nebo chlazené při 2–5 °C na krátkou dobu lze použít především pro transport a uchovávání zahuštěných šťáv (koncentrátů) z určitých druhů ovoce, které se následně používají k rekonstituci [2].

Mezi neteplotní operace lze zařadit ošetření vysokým tlakem ve flexibilních kontejnerech, které jsou vystaveny tlaku až 600 MPa. Nevýhodou je vsádkový systém konzervace a vysoká cena [2].

V poslední době se často objevuje čerstvě lisovaná ovocná šťáva, která se vyrábí blízko prodejní sítě. Ovoce se zpracovává v čistých podmírkách a tepelně neopracovaná šťáva se plní do obalů na jedno použití. Výrobek se skladuje při teplotách 2–3 °C po několik dní. Pokud je použita mírná pasterace (2–3 s, 90–92 °C), lze je při nízké teplotě skladovat 2–3 měsíce [2].

Mezi nové produkty lze zařadit i tzv. smoothies, které jsou většinou směsí šťáv s dužinou, často s obsahem banánového pyré. Mají vysoký podíl vlákniny a antioxidačních látek [2].

## 2.5 OZNAČOVÁNÍ POTRAVIN

Každá potravina musí poskytovat spotřebiteli informace, které jsou stanoveny zákonem. U potravin, které navíc obsahují látky, které by mohly mít pozitivní vliv na výživu či zdraví spotřebitele, je možno tento vliv zdůraznit na obalu potraviny vhodným a schváleným výživovým nebo zdravotním tvrzením.

### 2.5.1.1 *Obecně povinné požadavky*

Základním dokumentem, který musí splňovat potraviny prodávané na území ČR, je zákon číslo 139/2014 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích. Označování potravin je uvedeno v Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům.

Dle obou uvedených dokumentů na obalu balené potraviny musí být uvedeny tyto údaje [141, 146]:

- jméno a příjmení nebo název anebo obchodní firma a adresa sídla provozovatele potravinářského podniku, který potravinu vyrobil,
- název potraviny,
- čisté množství,
- seznam složek,
- možné alergeny,
- země nebo místo původu,
- způsob uchování,
- datum použitelnosti nebo datum minimální trvanlivosti,
- údaj o množství hlavní složky v hmotnostních procentech, pokud je definováno předpisem.
- množství určitých složek nebo skupin složek
- potraviny, jejichž označení musí obsahovat jeden nebo více dalších údajů: potraviny balené v některých plynech, potraviny obsahující sladička, potraviny obsahující glycyrrhizovou kyseiny nebo její amonnou sůl (lékořice), nápoje s vysokým obsahem kofeinu nebo potraviny obsahující přidaný kofein, potraviny s přidanými fytosteroly, estery fytosterolů, fytostanoly nebo estery fytostanolů, zmrazené maso, zmrazené masné polotovary a zmrazené nezpracované produkty rybolovu
- návod k použití, pokud je třeba
- u nápojů s obsahem alkoholu vyšším než 1,2 % objemových skutečný obsah alkoholu v procentech objemových
- výživové údaje
  - energetická hodnota (vypočítá se na základě vzorce uvedeného v nařízení EP z analýzy výrobce, výpočtem ze známých průměrných hodnot použitých složek nebo obecně zjištěných údajů)
  - množství tuků, nasycených mastných kyselin, sacharidů, cukrů, bílkovin a soli
  - volitelné: mononenasycené mastné kyseliny, polynenasycené mastné kyseliny, polyalkoholy, škrob, vláknina, vitaminy nebo minerální látky přítomné ve významných množstvích daných nařízením EP

Informace pro spotřebitele musí být k dispozici a snadno dostupné – v případě balených potravin přímo na obalu nebo na etiketě k němu připojené. Musí být uvedeny viditelné, čitelné a nesmazatelné. Nařízení také předepisuje velikost písma podle velikosti plochy obalu. Obecně by informace neměly uvádět spotřebitele v omyl a být jakýmkoli způsobem zavádějící či matoucí. Pokud je to vhodné, musí být informace podloženy příslušnými vědeckými údaji [141, 146].

### 2.5.1.2 Výživová a zdravotní tvrzení

Výživová a zdravotní tvrzení jsou nepovinným údajem, který lze uvádět na obalech potravin. Tato tvrzení musí být uváděna v souladu s Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) číslo 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin. Netýkají se jen označování potravin na obalech, ale např. také pro reklamní sdělení [147].

Tvrzení je jakákoli informace (text, obrázek), z které lze vyvodit, že potravina má určité vlastnosti:

- výživové tvrzení – potravina má prospěšné výživové vlastnosti (energetická hodnota, obsah živin či jiných látek)
- zdravotní tvrzení – potravina či některá její složka může mít pozitivní vliv na zdraví

Obecně výživová ani zdravotní tvrzení nesmí být nijak klamavá, nepravdivá, vyvolávat pochybnosti o jiných potravinách, nabádat k nadměrné konzumaci této potraviny apod. [147].

Oba druhy tvrzení lze použít jen tehdy, pokud byl vědecky prokázán příznivý výživový nebo fyziologický účinek živiny nebo jiné látky na lidský organismus. Živina nebo látka musí být v potravině ve využitelné formě a v dostatečném množství, aby vyvolala fyziologický účinek při konzumaci vhodného množství produktu. Zdravotní tvrzení by mělo být doplněno dalšími informacemi, např. důležitost nutričně vyvážené stravy, doporučené množství potraviny ke konzumaci, možné kontraindikace, apod. [147].

Schvalování zdravotních tvrzení se řídí dle Nařízení komise (ES) č. 353/2008.

Seznam a podmínky použití již povolených výživových tvrzení je uveden v příloze Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) číslo 1924/2006. Seznam schválených zdravotních tvrzení lze nalézt v příloze Nařízení komise (EU) č. 432/2012 [147].

### **3 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE**

Cílem dizertační práce bylo ve spolupráci se Zahradnickou fakultou Mendlové Univerzity v Brně a Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousích provést monitoring vybraných fyzikálních a chemických parametrů v jednotlivých odrůdách zmíněných druhů ovoce.

Byly sledovány jak základní charakteristiky (sušina, titrovatelné kyseliny, jednotlivé organické kyseliny a sacharidy), tak množství jiných biologicky aktivních látek (vitamin C, anthokyany, polyfenoly, rutin) pomocí optimalizovaných a validovaných metod. Rozdíly mezi jednotlivými odrůdami byly vyhodnoceny vhodnými statistickými metodami.

Cílem práce bylo shrnout charakteristiky jednotlivých odrůd ovoce a porovnat nové, české odrůdy s odrůdami zahraničními.

Na základě výsledků literární rešerše a experimentů byl vybrán vhodný druh ovoce pro průmyslové zpracování a ve spolupráci se zástupcem potravinářského průmyslu byl navržen nový výrobek, který dosud chybí na českém trhu. Bylo posuzováno jak složení výrobku (kombinace s jinými ovocnými či zeleninovými šťávami, přídavek cukru, atp.) pomocí senzorického hodnocení vytipovaných kombinací, tak i údaje uváděné na etiketě produktu. S využitím optimalizovaných analytických metod byl sledován i obsah biologicky aktivních látek.

## **4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **4.1 LABORATORNÍ VYBAVENÍ, CHEMIKÁLIE**

Pro přípravu roztoků a vzorků bylo použito následující laboratorní vybavení: homogenizátor T 18 basic Ultra-Turrax (IKA, Německo) s nádstavcem pro homogenizaci S18N – 19G (IKA, Německo), centrifuga MLW T52.1 (VEB Zentrifugenbau, Německo), třepačka, Vortex Yellow Line TTS2 (IKA, Německo), magnetická míchačka (IKA, Německo), ultrazvuková lázeň (Kraintek, Slovensko).

Vzorky a chemikálie byly váženy na analytických váhách (Boeco, Německo) a A&D Instruments HR-120 EC (A&D Instruments, Japonsko).

Pro analytické metody byly použity následující přístroje: sušárna UNB 400 (Memmert, Německo), pH metr MPH 372 se skleněnou elektrodou (Monokrystaly s.r.o., ČR), refraktometr Carl Zeiss Jena 131420 (Carl Zeiss, ČR).

Pro přípravu deionizované (demineralizované) vody byl použit přístroj s reverzní osmózou ULTRPUR (DeltaChrom, dodavatel Watrex, ČR).

Pro spektrofotometrické analýzy (anthokyany, celkové polyfenoly) byl použit UV-VIS spektrofotometr Helios  $\gamma$  (Spectronic Unicam, USA) a kyvety z optického skla a kyvety z polystyrenu.

Pro analýzu sacharidů byl použit kapalinový chromatograf ECOM: pumpa LCP 4100, termostat LCO 101 (ECOM, ČR) s autosamplerem AS 300 (HTA, Itálie) a refraktometrickým detektorem Laboratorní přístroje Praha (ČR). Vyhodnocení proběhlo softwarem Clarity (DataApex, ČR)

Pro analýzu vitaminu C byl použit kapalinový chromatograf Waters (USA): 1515 Isocratic HPLC Pump, 2487 Dual Absorbance Detector. Vyhodnocení proběhlo pomocí SW Breeze (Waters, USA). Ruční nástřik byl proveden pomocí mikrostříkačky (Hamilton, USA).

Pro analýzu organických kyselin byla použita kapilární zónová elektroforéza PrinCE 460 (Prince technologies, Nizozemsko) s UV detektorem Thermo UV 2000 Spectrasystem (Thermo Fischer Scientific, USA). Vyhodnocení pomocí SW CSW 1.7 (DataApex, ČR).

Pro přípravu vzorků pro analýzu rutinu byl použit přístroj PHWE (vyvinutý na Ústavu analytické chemie Akademie věd Brno, Česká republika), HPLC systém Shimadzu (Japonsko) sestavající se z pumpy GT-104, degaser FCV-10AL, termostat CTO-10A, DAD detektor SPD-M10AVP. Vyhodnocení proběhlo v softwaru CLASS-LC10 (Shimadzu, Japonsko).

Deionizovaná voda byla připravována vždy čerstvá pomocí reverzní osmózy.

Běžné chemikálie byly použity v kvalitě minimálně p.a.: hydroxid sodný (Penta, ČR), kyselina šťavelová, dihydrát, p.a (Lach-Ner, ČR), 5% roztok fenolftaleinu v ethanolu, Folin-Ciocaltauovo činidlo (Penta, ČR) uhličitan sodný, p.a. (Lachema, ČR), kyselina chlorovodíková 35% (Lach-Ner, ČR), chlorid draselný, p.a. (Lach-Ner, ČR), octan sodný, trihydrát, p.a. (Lach-Ner, ČR), dihydrogenuhličitan draselný, p.a. (Sigma-Aldrich, Německo), kyselina monohydrogenfosforečná, ACS reagent, 33-36% (Fluka, Německo), kyselina mravenčí (Lach-Ner, ČR), kyselina *o*-fosforečná (Lach-Ner, ČR), 3,5-dinitrobenzoová kyselina (Sigma-Aldrich, Německo), CTAB (Sigma-Aldrich. Německo), kyselina mravenčí (Lach-Ner, ČR), ethanol (Penta, ČR).

Pro kalibraci pH metru byla použita sada kalibračních pufrů 4,01 a 6,86 (Monokrystaly s.r.o., ČR).

Pro HPLC analýzy byly použity rozpouštědla v kvalitě HPLC grade: acetonitril HPLC grade (Sigma-Aldrich, Německo), methanol HPLC grade (Sigma-Aldrich, Německo).

Použité standardy: kyselina gallová,  $\geq 98.5\%$  (Sigma-Aldrich, Německo), D(-)-fruktosa (99,5 %, ROTH, Německo), D-glukosa (99,8 %, Penta, ČR), sacharosa (99,8 %, Lach-Ner, ČR), kyselina askorbová, p.a. (Riedel-de Haen, Německo), kyselina citronová, bezvodá, p.a. (Lachner, ČR), kyselina L(-) jablečná, p.a. (Lach-Ner, ČR), kyselina D(-) chinová, p.a. (Sigma-Aldrich, Německo). Rutin hydrát,  $\geq 95\%$  (Sigma-Aldrich, Německo), kvercetin, dihydrát (Sigma-Aldrich, Německo).

## 4.2 VZORKY

Pro experimentální část dizertační práce byly použity různé odrůdy několika druhů ovoce: rakytníku řešetlákového, dřínu obecného, jeřábu ptačího, aronie černé a bezu černého, které pocházely z různých stanovišť. Taktéž bylo analyzováno několik druhů ovocných šťáv s podílem šťávy z plodů bezu černého.

Plody všech druhů ovoce byly sbírány ručně v době zralosti, která byla určena pracovníkem šlechtitelské stanice na základě pomologických znaků a dat. Ovoce bylo sbíráno vždy z 2–3 stromků nebo keřů každé odrůdy a po důkladném smíchání z něj byl odebrán směsný vzorek. Z tohoto směsného vzorku byl poté odebrán reprezentativní vzorek pro chemické analýzy.

Vzorky byly z místa sběru převáženy v polystyrenových kontejnerech na suchém ledu v den sběru. Před analýzou byly vzorky skladovány při  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Analýzy probíhaly co nejdříve po jejich sběru (v rámci 1–3 měsíců).

### 4.2.1 Původ vzorků

#### 4.2.1.1 Školní zemědělský podnik Žabčice

Plody rakytníku řešetlákového, dřínu obecného, jeřábu ptačího a aronie černé byly pěstovány v letech 2010–2012 v sadech Školního zemědělského podniku Žabčice Mendelovy univerzity v Brně (MENDELU).

Objekt se nachází přibližně 25 km jižně od města Brna. Průměrná nadmořská výška je 179 m.n.m., průměrný roční úhrn srážek dosahuje 486,6 mm. Hlavní vegetační období s průměrnou denní teplotou vzduchu nad  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  trvá přibližně 175 dní. Školní statek patří mezi nejteplejší a srážkově nejchudší oblasti České republiky [148].

Typ půdy v sadu byl klasifikován jako čtvrtohorní štěrky a částečně aluviální naplaveniny. Půdy v katastru pracoviště jsou neutrální až slabě kyselé s nedostatkem humusu. Různé složení – písčité (převaha) až po půdy jílovité. Nejčastěji genetické půdní typy černozemě, mírně podzolované drnové půdy a nivní půdy glejové [149].

Ovocné druhy jsou zde pěstovány v pásových výsadbách (rakytník, dřín) nebo výsadbou čtvtkmenů (jeřáb) [150].

#### **4.2.1.2 Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy**

Vzorky bezu černého byly pěstovány v letech 2010–2012 ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském v Holovousích.

Objekt se nachází přibližně 30 km severozápadně od Hradce Králové. Průměrná nadmořská výška je přibližně 330 m.n.m., průměrný roční úhrn srážek dosahuje okolo 650 mm. Průměrná denní teplota vzduchu se pohybuje okolo 8,1 °C [151].

#### **4.2.1.3 Agrofrukt Hustopeče**

Hrozny a plody bezů použité pro výrobu šťáv pro senzorickou analýzu (hrozny odrůd Müller Thurgau a Frankovka, bez černý odrůdy Dana) byly pěstovány v roce 2012 v sadech a vinicích firmy Agrofrukt Hustopeče v okolí města Hustopeče. Veškerá produkce je zařazena do ekologického hospodaření. Průměrná nadmořská výška dosahuje 250 m.n.m. Průměrný roční úhrn srážek je 532 mm a průměrná denní teplota se pohybuje okolo 8,8 °C [152].

### **4.2.2 Jednotlivé vzorky**

Tabulka 12 až Tabulka 20 shrnují seznam vzorků použitých v dizertační práci.

*Tabulka 12: Zkoumané odrůdy (celkem 7 odrůd) plodů rakytníku řešetlákového*

Odrůda rakytníku	poddruh	datum sběru			místo sběru
		2010	2011	2012	
Aromat	mongolica	6.8.2010	9.8.2011	-	Žabčice
Botanický	mongolica x rhamoides	2.8.2010	9.8.2011	-	Žabčice
Buchlovický	-	23.8.2010	23.8.2011	17.9.2012	Žabčice
Leicora	rhamnoides	16.8.2010	23.8.2011	17.9.2012	Žabčice
Ljubitelna	mongolica x rhamoides	2.8.2010	9.8.2011	-	Žabčice
Trofimovský	mongolica x rhamoides	2.8.2010	9.8.2011	-	Žabčice
Vitamínová	mongolica	16.8.2010	23.8.2011	17.9.2012	Žabčice

Pozdní dozrávání plodů probíhá u odrůd 'Leicora' a 'Vitamínová'. Jako časně zrající odrůdy jsou považovány odrůdy 'Aromat', 'Ljubitelna', 'Trofimovský' [153].

Tabulka 13: Zkoumané odrůdy (celkem 10 odrůd) plodů dřínu obecného

Odrůda dřínu	Původ odrůdy [20, 150, 153, 154]	datum sběru			místo sběru
		2010	2011	2012	
Elegantní	ukrajinská	-	19.9.2011	15.8.2012	Žabčice
Fruchtal	rakouská	2.9.2010	8.9.2011	15.8.2012	Žabčice
Jolico	rakouská	14.9.2010	19.9.2011	4.9.2012	Žabčice
Lukjanovský	ukrajinská	18.8.2010	19.9.2011	22.8.2012	Žabčice
Olomoucký	česká	2.9.2010	-	22.8.2012	Žabčice
Ruzyňský	česká	23.8.2010	23.8.2011	-	Žabčice
Sokolnický	slovenská	16.8.2010	23.8.2011	15.8.2012	Žabčice
Tišnovský	česká	23.8.2010	23.8.2011	-	Žabčice
Vydubecký	ukrajinská	2.9.2010	12.9.2011	15.8.2012	Žabčice
Vyšegorodský	ukrajinská	-	12.9.2011	15.8.2012	Žabčice

Tabulka 14: Zkoumané odrůdy (celkem 12 odrůd) plodů jeřábu ptačího

Odrůda jeřabin	původ odrůdy [65–69]	datum sběru			místo sběru
		2010	2011	2012	
Alaja Krupnaja	<i>S. a. moravica</i> × <i>Pyrus</i> , Rusko	-	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Burka	<i>S. a.</i> × <i>S. alpina</i> , Rusko	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Businka	z ruské odrůdy 'Kubovaja', Rusko	-	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Discolor	-	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Granatina	<i>S.a.</i> × <i>Crataegus sanguinea</i> × <i>Crataegus laevigata</i> , Slovensko	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Granatnaja	<i>S.a.</i> × <i>Crataegus sanguinea</i> Pall., Rusko	-	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Koncentra	Pillnitz, Německo	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Krasavice	<i>S.a.</i> × <i>Pyrus</i> , Rusko	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Lionora Springer	-	8.10.2010	-	4.9.2012	Žabčice
Sorbinka	<i>S. a. moravica</i>	-	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Titan	<i>S.a.</i> × <i>Pyrus</i> × <i>Malus</i> , z odrůdy 'Burka', Rusko	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice
Velfed	-	8.10.2010	26.10.2011	4.9.2012	Žabčice

Tabulka 15: Zkoumané odrůdy (celkem 2 odrůdy) plodů aronie černé

Odrůda aronie	původ odrůdy [67]	datum sběru			místo sběru
		2010	2011	2012	
Nero	česká	2.8.2010	17.8.2011	8.8.2012	Žabčice
Viking	finská	18.8.2010	-	8.8.2012	Žabčice

Vzorky bezů byly sbírány a analyzovány pro dvě sklizně – rok 2010, 2011.

*Tabulka 16: Zkoumané odrůdy (celkem 17 odrůd) plodů bezu černého*

Odrůda bezu	původ [3, 86]	datum sběru		místo sběru
		2010	2011	
Albida	-	13.9.2010	22.8.2011	Holovousy
Allesö	dánská	2.9.2010	19.8.2011	Holovousy
Aurea	-	24.8.2010	29.8.2011	Holovousy
Bohatka	slovenská	15.9.2010	-	Holovousy
Dana	slovenská	18.8.2010	10.8.2011	Holovousy
Haschberg	rakouská	10.9.2010	22.8.2011	Holovousy
Heidegg 13	-	10.9.2010	9.8.2011	Holovousy
Körsör	dánská	7.8.2010	19.8.2011	Holovousy
Mammut	-	20.8.2010	4.8.2011	Holovousy
Pergarten	-	20.8.2010	19.8.2011	Holovousy
Riese aus Vossloch	rakouská	10.9.2010	24.8.2011	Holovousy
Sambo	slovenská	27.8.2010	17.8.2011	Holovousy
Sambu	dánská	13.8.2010	29.7.2011	Holovousy
Samdal	dánská	20.8.2010	9.8.2011	Holovousy
Sampo	dánská	6.8.2010	29.7.2011	Holovousy
Samyl	dánská	18.8.2010	4.8.2011	Holovousy
Weihenstephan	-	10.9.2010	19.8.2011	Holovousy

Pro analýzu šťáv byly plody odrůd 'Dana' a 'Bohatka' sklizně 2013 sbírány v sadu v Hustopečích.

*Tabulka 17: Vzorky pro analýzu šťáv*

Odrůda bezu	původ [3]	datum sběru	místo sběru
Bohatka	slovenská	18.8.2013	Hustopeče
Dana	slovenská	18.8.2013	Hustopeče

Pro senzorickou analýzu byly dodány firmou Agrofrukt Hustopeče pasterované šťávy (Tabulka 18) v bag-in-boxech. Jednotlivé vzorky nápojů pro senzorickou analýzu (Tabulka 19) byly míchány přímo před posuzováním v senzorické laboratoři.

*Tabulka 18: Vzorky šťáv pro senzorickou analýzu*

typ šťávy	odrůda	místo sběru, sklizeň
bílá hroznová šťáva	Muller Thurgau	Hustopeče, 2012
červená hroznová šťáva	Frankovka	Hustopeče, 2012
bezová šťáva	Dana	Hustopeče, 2012

Tabulka 19: Vzorky nápojů pro senzorickou analýzu

vzorek	obsah jednotlivých složek/šťáv (%)			
	bezová	hroznová bílá	hroznová červená	voda
A	40	30	30	0
B	50	50	0	0
C	50	0	50	0
D	20	0	40	40
E	20	40	0	40
F	20	20	20	40
G	30	70	0	0
H	30	0	70	0

Finální produkt byl zakoupen v maloobchodní síti. Jednalo se o 100% ovocné šťávy balené do skleněných obalů o objemu 0,75 a 0,187 litru se šroubovacím hliníkovým uzávěrem, konzervované pasterací.

Tabulka 20: Vzorek finálního produktu

produkt	složení	výrobce
Jablko-bezinka	90 % jablečný mošt 10 % bezová šťáva z koncentrátu	Réva Rakvice
Hrozen-bezinka	90 % hroznová šťáva 10 % bezová šťáva z koncentrátu	Réva Rakvice

## 4.3 OPTIMALIZACE A VALIDACE ANALYTICKÝCH METOD

Z důvodu rozdílné povahy matrice (jednotlivých druhů ovoce) musely být některé analytické metody optimalizovány a byla ověřena vhodnost jejich použití pro zamýšlené analýzy.

### 4.3.1 Optimalizace podmínek přípravy vzorků

Jednotlivé druhy zkoumaného ovoce mají velmi rozdílnou povahu. Dříny, jeřabiny i aronie obsahují vysoké množství pektinu [3], což značně ztěžuje přípravu šťávy.

Účelem této kapitoly bylo v praxi ověřit přípravu vzorku a srovnat výsledky analýz sledovaných parametrů, tzn. titrovatelných kyselin, celkových polyfenolů a celkových anthokyanů. Testování proběhlo na dvou druzích ovoce: na rakytníku řešetlakovém, odrůda 'Buchlovický' ze sklizně 2010 a na dřín obecném, odrůdě 'Lukjanovský' ze sklizně 2010.

Pro zvolení optimálního přístupu pro přípravu vzorku, byla připravena šťáva a vodný extrakt. Tento postup byl použit pouze pro optimalizaci podmínek.

- *štáva*: přibližně 60 g ovoce bylo mixováno ponorným homogenizátorem. Kapalná část vzorku byla dekantována, tuhé části vzorku byly vymačkány přes 4krát složenou gázu. Takto připravená šťáva byla odstředěna, a supernatant byl podroben analýzám
- *vodný extrakt*: Navážených 25–30 g plodů bylo rozmixováno ponorným homogenizátorem s dílem destilované vody jako extrakčního činidla. Po dvojnásobné extrakci na třepačce a centrifugaci byl roztok zfiltrován, doplněn na celkový objem a podroben analýzám.

Připravená ovocná šťáva nebo vodný extrakt byly podrobeny stejným analýzám – stanovení titrovatelných kyselin, celkových polyfenolů a celkových anthokyanů, které byly měřeny jen pro plody dřínu. U šťáv byla navíc zjištěna hustota a výtěžnost šťávy pro přepočet obsahu analytů na množství čerstvých plodů.

### 4.3.2 Optimalizace podmínek přípravy vzorku pro analýzu vitaminu C

Na základě literární rešerše byla pro stanovení vitaminu C zvolena extrakce do kyseliny monohydrogenfosforečné (metafosforečné). V této kyselině je vitamin C stabilnější.

V dřívější práci [DP] bylo optimalizováno množství vzorku a jeho příprava. Nyní byly ověřeny další postupy pro analýzu: tlouček a třecí miska, homogenizátor a tekutý dusík. Taktéž byly diskutovány další způsoby úpravy vzorku.

Testování optimalizace přípravy vzorku pro stanovení vitaminu C bylo provedeno na odrůdě rakytníku řešetlakového 'Leicora' – datum sběru 2011.

Zmrzlé plody byly homogenizovány tloučkem v třecí misce, laboratorním tyčovým homogenizátorem nebo rozdracením v třecí misce za přítomnosti tekutého dusíku, vždy ve třech přípravách pro každý typ homogenizace. Poté byl stanoven obsah vitaminu C níže uvedenou metodou.

### 4.3.3 Validace analytické metody pro stanovení vitaminu C

Z důvodu isokratické eluce musela být pro každý vzorek optimalizována délka analýzy, aby promýváním kolony došlo k eluci interferujících látek.

V předchozích pracích [155] byl zvolen vhodný separační systém pro stanovení vitaminu C. U metody byly validovány následující parametry: selektivita, LOD, LOQ, linearita, správnost, a přesnost.

#### 4.3.3.1 Selektivita

V rámci selektivity byly prověřeny následující roztoky:

- blank (2% kyseliny monohydrogenfosforečná – extrakční činidlo)
- standardní roztok ( $c_{AA} = 10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) roztok kyseliny askorbové v extrakčním činidle
- roztok vzorku
- vzorek s přídavkem standardního roztoku kyseliny askorbové ( $c_{AA} = 5 \text{ mg.l}^{-1}$ )

Taktéž byly sledovány parametry píku jako retenční čas, asymetrie a počet teoretických pater (výpočet dle USP [156]).

#### 4.3.3.2 Stanovení LOQ a LOD

Na základě detekovaného šumu systému byl stanoven limit kvantifikace (LOQ) a limit detekce (LOD) dle následujících vzorců:

$$LOD = \frac{3,29 \cdot h}{a} \text{ a } LOQ = \frac{10 \cdot h}{a},$$

kde  $h$  je výška šumu v systému (nejlépe dvacetinásobek pološířky píku v polovině výšky píku) a  $a$  je směrnice kalibrační křivky (závislost výšky píku na koncentraci) [157, 158].

Pro samotné vyhodnocení byl používán limit zanedbatelnosti (disregard limit)  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$  nejnižší hladina, na které byla ověřena opakovatelnost systému a zároveň nejnižší bod kalibrační křivky.

#### 4.3.3.3 Linearita a rozsah metody

Linearita byla prověřena v rozsahu  $0,1\text{--}50 \text{ mg.l}^{-1}$ . Při rutinních analýzách byla s každou novou mobilní fází připravena kalibrační křivka v rozsahu minumálně  $5\text{--}40 \text{ mg.l}^{-1}$  kyseliny askorbové na pěti nebo sedmi koncentračních hladinách, každá koncentrační hladina byla dávkována třikrát.

Naměřené hodnoty byly zpracovány v MS Excel pomocí funkce LINREGRESE a lineární závislost byla podrobena následujícím testům:

- kontrola průsečíku s osou  $y$ : Provedeno posouzení použití koeficientu  $b$  kalibrační křivky. Pokud je statistická chyba odhadu  $y$  větší než chyba koeficientu  $b$ , lze použít regresní model ve tvaru  $y = a \cdot x$ .
- kontrola regresního koeficientu regresní rovnice ( $R^2$  by měl být větší než 0,99),
- vizuální inspekce residuálů (residuály jsou rovnoměrně distribuované kolem nuly),
- prověření a vyloučení výsledků podezřelých z odlehlosti pomocí Grubsova testu
- prověření linearity t-testem, F-testem a Mandel testem [158].

V průběhu používání metody při rutinních analýzách byl sledován vývoj směrnice kalibrační křivky pomocí Shewhartova diagramu.

Vzorky byly vždy vhodně ředěny tak, aby byl analyt detekován v pracovním rozsahu metody:  $0,1\text{--}50 \text{ mg.l}^{-1}$ .

#### **4.3.3.4 Přesnost – instrumentální přesnost**

Byla prověřena instrumentální přesnost přístroje následujícím způsobem: standardní roztoky o koncentracích 0,1; 1 a 40 mg/ml byly každý nastríknut 10krát po sobě a bylo vypočítáno a srovnáno jejich RSD.

#### **4.3.3.5 Přesnost – opakovatelnost**

Při běžných analýzách byly prováděny 3 paralelní stanovení pro každou odrůdu sledovaného druhu ovoce a vždy bylo vyhodnoceno RSD a interval spolehlivosti ( $\alpha = 0,05$ ,  $n = 3$ ).

Pro plody rakytníku řešetlákového a dřínu obecného bylo navíc analyzováno 6 paralelních příprav jedné odrůdy a bylo vyhodnoceno RSD a interval spolehlivosti ( $\alpha = 0,05$ ,  $n = 3$ ).

#### **4.3.3.6 Správnost**

Byl sledován vliv matrice na kvantifikaci vitaminu C ve vybraných druzích sledovaného ovoce. K připravenému roztoku rakytníku řešetlákového (odrůda 'Leicora') a dřínu obecného (odrůda 'Jolico') dle kapitoly 4.4.8 bylo přidáno známé množství kyseliny askorbové za vzniku roztoku o výsledné koncentraci 5 mg/l.

Příprava vzorku pro správnost: Přefiltrovaný extrakt z plodů byl pipetován do zkumavky v množství 50 µl. Bylo přidáno stejné množství roztoku standardu a roztok byl naředěn na celkový objem 600 µl 2% MPA. Po promíchání byl roztok podroben analýze.

Byla vypočítána výtěžnost poměrem teoretické ku experimentální koncentraci. Teoretická koncentrace byla vypočítána součtem obsahu vitaminu C v čistém vzorku a teoretického obsahu kyseliny askorbové v přídavku. Experimentální koncentrace byla zjištěna analýzou vzorku s přídavkem známé koncentrace kyseliny askorbové.

### **4.3.4 Optimalizace a validace analytické metody pro stanovení celkových polyfenolů**

#### **4.3.4.1 Optimalizace stanovení celkových polyfenolů**

Literární rešerší [30, 126, 127, 159] bylo zvoleno nejhodnější složení reakční směsi, tzn. poměr vzorku, koncentrace uhličitanu sodného a koncentrace F-C činidla. Poté byla experimentálně optimalizována doba ustalování reakční směsi a vlnová délka absorpčního maxima, při které byla měřena absorbance výsledného roztoku.

Šest standardních roztoků kyseliny gallové o koncentraci  $\sim 300 \text{ mg.l}^{-1}$  bylo připraveno standardním postupem a proměřeny při různých vlnových délkách 740–770 nm v čase 0–180 minut po přípravě v časových intervalech 15–20 minut.

#### **4.3.4.2 Linearita**

Linearita byla proměřena při koncentracích odpovídajících přibližně absorbančnímu rozmezí 0,030–0,800.

Naměřené hodnoty byly zpracovány v MS Excel pomocí funkce LINREGRESE a lineární závislost byla podrobena následujícím testům:

- kontrola průsečíku s osou y, kdy bylo posouzeno použití koeficientu  $b$  kalibrační křivky,
- kontrola regresního koeficientu regresní rovnice,
- vizuální inspekce residuálů,
- prověření a vyloučení výsledků podezřelých z odlehlosti pomocí Grubsova testu
- prověření linearity t-testem, F-testem a Mandel testem [158].

#### **4.3.4.3 Přesnost – opakovatelnost**

Pro nejnižší koncentraci kalibrační křivky 25 mg/l a nejvyšší koncentraci 400 mg/l byla na šesti opakovaných přípravách standardu proměřena opakovatelnost procesu vyvíjení zbarvení. Standardní roztok o dané koncentraci byl pipetován do zkumavky, do každé zkumavky byly přidány složky reakční směsi dle postupu v kapitole 4.4.5 a po předepsaném čase byla změřena absorbance při absorbčním maximu 750 nm.

#### **4.3.4.4 Správnost**

K vodným extraktům plodů rakytníku řešetlákového odrůdy 'Leicora', rok sklizně 2011 a dřínu obecného odrůdy 'Jolico', rok sklizně 2011 bylo přidáno známé množství standardního roztoku kyseliny gallové, aby výsledná koncentrace přidané kyseliny gallové v analyzovaném roztoku byla 50 mg/l. Byla vypočítána jednotlivá a průměrná výtěžnost – vliv matrice extraktu na kvantifikaci kyseliny gallové v roztoku.

### **4.4 POUŽITÉ ANALYTICKÉ METODY**

Z důvodu širokého spektra různých matric, tzn. různé povahy jednotlivých druhů ovoce a produktů, byly prováděné analýzy přizpůsobeny jednotlivým matricím. Pro základní charakterizaci fyzikálně-chemického složení plodů či produktů z jednotlivých druhů ovoce byly použity testy adekvátní evropským normám, jako je gravimetrické stanovení sušiny a titrační kyselost. K využití obsahu biologicky aktivních látek byly použity metody spektrofotometrické: stanovení celkových polyfenolů a stanovení celkových anthokyanů. Vitamin C byl stanoven metodou HPLC. U plodů ze sklizně 2012 byla provedena i identifikace a kvantifikace organických kyselin metodou CZE-UV a sacharidů metodou HPLC-RID. Plody bezu černého byly navíc chromatograficky analyzovány na obsahu rutinu.

#### **4.4.1 Příprava vzorků k analýze**

Vzorky byly připravovány pro analýzy dle povahy stanovení a také na základě složení jednotlivých druhů ovoce.

Pro stanovení sušiny nebylo třeba zvláštní přípravy vzorku, byly použity plody bez další speciální úpravy. Pro snadnější odpařování vody v průběhu sušení byly plody rakytníku, dřínu, jeřabin a aronií rozříznuty přibližně na poloviny. Plody bezu černého byly sušeny vcelku.

Vitamin C byl stanovován nezávisle na ostatních parametrech – popis postupu přípravy vzorku k analýze vitaminu C je popsán v kapitole 4.4.8.

Pro analýzy šťávy bezu černého byla použita čerstvě připravená šťáva (postup viz níže). Pro analýzu rutinu v plodech bezu byla použita PHWE extrakce suchých plodů – viz kapitola 4.4.10.

Stanovení titrovatelných kyselin, organických kyselin, sacharidů, polyfenolů a anthokyanů v plodech rakytníku, dřínu, jeřábu, aronie a bezu bylo provedeno postupem popsaným níže.

##### **4.4.1.1 Příprava šťávy z plodů bezu černého**

Přibližně 150 g odstopkovaných a rozmražených plodů bezu černého byly vsypány do ručního mlýnku na ovoce a odšťavněny. Šťáva byla přefiltrována přes vatu a filtrační papír. Analýzy byly provedeny v den přípravy šťávy.

##### **4.4.1.2 Příprava vodného extraktu (plody ovoce)**

Navážených 40–50 g plodů bylo rozmixováno s asi 100 ml extrakčního činidla ponorným homogenizátorem. Po extrakci na třepačce a centrifugaci byl roztok zfiltrován a doplněn na celkový objem.

Uvedený extrakt byl následně použit pro stanovení anthokyanů, celkových polyfenolů, titrovatelných kyselin, organických kyselin a sacharidů.

#### **4.4.2 Gravimetrické stanovení sušiny**

Přibližně 4–6 g plodů bylo sušeno v sušárně při 70 °C do konstantní hmotnosti (přibližně 24–26 hodin). Z každé odrůdy byly analyzovány 3 vzorky.

#### **4.4.3 Stanovení refraktometrické sušiny**

Ve šťávě z bezu černého připravené dle kapitoly 4.4.1.1 byla refraktometricky stanovena sušina v % sacharosy.

#### **4.4.4 Stanovení titrovatelných kyselin**

25 ml vodného extraktu, popř. šťávy bylo titrováno 0,1M (popř. 0,05M) standardizovaným odměrným roztokem hydroxidu sodného do pH 8,2 [160]. Titrace každého extraktu byla provedena 3krát. Ze spotřeby odměrného roztoku hydroxidu sodného byl vypočítán obsah titrovatelných kyselin vyjádřený v gramech majoritní kyseliny na kilogram ovoce. Pro rakytník, dřín, jeřáb a aronii je majoritní kyselina jablečná, pro bez kyselina citronová.

#### **4.4.5 Stanovení celkových polyfenolů dle Folin-Ciocaltaeuia**

Celkové polyfenoly byly stanoveny spektrofotometricky Folin-Ciocaltaeuovým činidlem.

Kalibrační křivka: Byl připraven zásobní roztok kyseliny gallové v destilované vodě o koncentraci  $1\text{ g.l}^{-1}$ . Z tohoto roztoku byla připravena série kalibračních roztoků v rozsahu  $25\text{--}400\text{ mg.l}^{-1}$ .

Analýza vzorků: Před vlastním měřením byly vzorky extraktu nebo šťávy dle potřeby naředěny a přefiltrovány přes mikrofiltr. Do zkumavky bylo napippetováno 0,1 ml Folin-Ciocaltauova činidla, 1,8 ml vody a 0,1 ml vzorku. Směs byla po promíchání ponechána pět minut stát a poté byl přidán 1 ml 7% roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , směs ve zkumavce byla opět promíchána na vortexu a ponechána 2 hodiny stát k vývoji zbarvení. Po této době byla měřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm proti blanku. Postup přípravy blanku je totožný s postupem přípravy vzorku, pouze místo vzorku bylo přidáno stejně množství vody. Každý vzorek byl proměřen 3x.

Pro výpočet množství celkových polyfenolů byla použita rovnice lineární regrese získaná z kalibrační křivky pro kyselinu gallovou prostřednictvím funkce LINREGRESE v MS Excel. Výsledky byly vyjádřeny v miligramech kyseliny gallové na 100 g čerstvých plodů.

#### **4.4.6 Stanovení celkových anthokyanů pH-diferenční metodou**

Do šesti zkumavek bylo napippetováno po 0,5 ml vzorku vhodně zředěného extraktu nebo šťávy. Poté bylo přidáno do třech zkumavek po 2,5 ml pufru o pH 1 (0,025M roztok chloridu draselného, upravený pomocí HCl na pH 1) a do zbylých třech zkumavek po 2,5 ml pufru o pH 4,5 (0,4M roztok octanu sodného, upravený pomocí HCl na pH 4,5).

Obsah každé zkumavky byl proměřen na spektrofotometru při 510 nm (absorpční maximum kyanidinu-3-glukosidu) a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.

Obsah celkových anthokyanů byl vypočítán odečtem rozdílu absorbancí při pH 4,5 od rozdílu absorbancí při pH 1. Pro výpočet byl použit molární extinkční koeficient  $26\,900\text{ l.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$  a molární hmotnost  $449,2\text{ g.mol}^{-1}$  pro kyanidin-3-glukosid [161].

Obsah celkových anthokyanů byl vyjádřen jako miligramy kyanidin-3-glukosidu na 100 g čerstvých plodů.

#### **4.4.7 Stanovení sacharidů HPLC**

Obsah sacharidů (glukosy, fruktosy a sacharosy) ve vodném extraktu nebo šťávě byl stanoven pomocí HPLC s refraktometrickou detekcí. Extrakt byl pouze zfiltrován přes mikrofiltr a podroben HPLC analýze. Chromatografické podmínky jsou shrnutý v Tabulce 21.

*Tabulka 21: Stanovení sacharidů – chromatografické podmínky*

Kolona	Prevail Carbohydrate ES 5μ, 250x4,6mm
Mobilní fáze	acetonitril:voda (75:25)
Eluce	isokratická
Průtok	1,2 ml.min <sup>-1</sup>
Objem nástřiku	5 μl
Teplota kolony	40 °C
Detekce	refraktometrická
Délka analýzy	10 minut

Integrace píků byla provedena pomocí softwaru Clarity. Kvantifikace byla provedena metodou externího standardu výpočtem z regresní rovnice lineární kalibrační křivky v rozsahu 3–50 g.l<sup>-1</sup>. Každý vzorek byl nastříknut třikrát.

Výsledky byly vyjádřeny v gramech jednotlivých sacharidů na kilogram čerstvých plodů.

#### 4.4.8 Stanovení vitaminu C HPLC

Obsah vitaminu C byl stanoven pomocí HPLC s UV detekcí.

Z dané odrůdy bylo naváženo několik plodů, aby se navážka pohybovala přibližně kolem 4–6 g. Zvážené množství bylo homogenizováno homogenizátorem a zředěno na přesný objem 2% kyselinou monohydrogenfosforečnou. Poté byl obsah odměrné baňky naředěn a přefiltrován přes mikrofiltr.

Chromatografické podmínky jsou shrnuty v Tabulce 22:

*Tabulka 22: Stanovení vitaminu C – chromatografické podmínky*

Kolona	Gemini C18 RP (150 x 4,6 mm; 5 μm)
Předkolona	Security Guard Cartridges, Gemini C18 4 x 3 mm
Mobilní fáze	0,1 mol.l <sup>-1</sup> roztok KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> s obsahem 10 % methanolu
Eluce	isokratická
Průtok	1 ml.min <sup>-1</sup>
Objem nástřiku	20 μl
Teplota kolony	30 °C
Detekce	UV, absorbance při λ = 254 nm
Délka analýzy	4 minuty (+ doba ekvilibrace pro vymýtí interferujících látek)

Data byla sbírána a integrována v programu Breeze.

Kvantifikace byla provedena metodou externího standardu výpočtem z regresní rovnice lineární kalibrační křivky v rozmezí nejméně 5–40 mg.l<sup>-1</sup>. S každou novou mobilní fází byla připravena nová kalibrační křivka.

Z každé odrůdy byly připraveny 3 vzorky, každý nastříknut 3krát.

Výsledky byly vyjádřeny v mg kyseliny askorbové na 100 g čerstvých plodů.

#### 4.4.9 Stanovení organických kyselin CZE

Stanovení organických kyselin (kyselina citronová, jablečná, chinová) bylo provedeno pomocí kapilární zónové elektroforézy s UV nepřímou detekcí. Pro analýzu organických kyselin byl použit vodný extrakt ovoce. Extrakt byl pouze zfiltrován přes mikrofiltr.

Elektroforetické podmínky jsou shrnuty v Tabulce 23:

*Tabulka 23: Stanovení organických kyselin – elektroforetické podmínky*

Kolona	nepokrytá křemenná kapilární kolona s vnitřním průměrem 50 µm, 75 cm celková délka, 25 cm efektivní délka
Nosný elektrolyt	10mM 3,5-dinitrobenzoová kyselina s 0.2 mM CTAB
Promývání před a po analýze	2 M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (1500 kV), nosný elektrolyt, 10 minut každý.
Kondicionace	Před analýzou promyto destilovanou vodou a nosným elektrolytem.
Napětí	mezi analýzami – nosný elektrolyt po 1,5 minuty
Nástřik	30 kV, v negativním módu
Teplota kolony	hydrodynamický, 6 s/ 50 barů
Detekce	25 °C
Délka analýzy	nepřímá, UV, absorbance při λ = 254 nm
	8 minut

Data byla sbírána a integrována v programu CSW 1.7. Kvantifikace byla provedena metodou externího standardu výpočtem z regresní rovnice lineární kalibrační křivky v rozmezí 20–1000 mg.l<sup>-1</sup>. Z každé odrůdy byly připraveny 3 vzorky, každý nastříknut 3krát. Výsledky byly vyjádřeny v mg jednotlivých kyselin na kilogram čerstvých plodů.

#### 4.4.10 Stanovení rutinu HPLC

Příprava vzorku: Po vysušení vzorku (plody bezu černého) a PHWE extrakci (3 pětiminutové cykly při teplotě 100 °C a tlaku 15 MPa) byly vodné roztoky přečištěny a zakoncentrovány přes SPE kolonky (Oasis HLB 3cc 60 mg Extraction Cartridge) dle návodu výrobce. Takto připravený vzorek byl analyzován pomocí HPLC.

Chromatografické podmínky jsou shrnutu Tabulce 24:

*Tabulka 24: Stanovení rutinu – chromatografické podmínky*

Kolona	Supelcosil LC18-DB (250 x 4,6 mm; 5 µm)
Mobilní fáze	methanol:voda:kyselina mravenčí 36:61,5:2,5
Eluce	isokratická
Průtok	1 ml.min <sup>-1</sup>
Objem nástřiku	5 µl
Teplota kolony	30 °C
Detekce	UV, absorbance při λ = 360 nm
Délka analýzy	4 minuty (+ až 11 minut – doba ekvilibrace pro vymýtí interferujících látek)

Data byla sbírána a integrována v programu CLASS-LC10. Kvantifikace byla provedena metodou externího standardu rutinu výpočtem z regresní rovnice lineární kalibrační křivky v rozsahu 5–500 mg.l<sup>-1</sup>.

Z každé odrůdy byly připraveny 3 vzorky, každý nastříknut třikrát. Výsledky byly vyjádřeny v mg.100 g<sup>-1</sup> čerstvých plodů.

## 4.5 SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Připravené bezové a hroznové 100% ovocné šťávy a nektary byly předloženy hodnotitelům v senzorické laboratoři, která byla zařízena v souladu s normou ČSN ISO 8589. Pro senzorické hodnocení bylo vybráno 13 úspěšných absolventů semináře senzorické analýzy a základních senzorických zkoušek z řad studentů a zaměstnanců Fakulty chemické VUT c roli „vybraný posuzovatel“ dle ČSN ISO 5492. Absolvované senzorické zkoušky hodnotitelů probíhaly dle požadavků norem ČSN ISO 5496, ČSN ISO 8586-1 a 2 a ČSN ISO 3972.

Senzorické hodnocení bylo prováděno pomocí sedmibodové kategorové ordinální stupnice dle ČSN ISO 4121, jednotlivé deskriptory chuti byly posuzovány pomocí profilového testu dle ČSN EN ISO 13299 a pořadí přijatelnosti jednotlivých vzorků bylo hodnoceno pořadovou zkouškou podle ČSN ISO 8587.

Jednotlivé vzorky šťáv, značené třímístnými písmennými a číselnými kódy, byly hodnotitelům předkládány při laboratorní teplotě v plastových průhledných kelímcích o objemu 40 ml. Pro neutralizaci chuti byla podávána pitná voda.

Nejprve byly hodnoceny jednotlivé parametry jako vzhled a barva, konzistence, chut' a vůně a celkové hodnocení pomocí sedmibodové kategorové ordinální stupnice (1 = vynikající, 7 = nepřijatelná).

Intenzity jednotlivých deskriptorů chuti (harmonická, ovocná, trpká, kyselá, sladká, bezová, hroznová, jiná) byly posuzovány v rámci profilové testu (1 = neznatelná, 5 = velmi silná).

Na konci dotazníku hodnotitelé pomocí pořadového hédonického testu seřadili vzorky od nejlepšího po nejhorší a posoudili velikost rozdílů mezi posuzovanými vzorky.

Formulář pro senzorické hodnocení šťáv je uveden v Příloze 1.

## 4.6 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Sbírané výsledky byly podrobny základním statistickým testům v MS Excel 2003 (Microsoft) (standardní odchylka, interval spolehlivosti ( $\alpha = 0,05$ ), lineární regrese).

Linearita byla vyhodnocena pomocí F-testu a t-testu na statistické hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a Mandel testu na statistické hladině významnosti  $\alpha = 0,01$  [158].

Naměřená data u analýz plodů byla podrobena Dean-Dixonovu testu pro testování odlehlosti výsledků, statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami byly zkoumány pomocí Duncanova testu (Statistica 12, StatSoft) a na základě jeho výsledků rozděleny do skupin.

Krabicové grafy byly zpracovány v programu Statistica 12 (StatSoft).

Celková data byla interpretována použitím statistických testů: Analýza hlavních komponent (PCA) a shlukové analýzy (CLU) v programu XLStat 2014 (Addison).

Data ze senzorického hodnocení pomocí kategorové ordinální stupnice byla statisticky zpracována Kruskall-Wallisovým testem a následně Nemenyiho vícenásobným párovým porovnáním. Pořadový test byl vyhodnocen pomocí Friedmannova testu.

Všechny testy byly provedeny pro statistickou hladinu významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 OPTIMALIZACE ANALYTICKÝCH METOD

Před vlastním použitím analytických metod byly jednotlivé postupy optimalizovány s důrazem na typ matrice a analytické techniky.

Byla provedena optimalizace způsobu přípravy vzorku k jednotlivým analýzám, i vlastních analytických metod.

#### 5.1.1 Optimalizace podmínek přípravy vzorku

Účelem bylo najít vhodnou techniku pro přípravu vzorku ovoce k analýzám sledovaných parametrů. Ve spolupráci s průmyslem byla jako primární využití sledovaného ovoce zvolena výroba šťávy. Jelikož laboratorní příprava šťávy vyžaduje velké množství vzorku a nedokáže plně nahradit průmyslová výrobní zařízení a technologie, byla hledána alternativa, která může částečně suplovat tento výrobek.

Byly sledovány vybrané parametry jako titrovatelné kyseliny, polyfenoly a anthokyany ve šťávě a extraktu z rakytníku a dřínu.

Tabulka 25: Srovnání výsledků analýz různé přípravy vzorku pro rakytník řešetlákový

parametr	štáva	extrakt
titrovatelné kyseliny ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$16,10 \pm 0,23$	$11,57 \pm 0,12$
polyfenoly ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$1,24 \pm 0,03$	$2,98 \pm 0,09$

U plodů rakytníku byl nalezen rozdíl v hodnotách sledovaných parametrů v obou různých přípravách (Tabulka 25). Zatímco obsah titrovatelných kyselin byl ve šťávě vyšší, obsah polyfenolů byl nižší. Hodnoty však řádově odpovídaly.

Příprava vodného extraktu byla v porovnání s přípravou šťávy výrazně jednodušší. Extrakt nevyžadoval dalšího ředění a jeho množství bylo dostatečné.

Pro přípravu šťávy byl použit mixér, jelikož množství vzorku 40–50 gramů bylo příliš malé pro lisování. Šťáva připravená z rozmixovaného ovoce byla příliš hustá, i po ručním lisování přes gázu. Jelikož plody rakytníku řešetlákového obsahují velké množství olejů, po centrifugaci se vytvořila na povrchu poměrně vysoká vrstva tukových složek. Pro další analýzy musel být vzorek 5–10krát ředěn, také pro výpočet obsahu analyzovaných látek v ovoci bylo třeba stanovit hustotu šťávy a její výtěžnost.

Tabulka 26: Srovnání výsledků analýz různé přípravy vzorku pro dřín obecný

parametr	štáva	extrakt
titrovatelné kyseliny ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	-	23,88
polyfenoly ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	-	1,55
anthokyany ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	-	290

Kvůli vysokému obsahu pektinu [3] v plodech dřínu se šťávu nepodařilo připravit. Po homogenizaci vzniklo pyré, které zůstalo i po centrifugaci a zamezovalo jakékoli filtraci a dalšímu zpracování a analyzování šťávy. Experiment byl tedy dokončen jen pro vodný extrakt.

Pro rutinní analýzy byla zvolena příprava vzorku k analýzám pomocí extrakce do destilované vody.

### 5.1.2 Optimalizace podmínek přípravy vzorku – vitamin C

Kyselina askorbová je málo stabilní látka a ochotně se rozkládá na kyselinu dehydroaskorbovou a dále ireverzibilně na kyselinu diketogulonovou, viz kapitola 2.2.1 [100]. Stabilnější je především v kyselém prostředí, pro její stabilizaci se používá několik látek – nejčastěji kyselina monohydrogenfosforečná.

Bez černý, aronie černá a v menší míře jeřáb ptačí a dřín obecný obsahují velký podíl anthokyanových barviv a fenolických látek, které jsou méně polární a mohly by být eluovány při HPLC analýze vitaminu C, jelikož mnohé alespoň částečně absorbují při stejně vlnové délce (254 nm) [122, 130]. Tím by mohly prodlužovat analýzu svou vyšší retencí v systému s reverzní fází. Taktéž vlivem komplexnější matrice by mohlo dojít ke koeluci podobně polárních látek a zhoršovat tak identifikaci a kvantifikaci kyseliny askorbové.

Proto by bylo nejlepší tyto látky předem odseparovat pomocí vhodných technik – např. SPE (extrakce na pevnou fázi), která se velmi často používá pro úpravu vzorků před analýzou pomocí HPLC.

Vzhledem k povaze matrice, tj. komplexní směsi především polárních látek jako jsou organické kyseliny, fenolické látky, cukry apod., a nestabilnímu a silně polárnímu analytu (kyselina askorbová) je velmi těžké najít vhodné SPE kolonky pro její extrakci. Je možno použít dva přístupy – zadržet ostatní interferující látky na SPE koloně nebo zadržet přímo kyselinu askorbovou.

První z přístupů vyžaduje podobně jako HPLC použití nejlépe oktadecylsilylových náplní, které jen minimálně zadržují polární sloučeniny, kterou je i kyselina askorbová. Stále ale nejsou příliš selektivní pro některé typy vzorků, které mohou obsahovat látky eluující v podobném retenčním čase jako kyselina askorbová. Tento přístup však může být vhodný pro přečištění vzorku od látek, absorbujících také při 254 nm a eluujících mnohem později než kyselina askorbová, prodlužujících tak celkový čas analýzy.

Druhý přístup zadržuje kyselinu askorbovou na SPE kolonce a po promytí je eluován vhodným rozpouštědlem. Vzhledem k značné nestabilitě kyseliny askorbové a nutnosti pro toto eluci použít zásadité vodné roztoky, je tento přístup nevhodný. Eluce do organických rozpouštědel obecně není vhodná při použití převážně vodních mobilních fází s minimálním podílem organické fáze (např. 10% obsahem methanolu), jako v případě této analytické metody (viz kapitola 4.4.8). Pokud by byl analyzován vzorek rozpuštěný v organickém rozpouštědle, bylo by vhodné separovat látky pomocí systému HILIC [162].

Kvůli nestabilitě kyseliny askorbové byly testovány různé postupy homogenizace vzorku při přípravě na HPLC analýzu. Analyzované vzorky byly připravovány k analýze vždy bezprostředně po vytažení z mrazáku a homogenizace byla provedena co nejrychleji. Pro eliminaci možné degradace kyseliny askorbové pomocí světla byly všechny roztoky připravovány do tmavého odměrného skla.

Původní postup homogenizace nebyl dostačující kvůli špatné manipulaci se vzorky a jejich nepříliš důkladné homogenizaci. Při podchlazení vzorku pomocí tekutého dusíku proběhla homogenizace daleko lépe, po převedení vzorku do odměrné baňky byl vzduch nad hladinou obsahu odměrné baňky vytlačen plynným dusíkem – vytvořením inertní atmosféry zabraňující přístupu kyslíku. Nejjednoduší postup při přípravě vzorku byl testován v třetím případě –

za použití homogenizátoru, pomocí kterého se dalo rychle a účinně připravit vzorek k analýze. Nevýhodou homogenizátoru je nerezový materiál, který by mohl způsobovat částečnou degradaci kyseliny askorbové. Taktéž mezi zuby rotoru tyčového homogenizátoru se lehce zachytávaly pevné části matrice a nemuselo tak dojít k jejich dostatečné homogenizaci a následné extrakci kyseliny askorbové do roztoku.

*Tabulka 27: Obsah vitaminu C v rakytníku řešetlákovém stanovený různými homogenizačními technikami*

typ homogenizace	obsah vitaminu C ± IS (95 %) (n = 3)	rozsah IS
tlouček a třecí miska – MPA	271,89 ± 15,27	256,61–287,16
tlouček a třecí miska – tekutý dusík	274,99 ± 4,13	270,86–279,12
homogenizátor	277,45 ± 5,48	271,96–282,93

Tabulka 27 shrnuje výsledky dosažené různou homogenizací vzorku. Při porovnání rozsahu intervalů spolehlivosti nebyl nalezen rozdíl mezi jednotlivými přístupy v průměrných hodnotách, avšak velikost intervalu spolehlivosti jednotlivých průměrů naznačuje, že příprava pomocí tloučku a třecí misky je méně přesná (stanovení má vyšší rozptyl) právě díky nedostatečné homogenizaci vzorku.

Jelikož je připravený vzorek ihned analyzován, možná výhoda skladování pod inertní atmosférou se neprojevila. Pomocí všech třech technik bylo dosaženo stejného průměrného výsledku, avšak příprava pomocí tloučku a třecí misky je méně vhodná pro svou nedostatečnou přesnost. Pro jednoduchou manipulaci byl používán pro přípravu vzorků pro analýzu vitaminu C tyčový homogenizátor.

### 5.1.3 Validace analytické metody pro stanovení vitaminu C

Validace analytické metody slouží k posouzení její vhodnosti pro daný účel. Celý proces zahrnuje několik dílčích testů, kterými je prověřeno, že metoda poskytuje správné a opakovatelné výsledky nejen v rámci prvotní validace metody, ale po celou dobu jejího používání [158, 162].

#### 5.1.3.1 Selektivita

Selektivitou bylo prověřeno, že nedochází k interferencím píku kyseliny askorbové s jinými složkami analyzované směsi a že pík je dostatečně oddělen od jiných píků – především od píku rozpouštědla kyseliny monohydrogenfosforečné s retenčním časem 1,6 minuty (Obrázek 2). Při vlnové délce detekce  $\lambda = 254$  nm absorbuje velká řada sloučenin. Ovoce je komplexní směsí látek hydrofilní i hydrofobní povahy – k interferencím tedy nemusí docházet přímo s píkem, ale může docházet i při dostatečném nevymýtí složky ze systému – přenos do dalšího nástřiku, či s jinými složkami vzorku.

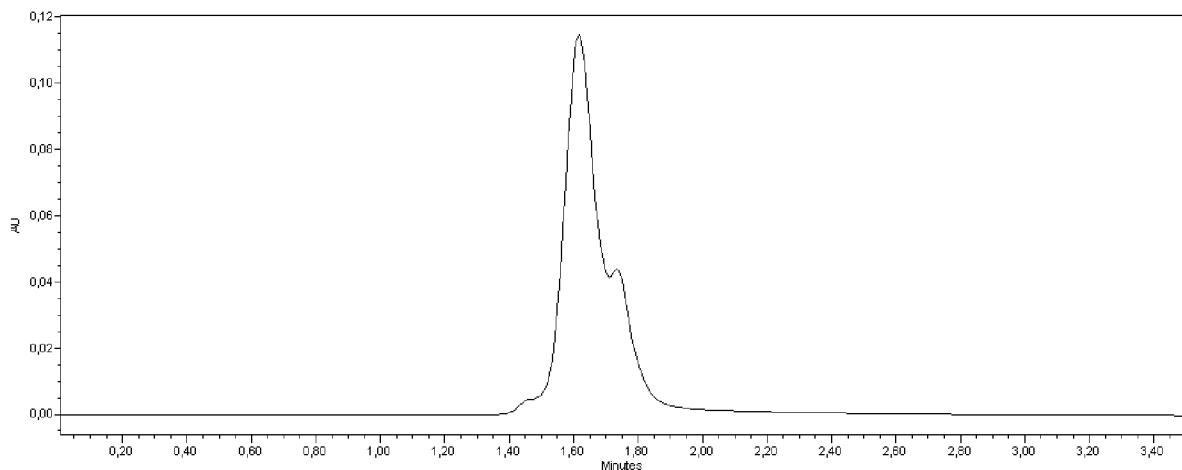
Kyselina askorbová byla v dizertační práci analyzována isokratickou elucí. U roztoku vzorku byla prodloužena doba analýzy, aby došlo k eluci látek s retenčním časem delším než standardní doba analýzy (přibližně 4 minuty) – viz Obrázek 6.

Pro standardní roztok  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  byly sledovány základní charakteristiky píku kyseliny askorbové – Tabulka 28.

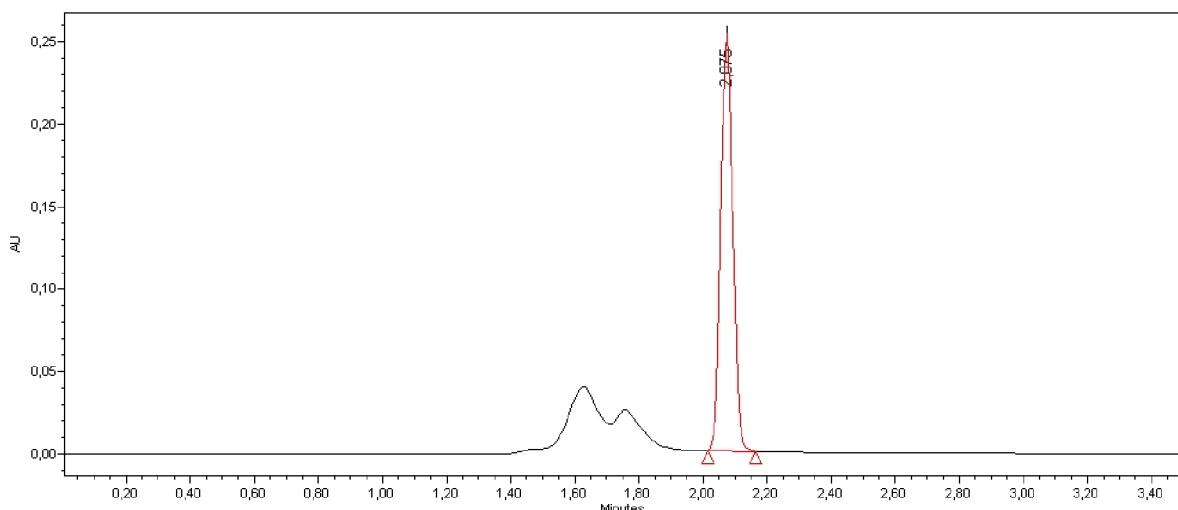
Kromě roztoku blanku (Obrázek 2) a roztoku standardu (Obrázek 3) byl prověřen i roztok vzorku s přídavkem standardního roztoku kyseliny askorbové (Obrázek 5).

Tabulka 28: Základní charakteristiky píku kyseliny askorbové:

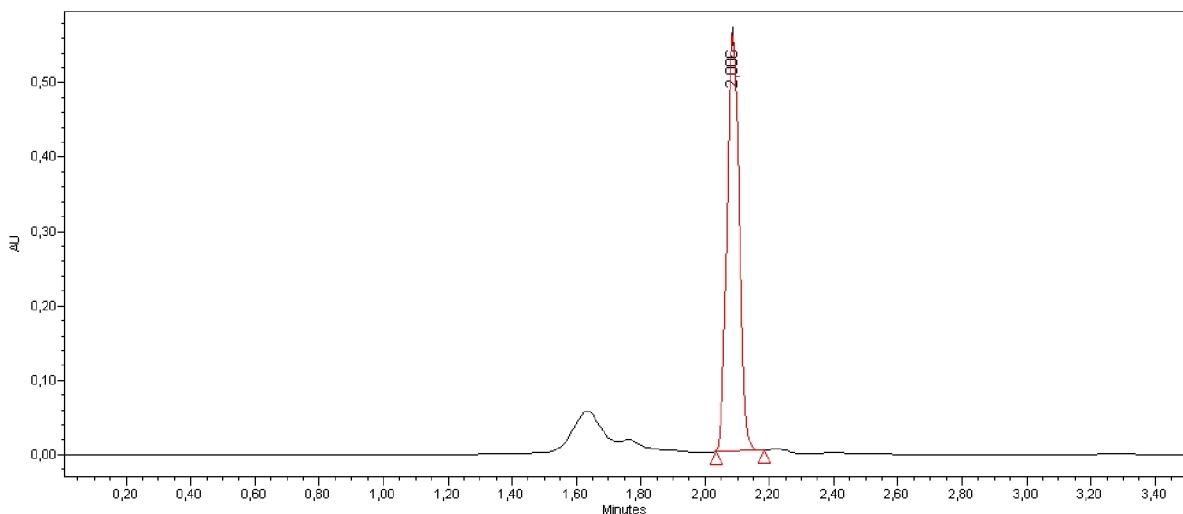
průměrný retenční čas	2,1 min
asymetrie	1,0
počet teoretických pater	11779



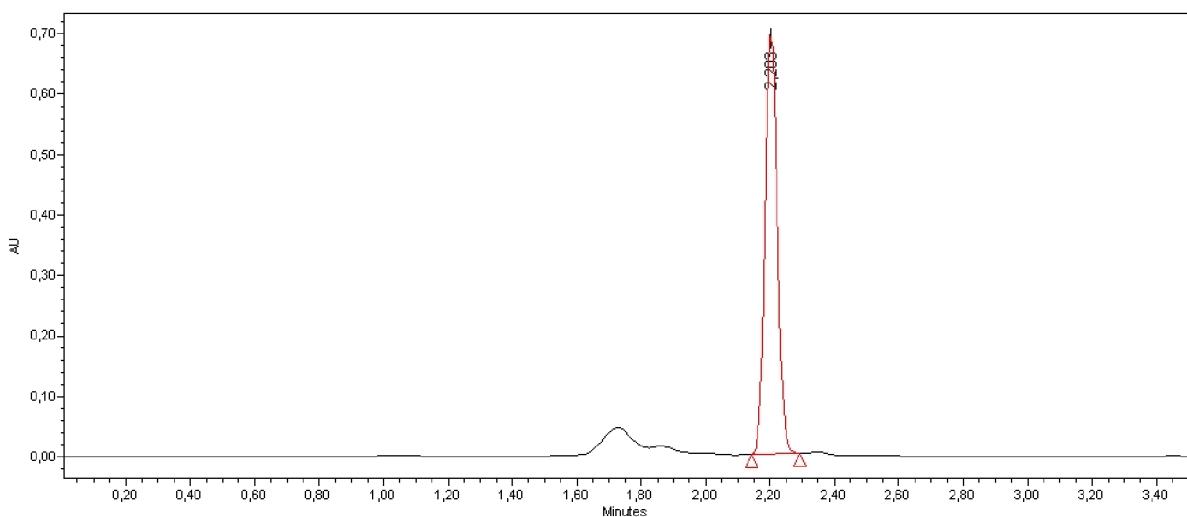
Obrázek 2: Blank – 2% kyselina monohydrogenfosforečná (MPA)



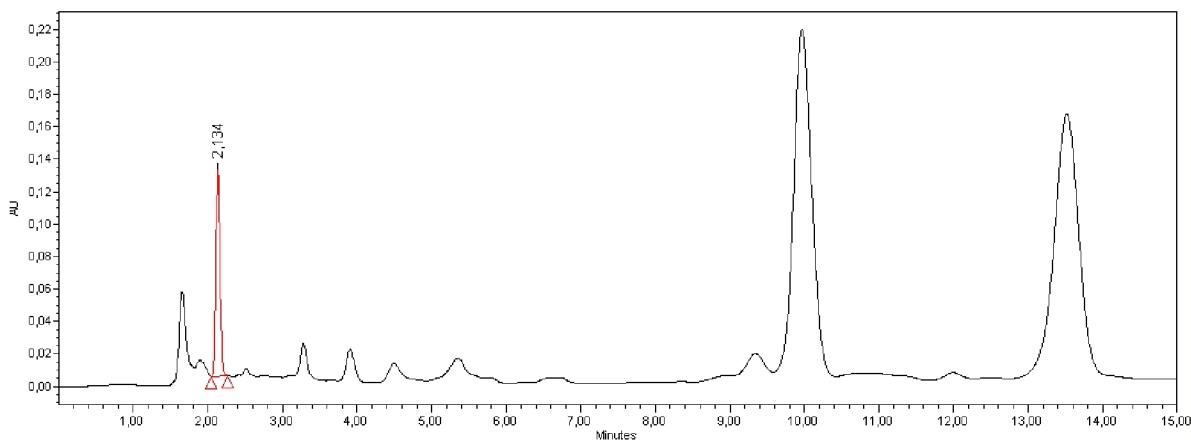
Obrázek 3: Standardní roztok kyseliny askorbové o koncentraci  $10 \text{ mg.l}^{-1}$



Obrázek 4: Roztok vzorku – rakytník řešetlákový, odrůda Leicora



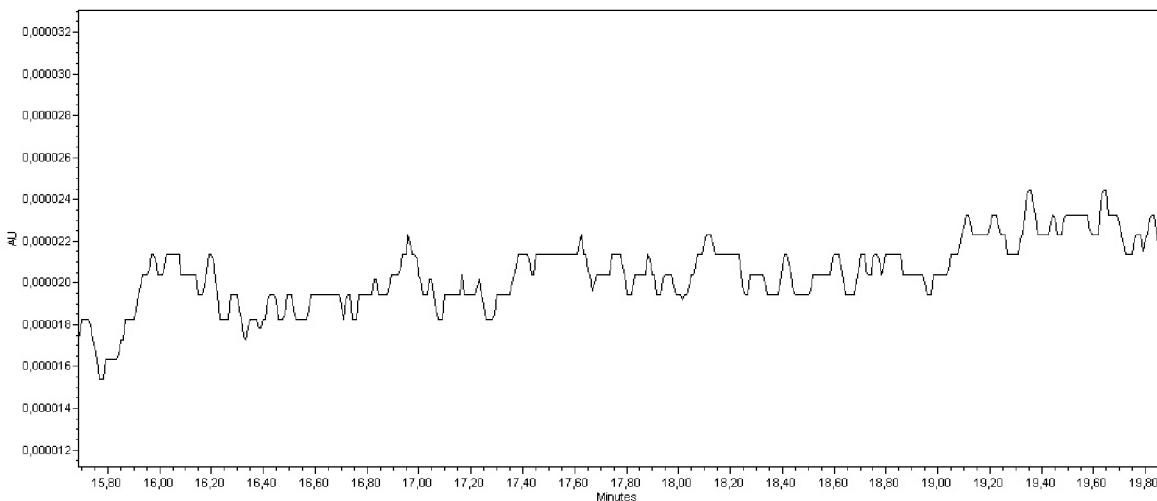
Obrázek 5: Roztok vzorku rakytníku řešetlákového, odrůdy Leicora, s přídavkem standardního roztoku kyseliny askorbové o koncentraci  $5 \text{ mg.l}^{-1}$



Obrázek 6: Roztok vzorku – Aronie černá – odrůda Nero

### 5.1.3.2 LOQ, LOD

LOD a LOQ byly stanoveny na základě šumu základní linie chromatogramu (Obrázek 7) výpočtem ze vzorců uvedených v kapitole 4.3.3.2. Tabulka 29 znázorňuje vypočítané LOD a LOQ pomocí směrnice kalibrační křivky závislosti výšky píku na koncentraci kyseliny askorbové.

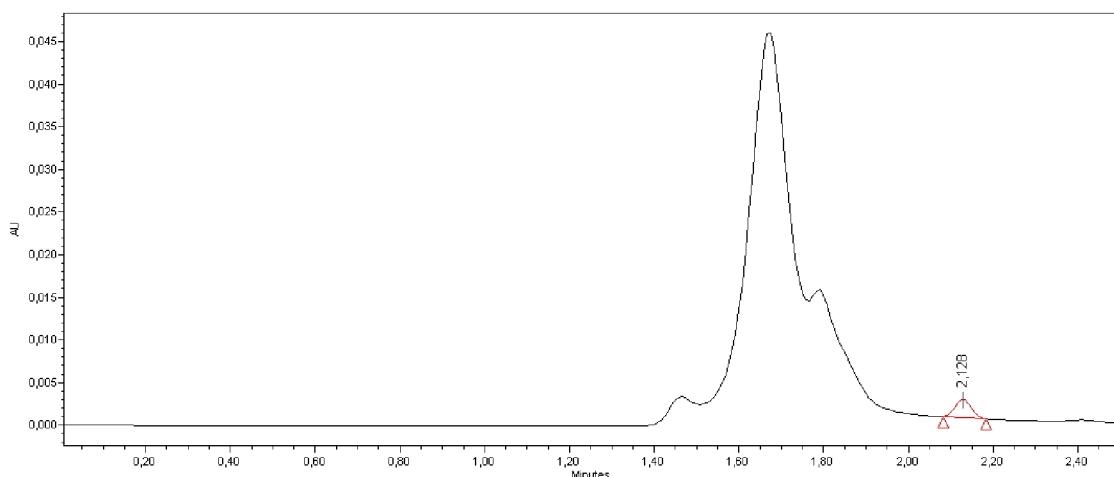


Obrázek 7: Šum základní linie chromatogramu v rozsahu 4 minut

Tabulka 29: LOD a LOQ pro stanovení vitaminu C

výška šumu (oblast 4 minut) $h$	9 $\mu\text{A}$
směrnice kalibrační křivky $a$	24093
LOD	0,001 $\text{mg.l}^{-1}$
LOQ	0,004 $\text{mg.l}^{-1}$

Jelikož stálost základní linie silně závisí na promytí systému a stavu detektoru, zejména stáří lampy, a může být proměnlivá [162], byl v praxi používán limit zanedbatelnosti (disregard limit)  $c = 0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tato koncentrace odpovídá nejnižšímu bodu kalibrační křivky, na kterém byla provedena instrumentální přesnost – viz kapitola 5.1.3.4.

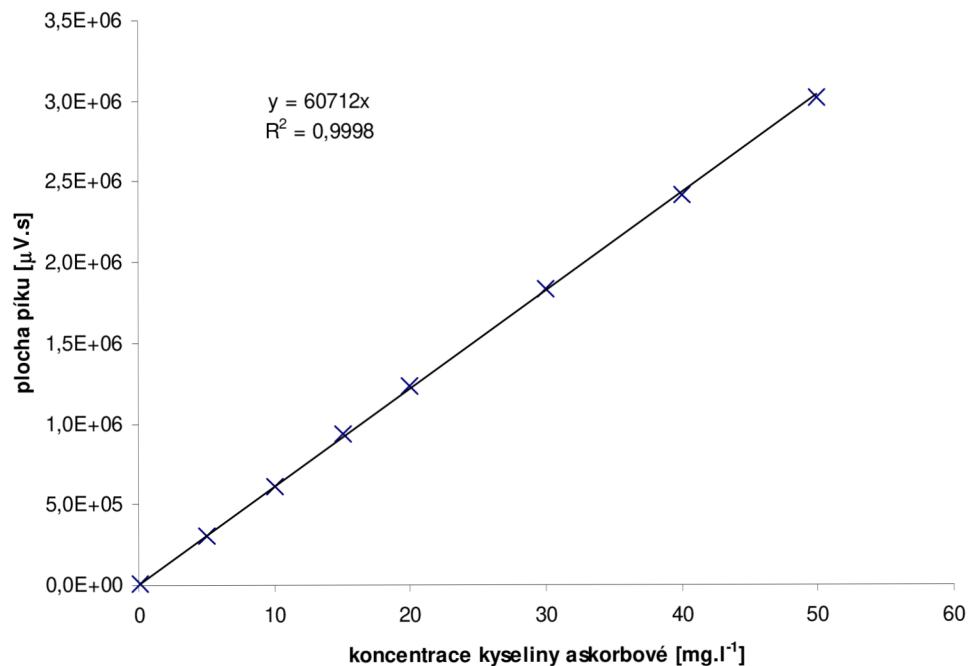


Obrázek 8: Limit zanedbatelnosti – standardní roztok kyseliny askorbové o koncentraci  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$

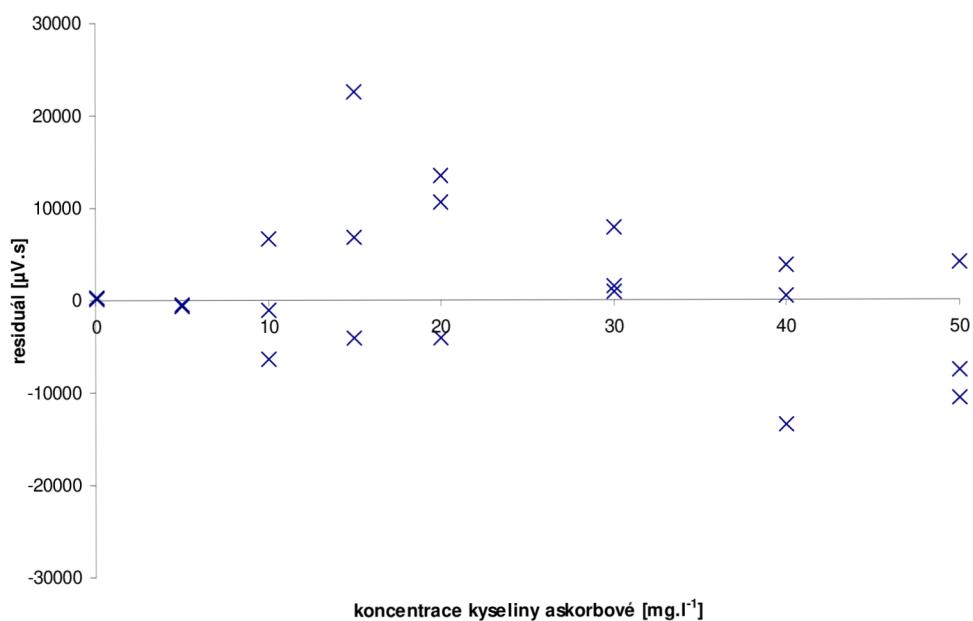
### 5.1.3.3 Linearita

Byla prověřena linearita závislosti plochy píku kyseliny askorbové na koncentraci kyseliny askorbové ve standardním roztoku.

Na Obrázku 9 je znázorněna vzorová kalibrační křivka kyseliny askorbové v rozsahu koncentrací  $0,1\text{--}50 \text{ mg.l}^{-1}$  a graf na Obrázku 10 znázorňuje residiuály pro tuto kalibrační závislost.



Obrázek 9: Stanovení vitaminu C: kalibrační křivka



Obrázek 10: Stanovení vitaminu C: Residuály kalibrační křivky

Z předloženého grafu residuálů (Obrázek 10) lze vizuálním posouzením odhalit, že jsou hodnoty rovnoměrně distribuované kolem nuly a závislost lze považovat za lineární (ověřeno Mandel testem na statistické hladině významnosti  $\alpha = 0,01$ ). Taktéž zde nejsou přítomny žádné body podezřelé z odlehlosti, což je ověřeno Grubbsovým testem na statistické hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

V průběhu používání analytické metody pro rutinní analýzy v letech 2010–2012 byl sledován vývoj hodnot pro směrnici kalibrační křivky pomocí Shewhartova diagramu.



Obrázek 11: Stanovení vitaminu C: Shewhartův diagram směrnice kalibrační křivky (horní a dolní regulační mez je vyznačena plnou červenou čárou, varovné meze jsou označeny přerušovanou červenou čárou)

Schewhartův diagram je jedním z nástrojů, jak sledovat analytickou metodu v průběhu jejího používání. Lze sledovat různé významné charakteristiky píku, jako např. počet teoretických pater, rozlišení, asymetrii apod., a v průběhu hodnotit, zda nedochází k procesům, jež by mohly negativně ovlivnit správnost nebo přesnost poskytovaných výsledků [157, 158].

Z Schewhartova diagramu na Obrázku 11 lze snadno odhalit změny, které proběhly v průběhu používání analytické metody: výměna kolony v bodě 27 a 36. Rozkolísání směrnice mezi body 16–26 je nejspíše způsobeno stářím původní kolony, která měla při výměně kolem 3000 nástříků. S použitím poslední kolony (body 36–42) se průměrná hodnota směrnice posunula blízko k horní regulační mezi, která odpovídá trojnásobku směrodatné odchylky průměru všech použitých směrnic. Jelikož obsah vitaminu C je vždy počítán pomocí kalibrační křivky sestavené analýzou standardů s každou novou přípravou mobilní fáze, možné odchylky od průměrné hodnoty směrnice jsou tak kompenzovány.

Pokud by se i nadále hodnoty pohybovaly blízko horní regulační meze, bylo by vhodné pro ověření znova otestovat správnost metody, zda nedochází k interferencím s matricí, a tedy zda tato změna hodnoty směrnice nemá vliv na správnost a kvalitu poskytovaných výsledků.

#### 5.1.3.4 Instrumentální přesnost

Byla prověřena instrumentální přesnost pomocí deseti následných nástříků standardního roztoku kyseliny askorbové o koncentracích 0,1; 1 a 40 mg/ml.

*Tabulka 30: Stanovení vitaminu C: instrumentální přesnost*

	koncentrace standardu (mg.l <sup>-1</sup> )		
	0,1	1	40
1	6038	67411	2814939
2	6005	67692	2808672
3	5995	67721	2766888
4	5931	67745	2780804
5	5937	66524	2772935
6	5813	68067	2769308
7	5831	67589	2765168
8	5751	68338	2767015
9	5662	67442	2815961
10	5697	67344	2786459
průměr ploch píku kyseliny askorbové	5866	67587	2784815
směrodatná odchylka	127	457	19676
<b>RSD (%)</b>	<b>2,17</b>	<b>0,68</b>	<b>0,71</b>

HPLC přístroj používaný pro analýzu vitaminu C není vybaven autosamplerem a smyčka šesticestného ventilu je plněna ručně pomocí stříkačky, což může být jeden ze zdrojů nepřesnosti měření. Vliv může mít např. rychlosť otočení ventilu, důkladnost promytí dávkovací smyčky.

Taktéž kyselina askorbová je ve zředěných roztocích značně nestabilní [108], čemuž odpovídá i trend poklesu ploch u roztoků s nízkou koncentrací ( $c_{AA} = 0,1 \text{ mg.ml}^{-1}$ ). Při přípravě především standardních roztoků o nízkých koncentracích je tedy třeba postupovat při analýzách rychle, mezi nástříky nejlépe skladovat roztok v lednici a důsledně dbát na možné další oxidační vlivy jako je světlo a vzduch.

#### 5.1.3.5 Přesnost – opakovatelnost

Tabulka 31 znázorňuje přesnost stanovení obsahu vitaminu C v dvou modelových druzích ovoce – rakytníku řešetlákovém a dřínu obecném. Z výsledků i z vlastního pozorování při měření vyplývá, že příprava vzorku dřínu pro analýzu je náchylnější k chybám, což vyplývá ze samotné povahy matrice, kterou je dužina s vysokým obsahem pektinu [3].

Tabulka 31: Stanovení vitaminu C: Přesnost - opakovatelnost

	obsah vitaminu C v ovoci (mg.100g <sup>-1</sup> plodů)	
	rakytník řešetlákový	dřín obecný
	odrůda Leicora	odrůda Fruchtal
1	271,83	31,84
2	280,11	37,58
3	273,04	35,75
4	280,30	30,46
5	281,41	35,47
6	270,62	34,36
průměrný obsah ± IS (95 %, n=6)	276,22 ± 3,57	34,24 ± 1,93
<b>RSD (%)</b>	<b>1,62</b>	<b>7,05</b>

#### 5.1.3.6 Správnost

Byl sledován vliv matrice na kvantifikaci vitaminu C pomocí přídavku roztoku standardu kyseliny askorbové.

Při vlnové délce 254 nm absorbuje celá řada látek. V matrici ovoce se mohou vyskytovat další analyty se stejným retenčním časem jako kyselina askorbová, které by mohly zkreslovat její kvantifikaci. K zfiltrovanému vzorku bylo přidáno známé množství kyseliny askorbové a vzorek s přídavkem byl analyzován jako běžně připravený vzorek. Porovnáním jejich obsahů byla zjištěna výtěžnost (viz Tabulka 32 a Tabulka 33), která se pohybovala kolem 100 %. V případě rakytníku řešetlákového výtěžnost kolísala od 95,42 do 103,11 % a u dřínu obecného mezi 94,09 a 103,31 %. Bylo tak prokázáno, že kyselina askorbová je separována od ostatních složek matrice, které mohou být detekovány při stejné vlnové délce.

Tabulka 32: Správnost – vliv matrice – rakytník řešetlákový

	1	2	3
stanovená c (AA) ve vzorku rakytníku (mg/l)	22,64	22,82	23,69
stanovená c (AA) ve vzorku s přídavkem standardu (mg/l)	28,50	27,87	27,37
teoretická c (AA) přídavku standardu (mg/l)	5,00	5,00	5,00
teoretická c (AA) ve vzorku (mg/l) (vzorek + příplatek standardu)	27,64	27,82	28,69
<b>výtěžnost (%)</b>	<b>103,11</b>	<b>100,17</b>	<b>95,42</b>
<b>průměrná výtěžnost (%) ± IS (95 %, n=3)</b>	<b>99,57 ± 3,59</b>		

Tabulka 33: Správnost – vliv matrice – dřín obecný

	1	2	3
stanovená c (AA) ve vzorku dřínu (mg/l)	20,22	21,27	21,06
stanovená c (AA) ve vzorku s přídavkem standardu (mg/l)	23,73	27,14	25,69
teoretická c (AA) přídavku standardu (mg/l)	5,00	5,00	5,00
teoretická c (AA) ve vzorku (mg/l) (vzorek + příplatek standardu)	25,22	26,27	26,06
<b>výtěžnost (%)</b>	<b>94,09</b>	<b>103,31</b>	<b>98,58</b>
<b>průměrná výtěžnost (%) ± IS (95 %, n=3)</b>	<b>98,66 ± 4,26</b>		

## 5.1.4 Optimalizace a validace analytické metody pro stanovení celkových polyfenolů

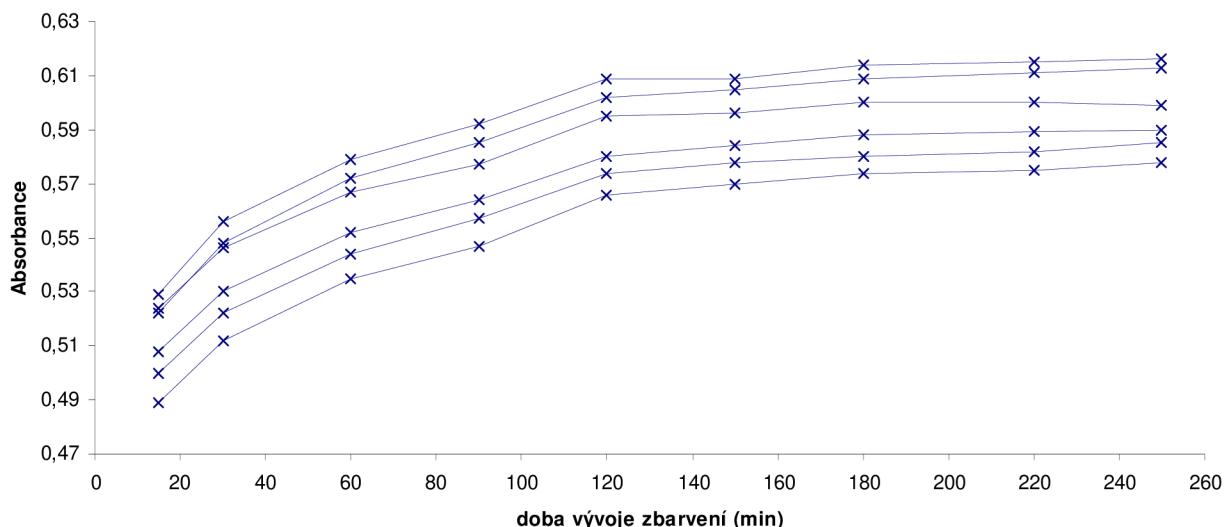
### 5.1.4.1 Optimalizace

Šest standardních roztoků kyseliny gallové o koncentraci  $\sim 300 \text{ mg.l}^{-1}$  bylo připraveno standardním postupem a proměněny při různých vlnových délkách 740–770 nm v čase 0–180 minut po přípravě v časových intervalech 15–40 minut pro zjištění nejvhodnějšího času pro odečet absorbance vyváženého roztoku.

Tabulka 34: Závislost intenzity zbarvení roztoku na době jeho vyvážení

	doba vyvážení roztoku (min)								
	15	30	60	90	120	150	180	220	250
1	0,529	0,556	0,579	0,592	0,609	0,609	0,614	0,615	0,616
2	0,522	0,548	0,572	0,585	0,602	0,605	0,609	0,611	0,613
3	0,500	0,522	0,544	0,557	0,574	0,578	0,580	0,582	0,585
4	0,489	0,512	0,535	0,547	0,566	0,570	0,574	0,575	0,578
5	0,524	0,546	0,567	0,577	0,595	0,596	0,600	0,600	0,599
6	0,508	0,530	0,552	0,564	0,580	0,584	0,588	0,589	0,590
RSD (%)	2,79	2,90	2,81	2,76	2,63	2,40	2,47	2,46	2,34
průměr	0,512	0,536	0,558	0,570	0,588	0,590	0,594	0,595	0,597
rozdíl <sup>1</sup>	-	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,003</b>	<b>0,004</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>

Závislost intenzity zbarvení na čase



Obrázek 12: Závislost intenzity zbarvení na čase

Vizuálním posouzením závislosti intenzity zbarvení standardního roztoku na čase lze sledovat stálý nárůst jeho intenzity, měřené jako absorbance při 750 nm. Po čase 120 minut už absorbance od předchozího časového bodu narůstá přibližně 10krát méně (viz Tabulka 34).

<sup>1</sup> Rozdíl mezi průměrnou hodnotou absorbance při sledovaném časovém bodě a průměrnou hodnotou absorbance předchozího časového bodu.

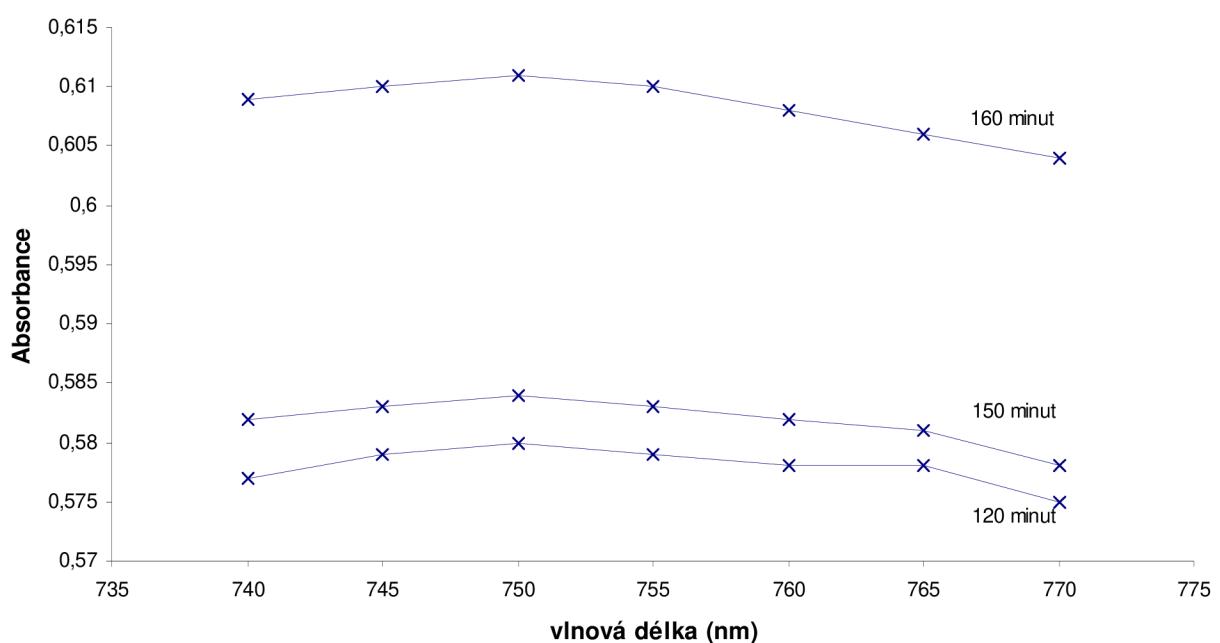
Pro rutinní analýzy byla tedy zvolena doba vývoje směsi na 120 minut od jejich přípravy. Po uplynutí této doby byla odečítána absorbance roztoků vzorků i roztoků standardu.

Tabulka 35 a Obrázek 13 znázorňují testování absorbčního maxima modrého komplexu vzniklého reakcí redukujících látek v roztoku vzorku s F-C činidlem a dalšími složkami směsi.

*Tabulka 35: Závislost intenzity zbarvení na vlnové délce měření*

Vlnová délka (nm)	Absorbance		
	po 120 minutách	po 150 minutách	po 160 minutách
740	0,577	0,582	0,609
745	0,579	0,583	0,610
<b>750</b>	<b>0,580</b>	<b>0,584</b>	<b>0,611</b>
755	0,579	0,583	0,610
760	0,578	0,582	0,608
765	0,578	0,581	0,606
770	0,575	0,578	0,604

**Závislost intenzity zbarvení na vlnové délce a čase**



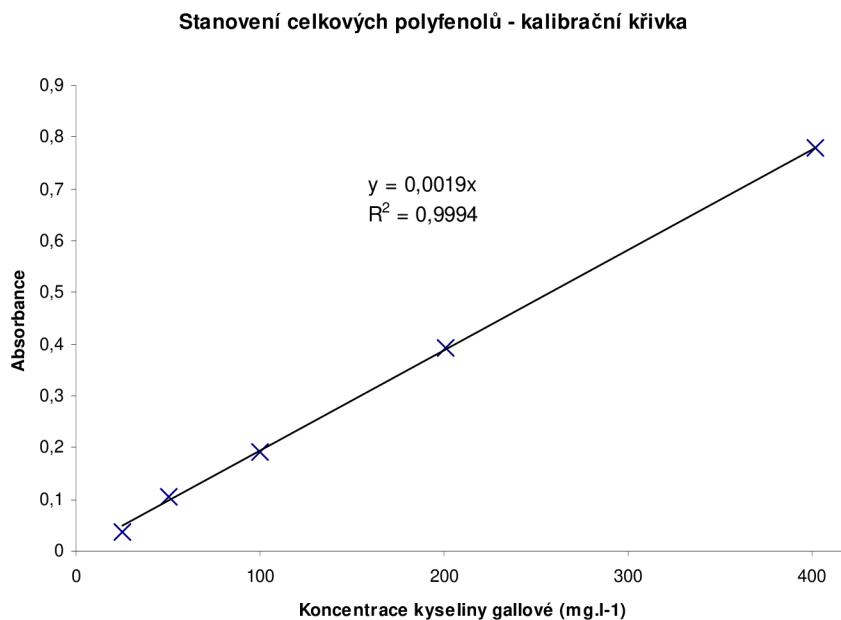
*Obrázek 13: Stanovení celkových polyfenolů – závislost intenzity zbarvení na vlnové délce v různých časových bodech*

Analýzou standardního roztoku kyseliny gallové bylo potvrzeno absorpční maximum barevného komplexu polyfenolů s F-C činidlem při 750 nm. Tato vlnová délka byla použita pro validaci analytické metody a pro rutinní analýzy.

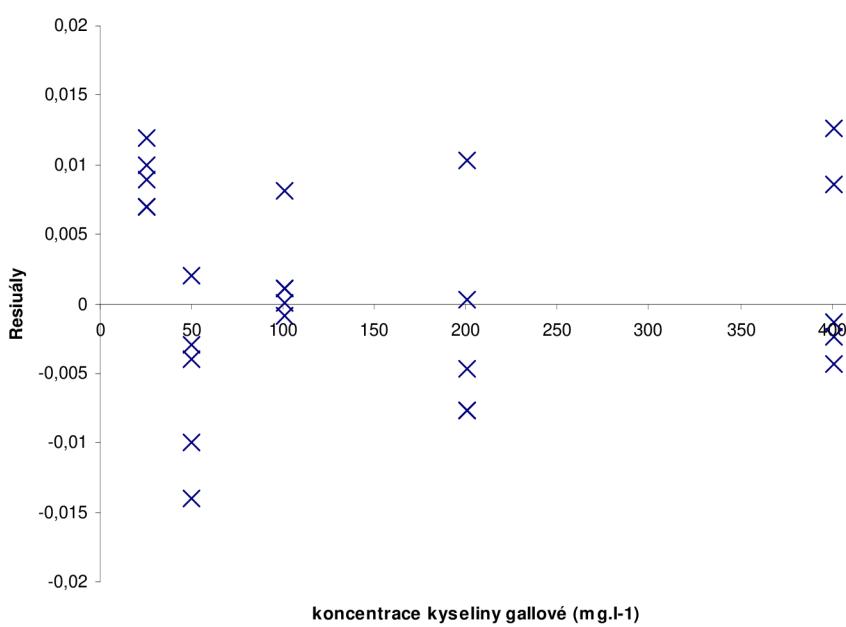
#### 5.1.4.2 Linearita

Byla prověřena linearita závislosti absorbance připraveného roztoku na koncentraci kyseliny gallové ve standardním roztoku.

Na Obrázku 14 je znázorněna vzorová kalibrační křivka kyseliny gallové v rozsahu koncentrací 25–400 mg.l<sup>-1</sup>. Obrázek 15 ukazuje rozložení reziduálů pro jednotlivé koncentrační body uvedené kalibrační závislosti.



Obrázek 14: stanovení celkových polyfenolů – kalibrační křivka



Obrázek 15: Stanovení celkových polyfenolů - reziduály

Z předloženého grafu residuálů (Obrázek 15) lze vizuálním posouzením odhalit, že jsou hodnoty rovnoměrně distribuované kolem nuly a závislost lze považovat za lineární (prověřeno i Mandel testem na statistické hladině významnosti 0,01). Taktéž zde nejsou přítomny žádné body podezřelé z odlehlosti (prověřeno Grubbsovým testem na statistické hladině významnosti 0,05).

#### 5.1.4.3 Opakovatelnost

Opakovatelnost metody byla prověřena na nejvyšší a nejnižší hladině kalibrační závislosti analyzou šesti roztoků o stejně koncentraci. Roztoky byly připraveny individuálně ze stejněho zásobního roztoku kyseliny gallové. Bylo tedy připraveno šest reakčních směsí s F-C činidlem pro každou koncentraci.

*Tabulka 36: Opakovatelnost*

	$c \text{ (k.gallová)} = 25 \text{ mg.l}^{-1}$	$c \text{ (k.gallová)} = 400 \text{ mg.l}^{-1}$
1	0,039	0,734
2	0,034	0,783
3	0,037	0,769
4	0,036	0,784
5	0,039	0,783
6	0,037	0,784
<b>RSD (%)</b>	<b>4,68</b>	<b>2,35</b>

#### 5.1.4.4 Správnost

Správností byl prověřen vliv matrice na kvantifikaci kyseliny gallové v roztoku vzorku.

Vlnová délka 750 nm je poměrně specifická – aby došlo k ovlivnění výsledků, musel by mít samotný roztok vzorku před přídavkem reakčních činidel modrou barvu. Pomocí přidání známého množství standardního roztoku byl sledován správný vývoj reakční směsi v přítomnosti matrice.

K zfiltrovanému vzorku bylo přidáno známé množství kyseliny gallové a vzorek s přídavkem byl analyzován jako běžně připravený vzorek. Porovnáním jejich obsahů byla zjištěna výtěžnost (viz Tabulka 37 a 38), která se pohybovala kolem a mírně nad 100 % (95,70–101,07 % v případě rakytníku řešetlákového a 102,19–104,52 % v případě dřínu obecného). Bylo tak prokázáno, že nedochází k nežádoucím interakcím reakčních činidel se složkami matrice.

*Tabulka 37: Správnost – vliv matrice – rakytník řešetlákový*

	1	2	3
stanovená $c \text{ (GA)}$ ve vzorku rakytníku (mg/l)	119,34	119,34	119,34
stanovená $c \text{ (GA)}$ ve vzorku s přídavkem standardu (mg/l)	165,10	171,16	162,06
teoretická $c \text{ (GA)}$ přídavku standardu (mg/l)	50	50	50
teoretická $c \text{ (GA)}$ ve vzorku (mg/l) (vzorek + přídavek standardu)	169,34	169,34	169,34
<b>výtěžnost (%)</b>	<b>97,49</b>	<b>101,07</b>	<b>95,70</b>
<b>průměrná výtěžnost (%) <math>\pm</math> IS (95 %, n=3)</b>	<b>98,09 <math>\pm</math> 2,53</b>		

*Tabulka 38: Správnost – vliv matrice – dřín obecný*

	1	2	3
stanovená c (GA) ve vzorku rakytníku (mg/l)	104,00	104,00	104,00
stanovená c (GA) ve vzorku s přídavkem standardu (mg/l)	157,38	159,03	160,96
teoretická c (GA) přídavku standardu (mg/l)	50	50	50
teoretická c (GA) ve vzorku (mg/l) (vzorek + přídavek standardu)	154,00	154,00	154,00
<b>výtěžnost (%)</b>	<b>102,19</b>	<b>103,27</b>	<b>104,52</b>
<b>průměrná výtěžnost (%) ± IS (95 %, n=3)</b>	<b>103,33 ± 3,14</b>		

## 5.2 ANALÝZA PLODŮ

Ve sledovaných druzích ovoce byly stanoveny vybrané nutriční parametry za účelem charakterizace jednotlivých druhů ovoce a jejich pěstovaných odrůd. Výsledkem je doporučení nevhodnější odrůdy pro využití v potravinářství s důrazem na obsah zdravotně látok, které by mohly mít pozitivní vliv na lidský organismus.

### 5.2.1 Rakytník řešetlákový

Sledované parametry (sušina, vitamin C, celkové polyfenoly, titrovatelné kyseliny, jednotlivé organické kyseliny a sacharidy) byly analyzovány ve třech následných letech 2010, 2011 a 2012 u sedmi odrůd rakytníku řešetlákového – viz Tabulka 12.

V roce 2012 byly rostliny napadeny fusářiovým vadnutím a plody se urodily jen na několika odrůdách – výběr odrůd pro tuto sklizeň tedy není úplný. Jde jen o tři odrůdy: 'Leicora', 'Buchlovický' a 'Vitamínová' [153].

**Obsah sušiny** se v plodech rakytníku v rámci všech tří let pohyboval v rozmezí hodnot 14,47–22,61 %. Výsledky pro jednotlivé roky jsou uvedeny v Tabulce 83 Přílohy 3.

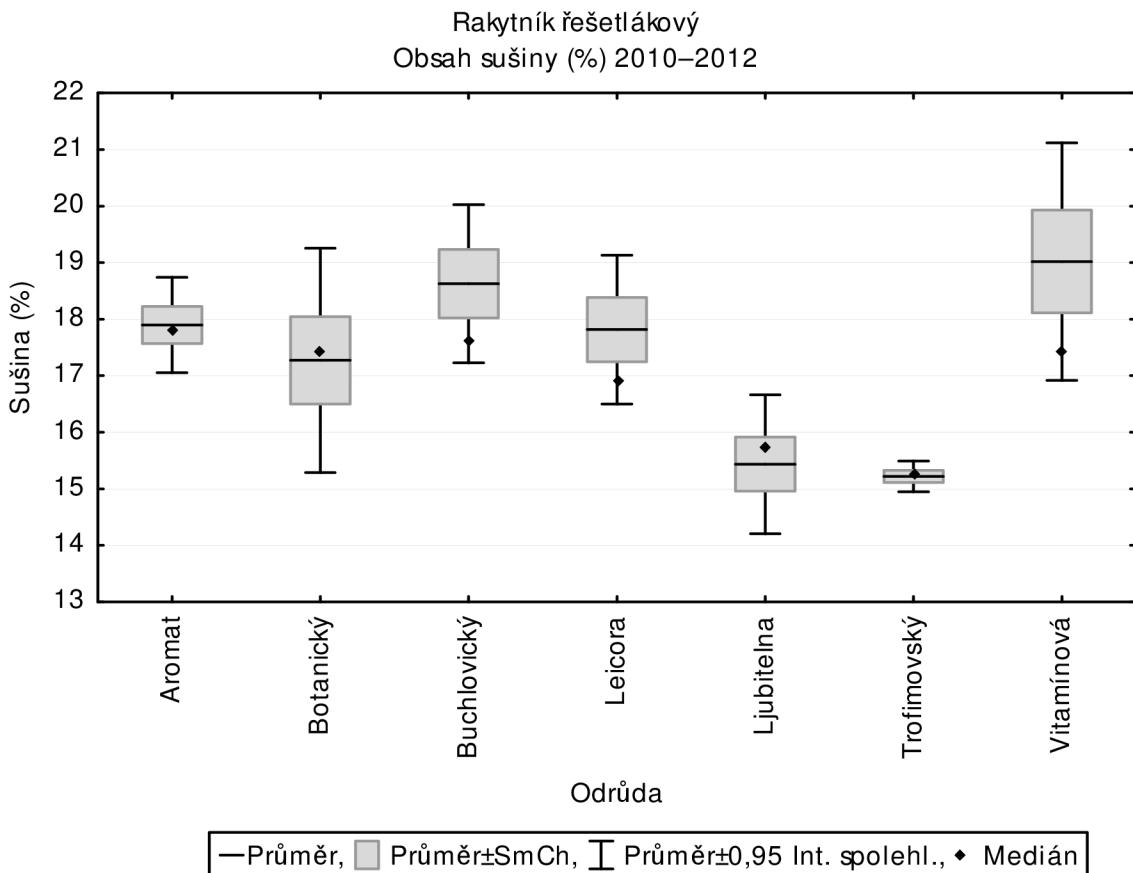
Tabulka 39: Průměrný obsah sušiny v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ )).

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah sušiny (%) $\pm$ IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Aromat	mongolica	17,90 $\pm$ 0,59	a
Botanický	mongolica $\times$ rhamoides	17,27 $\pm$ 1,38	ab
Buchlovický		18,63 $\pm$ 1,12	a
Leicora	rhamnoides	17,82 $\pm$ 1,06	a
Ljubitelna	mongolica $\times$ rhamoides	15,44 $\pm$ 0,86	bc
Trofimovský	mongolica $\times$ rhamoides	15,22 $\pm$ 0,19	c
Vitamínová	mongolica	19,02 $\pm$ 1,68	a

Z Tabulky 39 a grafu na Obrázku 16 je dobře patrné, že mezi jednotlivými odrůdami není příliš výrazný rozdíl, až na odrůdy altajsko-pobaltského původu (poddruh *mongolica x rhamnoides*) 'Ljubitelna' a 'Trofimovský', které vykazují nižší obsah sušiny v plodech.

Podobné hodnoty obsahu sušiny byly nalezeny ve finských odrůdách poddruhu *rhamnoides* (15,0  $\pm$  5,6 %) a hybridech poddruhu *rhamnoides* a *mongolica* (13,8  $\pm$  8,1 %) [13].

Obsah sušiny závisí na době sběru – s pozdějším datem dochází ke ztrátám vody v plodech a obsah sušiny roste [12].



Obrázek 16: Krabicový graf – průměrný obsah sušiny (%) v odrůdách rakytníku řešetlákového

Rakytník řešetlákový je především významným zdrojem vitaminu C, jeho obsah je velmi variabilní v závislosti na poddruhu [10]. Obsah vitaminu C ve sledovaných odrůdách se v letech 2010–2012 pohyboval v rozmezí od 39,39 do 310,15 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Dlouhé výsledky pro jednotlivé roky jsou znázorněny v Tabulce 85 v příloze 3.

Tabulka 40 shrnuje průměrný obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách za tři roky (2010–2012). Mezi jednotlivými odrůdami byly nalezeny statisticky významné rozdíly.

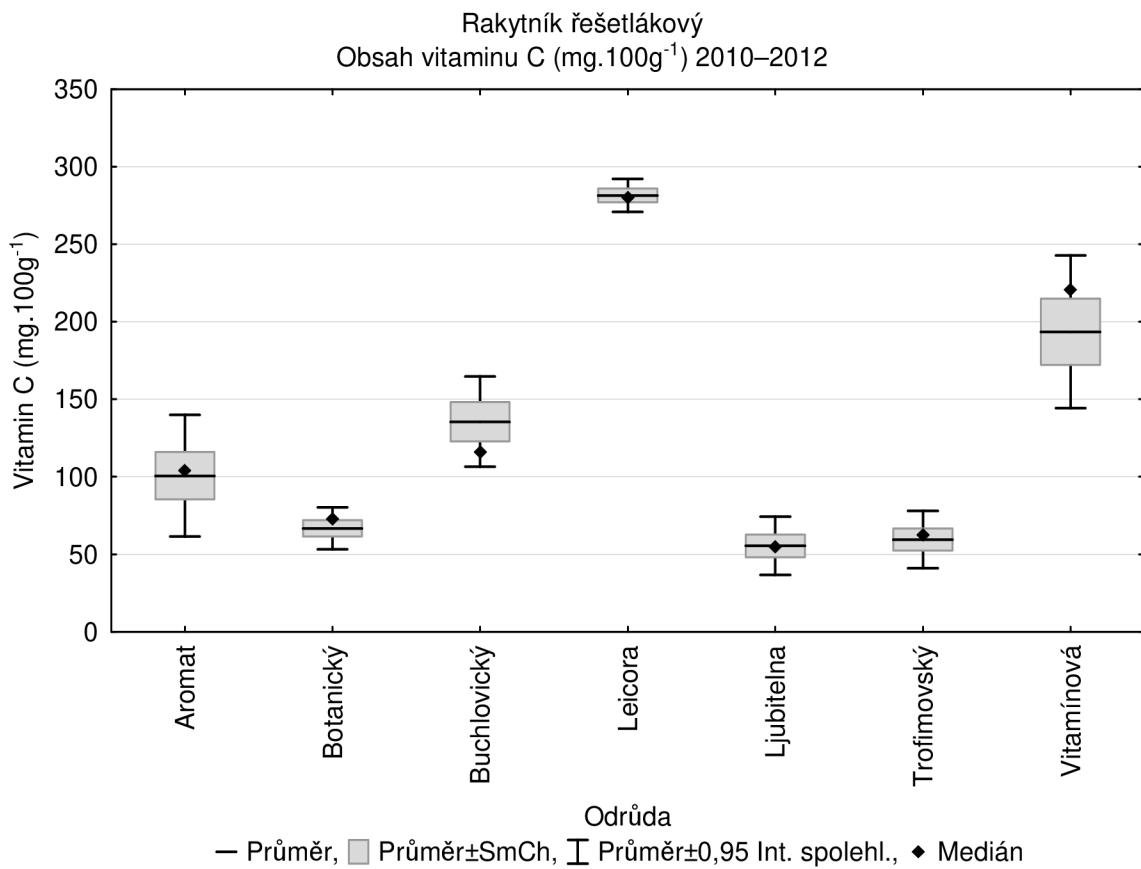
Tabulka 40: Průměrný obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ).

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah vitaminu C (mg.100g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Aromat	mongolica	100,64 ± 27,31	cd
Botanický	mongolica × rhamoides	66,71 ± 9,39	de
Buchlovický		135,54 ± 23,34	c
Leicora	rhamnoides	281,45 ± 8,26*	a
Ljubitelna	mongolica × rhamoides	55,48 ± 13,06	e
Trofimovský	mongolica × rhamoides	59,54 ± 12,87	de
Vitamínová	mongolica	193,54 ± 39,50	b

Grafické znázornění obsahu vitaminu C v jednotlivých odrůdách s intervaly spolehlivosti je znázorněno v grafu na Obrázku 17. Z grafu i z Tabulky 40 je dobře patrný rozdíl mezi původem jednotlivých odrůd – odrůda 'Leicora' má nejvyšší obsah vitaminu C

( $281,45 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ ) a patří geneticky mezi evropský (pobaltský) poddruh *rhamnoides*, který se vyznačuje vyším obsahem vitaminu C [9, 12]. O něco nižší obsah vitaminu C byl nalezen v altajské odrůdě 'Vitamínová' (poddruh *mongolica*) –  $193,54 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ . Je zajímavé, že zkřížením obou jmenovaných poddruhů došlo u jejich hybridů 'Botanický', 'Ljubitelna' a 'Trofimovský' k výraznějšímu poklesu vitaminu C. Tito zástupci altajsko-pobaltského poddruhu *mongolica* × *rhamnoides* mají nejnižší obsah vitaminu C:  $55,48\text{--}66,71 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů.

Dosažené výsledky korespondují s hodnotami nalezenými v literatuře: Obsah vitaminu C v odrůdě 'Leicora' pěstované v blízkosti Říma se pohyboval v rozmezí  $273\text{--}343 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v závislosti na době sběru, přičemž s pozdějším datem sběru klesal i obsah vitaminu C [12]. V odrůdách poddruhu *mongolica* a *rhamnoides* pěstovaných ve Finsku bylo nalezeno množství vitaminu C od 29 do  $128 \text{ mg.}100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy. Konkrétně v odrůdě 'Botanický' bylo nalezeno kolem  $60 \text{ mg.}100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy, v odrůdě 'Trofimovský' kolem  $100 \text{ mg.}100 \text{ ml}^{-1}$  šťávy [163]. Také v blíže nespecifikovaných finských odrůdách poddruhu *rhamnoides* bylo nalezeno  $129,2 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů, v hybridech finských odrůd a poddruhu *mongolica* byl obsah vitaminu C nižší –  $92,9 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů [13]. V Polsku pěstované odrůdy obsahovaly podobná množství vitaminu C: odrůda 'Aromat'  $130,97 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Botanický'  $80,40 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Botaniczeskaja Ljubitelskaja'  $59,48 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  [11].



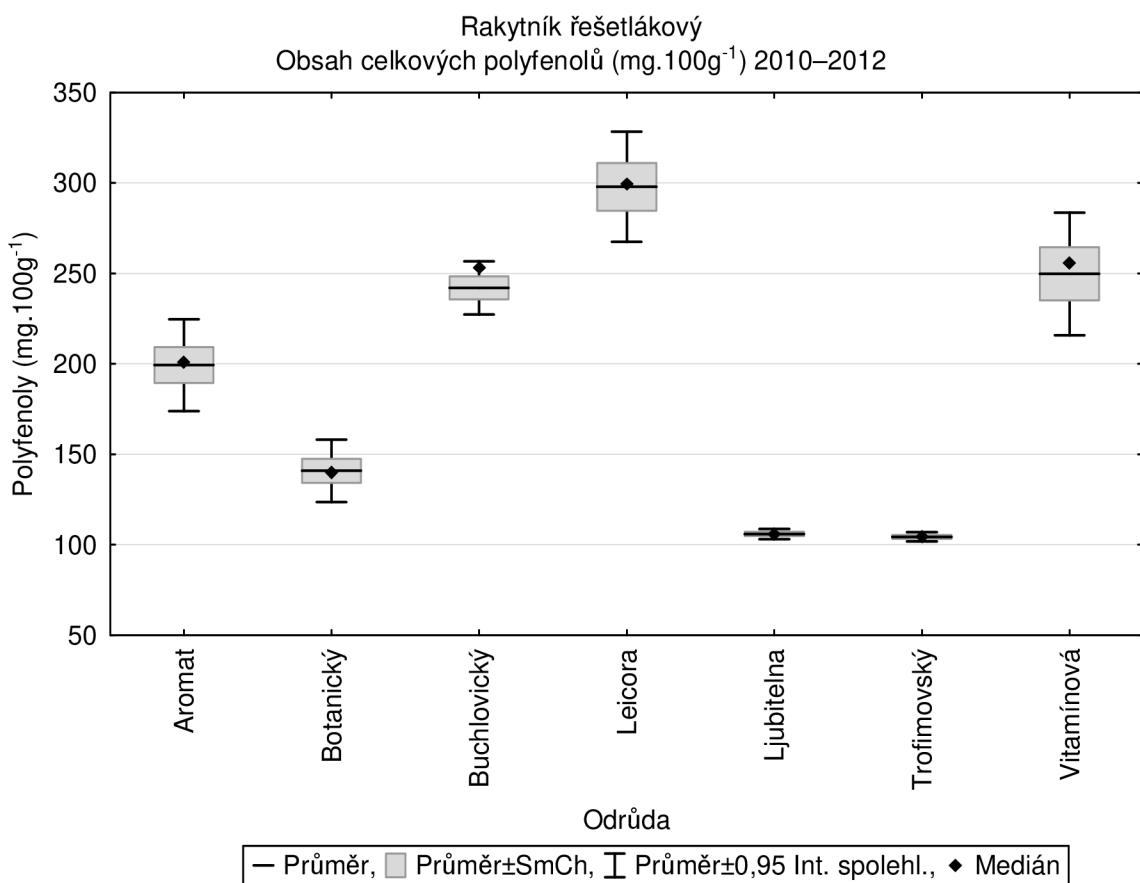
Obrázek 17: Krabicový graf – průměrný obsah vitaminu C v odrůdách rakytníku řešetlákového

**Množství celkových polyfenolů** vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové ve 100 g čerstvých plodů se pohybovalo pro všechny tři roky 2010–2012 v rozmezí 102,71–341,96 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Dílčí výsledky jsou uvedeny v Tabulce 86, Příloha 3.

Průměrný obsah polyfenolů v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového je znázorněn v Tabulce 41 a v grafu na Obrázku 18.

Tabulka 41: Průměrný obsah celkových polyfenolů v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ).

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah polyfenolů (mg.100g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Aromat	mongolica	199,27 ± 17,69	c
Botanický	mongolica × rhamoides	140,84 ± 11,98	d
Buchlovický		241,99 ± 11,73	b
Leicora	rhamnoides	297,87 ± 24,38	a
Ljubitelna	mongolica × rhamoides	105,91 ± 2,00	e
Trofimovský	mongolica × rhamoides	104,33 ± 1,78	e
Vitamínová	mongolica	249,73 ± 27,18	b



Obrázek 18: Krabicový graf – průměrný obsah celkových polyfenolů v odrůdách rakytníku řešetlákového

Graf na Obrázku 18 znázorňuje průměrný obsah celkových polyfenolů v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového pro tři sklizně 2010–2012.

Nejvyšší množství polyfenolů bylo nalezeno v odrůdě 'Leicora', která má zároveň i nejvyšší obsah vitaminu C. Vitamin C jakožto významná antioxidační látka ovlivňuje stanovení celkových polyfenolů, což je zachyceno v grafu závislosti na Obrázku 19.



Obrázek 19: Korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a vitaminu C v rakytníku řešetlákovém

V grafu na Obrázku 19 je znázorněna závislost obsahu celkových polyfenolů na obsahu vitaminu C v jednotlivých odrůdách. Regresní koeficient uvedené závislosti je vyšší než 0,5:  $R^2 = 0,8254$ ,  $P = 0,0000$ , lze tedy potvrdit, že obsah celkových polyfenolů závisí na obsahu vitaminu C.

Tato korelace mezi obsahem celkových polyfenolů a obsahem vitaminu C vyplývá z chemické podstaty samotného stanovení pomocí F-C činidla, které není příliš selektivní a může být ovlivněno právě obsahem jiných redukčních látek, kterou kyselina L-askorbová (vitamin C) je [127]. Metoda pro stanovení celkových polyfenolů pomocí F-C činidla bývá často používána spolu s metodami zhášení radikálů (jako jsou DPPH, FRAP, ORAC apod.) pro charakterizaci celkové antioxidační kapacity vzorku [164].

Velmi vyrovnaný obsah celkových polyfenolů byl nalezen v odrůdách 'Ljubitelna' a 'Trofimovský', který mírně přesahoval  $100 \text{ mg.100 g}^{-1}$  plodů ( $105,91$  a  $104,33 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ). Odrůda 'Leicora' obsahovala téměř trojnásobné množství polyfenolů –  $297,87 \text{ mg.100 g}^{-1}$ .

Ve šťávě připravené z odrůd rakytníku pěstovaných na Slovensku byl stanoven obsah celkových polyfenolů (F-C činidlem) na  $265 \text{ mg.100 ml}^{-1}$  šťávy v odrůdě 'Leicora' a  $272 \text{ mg.100 ml}^{-1}$  šťávy v odrůdě 'Vitamínová' [165].

Řádově podobný obsah polyfenolů (jako suma flavonolů – s největším zastoupením, fenolických kyselin, flavan-3-olů a polymerních proanthokyanidinů) v methanolových

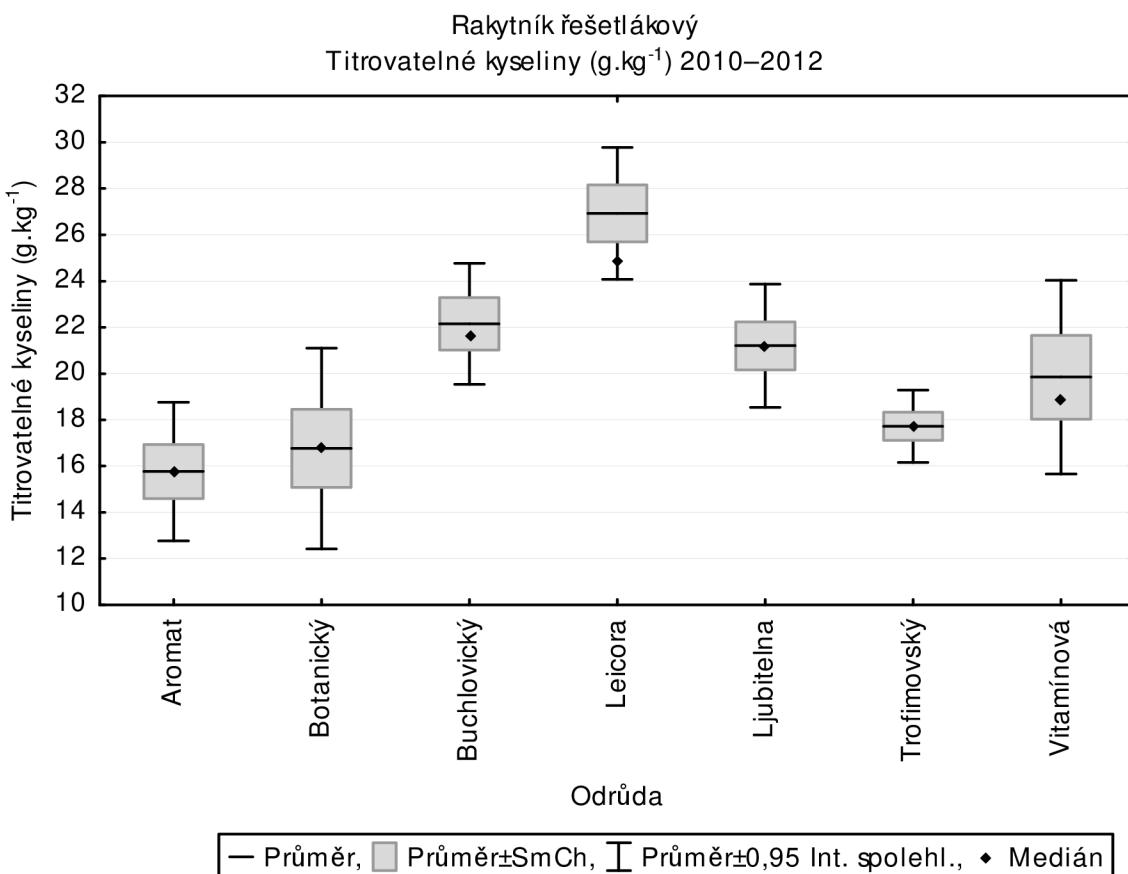
extraktech analyzovaný pomocí LC-ESI/MS byl stanoven v plodech odrůd pěstovaných v Polsku následovně: 'Aromat' na  $390 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Botanický'  $480 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Ljubitelna'  $260 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů [11]. Vyšší obsah v posledně zmíněném zdroji je pravděpodobně způsoben použitou metodou. HPLC metoda je selektivnější a přesnější v kvantifikaci látek než spektrofotometrické stanovení celkových polyfenolů pomocí F-C činidla, taktéž byly pro analýzu použity extrakty plodů do methanolu, který je vhodnějším rozpouštědlem pro fenolické látky [127].

Plody rakytníku řešetlákového jsou velmi kyselé, protože obsahují vyšší množství kyselin v poměru k obsahu sacharidů [15].

V extraktu z plodů rakytníku řešetlákového byl stanoven i **obsah titrovatelných kyselin** vyjádřených v ekvivalentech majoritní složky organických kyselin v plodech rakytníku – kyseliny jablečné, který se pochyboval v rozmezí  $12,99\text{--}31,85 \text{ g.kg}^{-1}$  ovoce v průběhu všech tří sklizní: 2010, 2011, 2012. Dílčí výsledky jsou uvedeny v Tabulce 84, Příloha 3).

*Tabulka 42: Průměrný obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých odrůdách rakytníku řešetlákového (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ )).*

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah titrovatelných kyselin ( $\text{g.kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Aromat	mongolica	$15,77 \pm 2,09$	d
Botanický	mongolica × rhamoides	$16,77 \pm 3,02$	d
Buchlovický		$22,15 \pm 2,10$	b
Leicora	rhamnoides	$26,93 \pm 2,29$	a
Ljubitelna	mongolica × rhamoides	$21,20 \pm 1,85$	bc
Trofimovský	mongolica × rhamoides	$17,72 \pm 1,09$	cd
Vitamínová	mongolica	$19,85 \pm 3,35$	bd

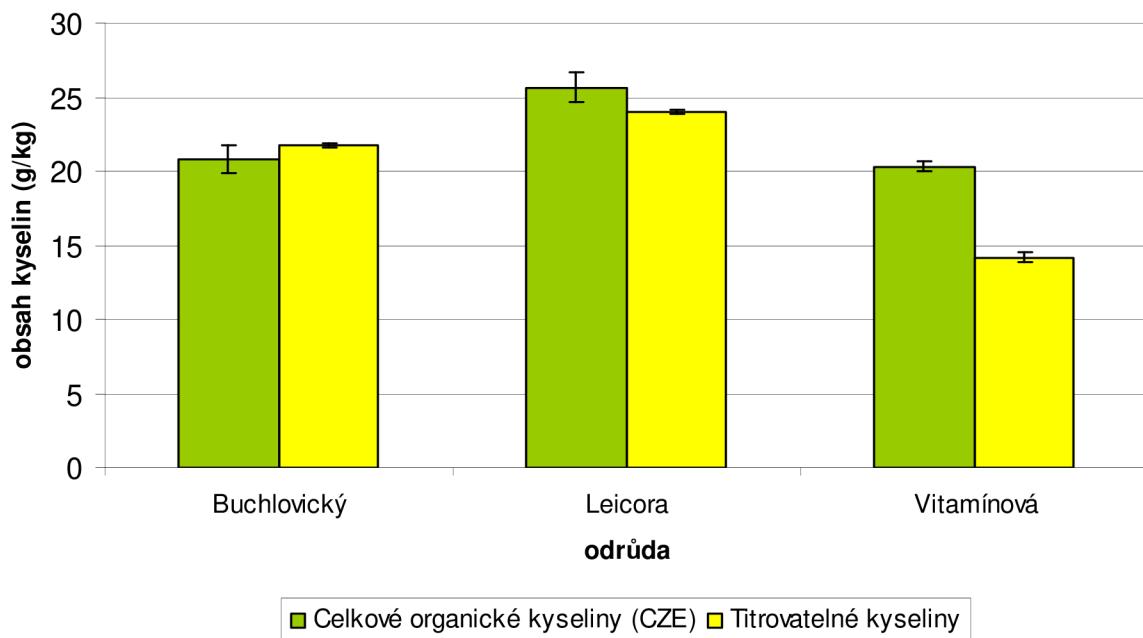


*Obrázek 20: Krabicový graf – Průměrný obsah titrovatelných kyselin v odrůdách rakytníku řešetlákového*

Tabulka 42 a graf na Obrázku 20 ukazují obsah titrovatelných kyselin u jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového. Mezi jednotlivými odrůdami byly nalezeny statisticky významné rozdíly. Obsah kyselin je nejvyšší v odrůdě 'Leicora', která má zároveň i nejvyšší množství vitaminu C. Obecně je kyselina askorbová stabilní v kyselém prostředí, a je tedy možné, že vyšší obsah titrovatelných kyselin působí synergicky na stabilitu kyseliny askorbové v plodech a následně v roztoku (extraktu) z ní připraveného [102].

Analýzou plodů rakytníku ze sklizně 2012 pomocí CZE byl zjištěn i obsah celkových organických kyselin jako součet obsahu kyseliny citronové, jablečné a chinové. Ten se pohyboval v rozmezí  $19,81\text{--}24,60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , což potvrdilo výsledky obsahu kyselin stanovených titrační metodou (Obrázek 21).

### Srovnání obsahu kyselin pomocí CZE a titrační metody



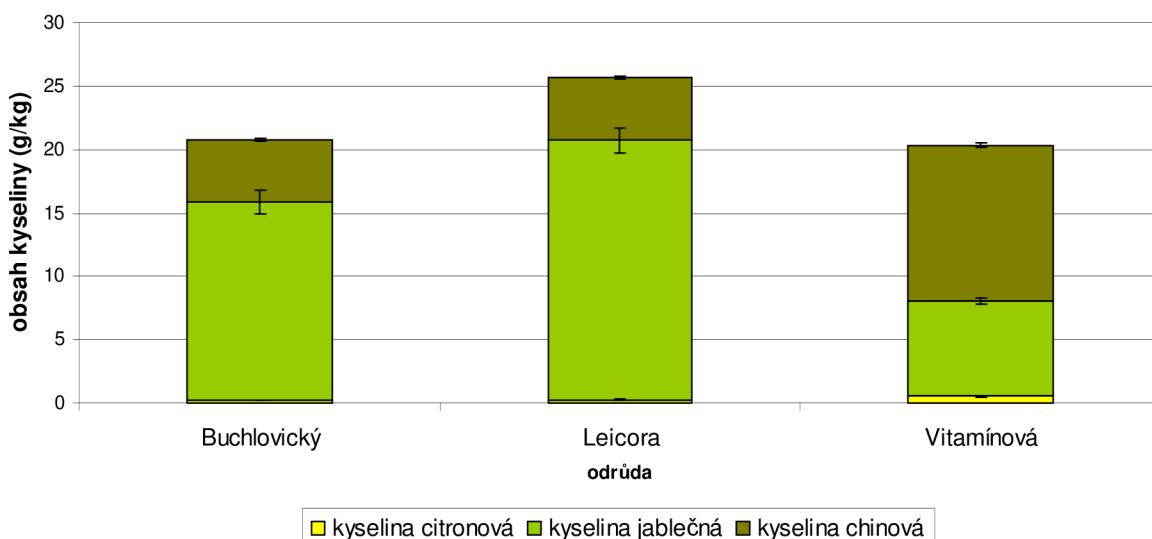
Obrázek 21: Srovnání obsahu kyselin pomocí CZE a titrační metody v rakytníku řešetlákovém

**Jednotlivé organické kyseliny** byly identifikovány a kvantifikovány pomocí CZE ve sklizni z roku 2012. Převládala kyselina jablečná  $7,52\text{--}20,44 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , dále chinová  $4,93\text{--}12,26 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  a nejméně zastoupenou složkou byla kyselina citronová  $0,26\text{--}0,55 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Odrůda 'Vitamínová' obsahovala jako majoritní složku kyselinu chinovou (graf na Obrázku 22 a Tabulka 43), což může ovlivnit i výpočet titrovatelných kyselin, které jsou pro všechny odrůdy přepočítány na dvojvaznou kyselinu jablečnou, přičemž kyselina chinová je jednovazná. Tato skutečnost může v důsledku může ovlivnit i nižší obsah titrovatelných kyselin ( $14,20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) pro odrůdu 'Vitamínová' ve srovnání s celkovým obsahem organických kyselin stanovených pomocí kapilární elektroforézy ( $20,33 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ).

Tabulka 43: Obsah organických kyselin v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového (sklizeň 2012)

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah organických kyselin ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)	součet		
		citronová	jablečná	chinová	
Buchlovický		0,26 $\pm$ 0,03	15,59 $\pm$ 0,94	4,93 $\pm$ 0,09	20,78 $\pm$ 0,94
Leicora	rhamnoides	0,29 $\pm$ 0,01	20,44 $\pm$ 1,03	5,25 $\pm$ 0,09	25,97 $\pm$ 1,03
Vitamínová	mongolica	0,55 $\pm$ 0,02	7,52 $\pm$ 0,25	12,26 $\pm$ 0,19	20,33 $\pm$ 0,31

Obsah jednotlivých organických kyselin



Obrázek 22: Srovnání obsahu jednotlivých organických kyselin v odrůdách rakytníku řešetlákového

Zastoupení jednotlivých organických kyselin v rakytníku se liší v závislosti na původu odrůdy. Jak již bylo zmíněno, odrůda z poddruhu *mongolica* 'Vitamínová' má daleko větší podíl kyseliny chinové, než např. odrůda 'Leicora' poddruhu *rhamnoides*. Abychom však mohli potvrdit závislost, bylo by třeba kvantifikovat jednotlivé organické kyseliny ve více odrůdách, což bohužel ve sklizni z roku 2012 nebylo možné kvůli úhynu stromů na plísňové onemocnění [153].

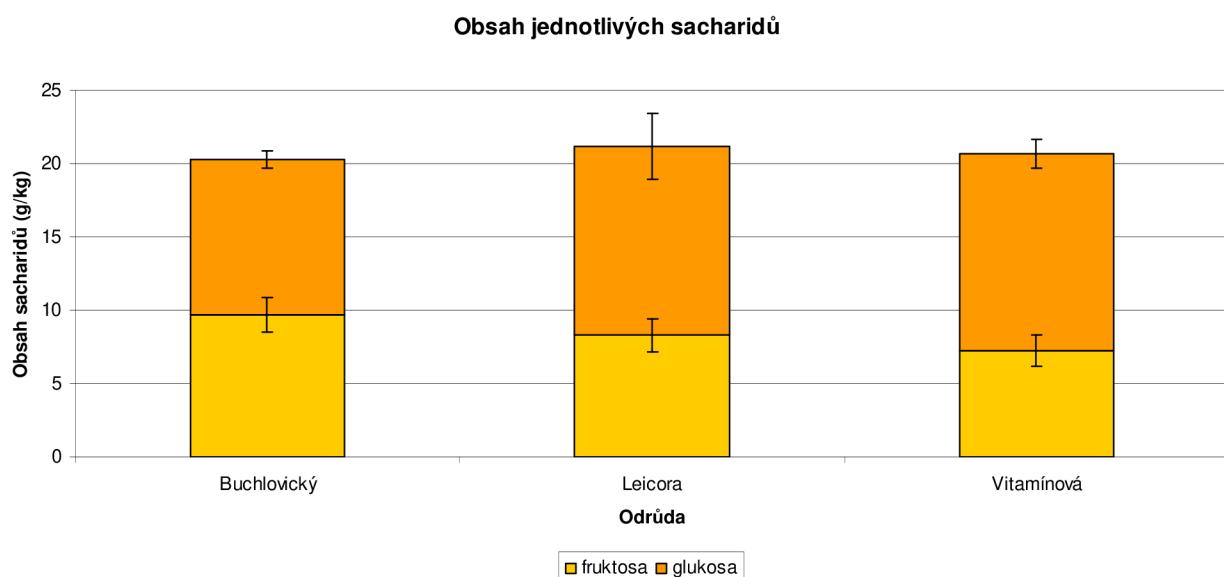
Variabilita v obsahu jednotlivých organických kyselin v rámci odrůd, respektive poddruhů byla pozorována i v literatuře. Ve Finsku pěstované odrůdy poddruhů *mongolica* a *rhamnoides* obsahovaly ve 100 ml čerstvě vymačkané šťávy 1,9–3,6 g kyseliny jablečné, 0,9–2,5 g kyseliny chinové a méně než 0,05 g kyseliny citronové [163].

V odrůdě 'Leicora' pěstované blízko Říma (Itálie) se obsah celkových organických kyselin pohyboval od  $34,30\text{--}40,90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  v závislosti na době sběru. Obsah jednotlivých organických kyselin v odrůdě Leicora byl stanoven pomocí HPLC následovně: kyselina jablečná  $22\text{--}27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , kyselina chinová kolem  $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , kyselina citronová kolem  $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [12].

Pomocí HPLC-RID metody byly ve třech odrůdách sklizně 2012 rakytníku řešetlákového identifikovány a kvantifikovány nejzastoupenější cukry. Převládala glukosa  $10,586\text{--}13,425 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  nad fruktosou  $7,277\text{--}9,702 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ovoce, celkové množství sacharidů se pohybovalo v rozmezí hodnot  $20,288\text{--}21,162 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , jak ukazuje Tabulka 44 a Obrázek 23.

Tabulka 44: Obsah sacharidů v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového (sklizeň 2012)

Odrůda rakytníku	poddruh	obsah sacharidů ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)	součet		
		fruktosa	glukosa	sacharosa	
Buchlovický		9,702 $\pm$ 1,169	10,586 $\pm$ 0,628	< LOQ	20,288 $\pm$ 1,166
Leicora	rhamnoides	8,296 $\pm$ 1,096	12,866 $\pm$ 2,239	< LOQ	21,162 $\pm$ 2,493
Vitamínová	mongolica	7,277 $\pm$ 1,067	13,425 $\pm$ 0,981	< LOQ	20,702 $\pm$ 1,450



Obrázek 23: Srovnání obsahu jednotlivých sacharidů v odrůdách rakytníku řešetlákového

Nalezený **obsah sacharidů** v jednotlivých odrůdách se významně nelišil – hodnoty se pohybovaly kolem  $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s mírně vyšším obsahem glukosy ve srovnání s fruktosou.

Ve Finsku pěstované odrůdy poddruhů *mongolica* a *rhamnoides* obsahovaly následující množství jednotlivých sacharidů ve 100 ml čerstvě připravené šťávy: fruktosa (0,2–3,5 g), glukosa (1,5–4,2 g) [163].

V odrůdě 'Leicora' pěstované v Itálii byl stanoven obsah sacharidů na  $4\text{--}6,4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , přičemž asi 3 g připadají pro glukosu a 1–2 g pro fruktosu. Obsah sacharidů je v této studii i přes teplejší klimatické podmínky nižší než nalezené hodnoty v disertační práci, což může být způsobeno použitou jinou metodou stanovení, kdy ve studii byl obsah redukujících sacharidů stanoven enzymaticky [12].

Jak obsah sacharidů, tak obsah kyselin je důležitý pro využití ovoce v potravinářství. Právě **poměr mezi obsahem sacharidů a kyselin** má velký vliv na celkový chuťový vjem z ovocné šťávy (i z celého ovoce). K celkovému vjemu chuti přispívá celá řada dalších látek – např. tříslovin, jejichž vyšší obsah lze nalézt v dřínech a především jeřabinách a aroniích [2, 3].

Plody rakytníku řešetlákového jsou jen velmi málo sladké [166]. Za sladší jsou považovány odrůdy poddruhu *mongolica*, které mají vyšší poměr sacharidů ku kyselinám – 1,14 *mongolica* vs. 0,34 *rhamnoides* [15]. V německé odrůdě poddruhu *rhamnoides* byl poměr stanoven na 0,10, pro odrůdu s původem *rhamnoides* x *mongolica* 1,16 [166].

Nízký poměr sacharidů ku kyselinám evropského poddruhu, konkrétně odrůdy 'Leicora', byl nalezen i v plodech pěstovaných v Itálii: 0,12–0,16. Tento nízký poměr je nejspíše ovlivněn nižším nalezeným obsahem sacharidů [12]. V odrůdách pěstovaných ve Finsku byl

přibližný poměr sacharidů ku kyselinám následující: odrůda 'Trofimovský' 0,4, odrůda 'Botanický' 0,7 [163].

Tabulka 45 ukazuje, že v pozorovaných odrůdách nebyl nalezen významný rozdíl v poměru sacharidů a kyselin. Nejnižší poměr byl stanoven pro odrůdu 'Leicora' poddruhu *rhamnoides* – 0,81, což odpovídá hodnotám nalezeným v literatuře. Nejvyšší poměr sacharidů a kyselin měla altajská odrůda 'Vitamínová' (poddruh *mongolica*) – 1,02.

Tabulka 45: Poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami v odrůdách rakytníku řešetlákového

odrůda	celkové organické kyseliny (g.kg <sup>-1</sup> )	celkové sacharidy (g.kg <sup>-1</sup> )	poměr sacharidy: organické kyseliny
Buchlovický	20,78	20,288	0,98
Leicora	25,97	21,162	0,81
Vitamínová	20,33	20,702	1,02

### 5.2.1.1 Statistická analýza

Pro lepší vizualizaci vícerozměrných dat a tedy rozdílů mezi jednotlivými odrůdami je vhodné použít některou ze statistických analýz, např. analýzu hlavních komponent nebo shlukovou analýzu.

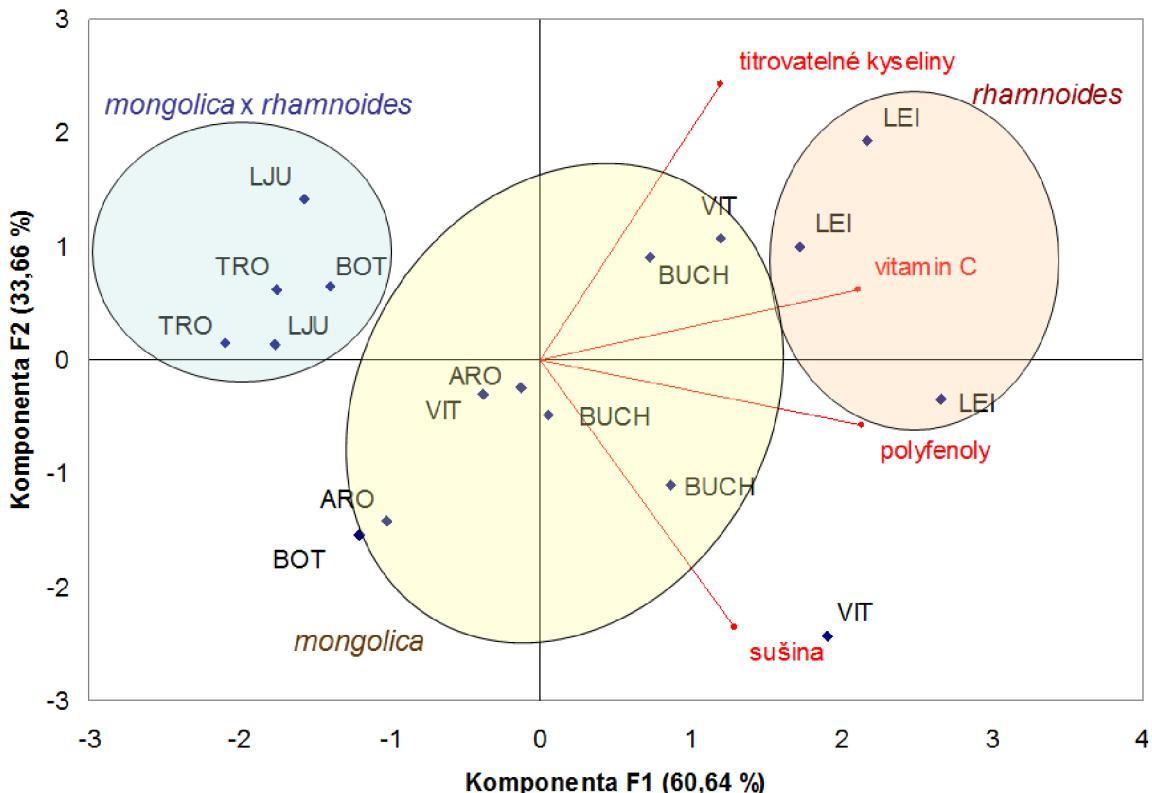
**Analýza hlavních komponent (PCA, Principal Component Analysis)** přeměňuje původní znaky analyzovaných dat, tedy sledované parametry, do menšího počtu proměnných, tzv. latentních proměnných = hlavních komponent, které lépe vystihují proměnlivost znaků [167].

Ze sledovaných základních parametrů u plodů rakytníku byly vybrány ty parametry, které byly sledovány po všechny tři roky 2010–2012, tedy obsah sušiny, vitaminu C, titrovatelných kyselin a celkových polyfenolů. Data byla nejdříve prošetřena z hlediska odlehlych výsledků a normálního rozložení dat a poté podrobena analýze hlavních komponent pomocí Pearsonova rozdělení.

Obrázek 24 znázorňuje grafické znázornění PCA pomocí dvojného grafu (Biplot), který kombinuje komponentní váhy s rozptylovým diagramem komponentního skóre pro dvě hlavní komponenty s nejvyšším podílem na celkové proměnlivosti znaků. Obě hlavní komponenty F1 a F2 představující v grafu osy x a y zaujmají nejvyšší podíl na celkové proměnlivosti znaků: komponenta F1 zahrnuje 60,64 % a komponenta F2 33,66 %. Obě komponenty mají také vlastní číslo (eigenvalue) větší než 1,0. Rozptylový diagram komponentního skóre zahrnuje body příslušící jednotlivým odrůdám. Každá odrůda je v grafu zastoupena dvěma nebo třemi výskyty v závislosti na počtu skliní, v kterých byla analyzována.

Komponentní váhy představují jednotlivé sledované parametry, tzn. titrovatelné kyseliny, vitamin C, polyfenoly a sušinu a v grafu jsou znázorněny vektory, někdy také nazývané jako průvodiče. Čím menší je úhel mezi jednotlivými komponentními vahami, tím větší je mezi nimi korelace [167]. Toto lze pozorovat u obsahu vitaminu C a celkových polyfenolů, jejichž korelace byla dokázána analýzou rozptylu (Obrázek 19,  $R^2 = 0,8254$ ,  $P = 0,0000$ ) a úhel mezi jejich průvodiči v grafu na Obrázku 24 je tedy nejmenší. Orientací těchto průvodičů v grafu je také možné identifikovat, které parametry jsou zastoupeny v které komponentě [167]. To znamená, že nejvíce do komponenty F1 přispívá obsah vitaminu C a polyfenolů, do komponenty F2 přispívá pozitivně zase obsah titrovatelných kyselin, negativně poté obsah sušiny.

**Biplot (osy F1 a F2: 94,30 %)**



Obrázek 24: Biplot analýzy hlavních komponent (PCA) pro jednotlivé odrůdy rakytníku řešetlákového

Vizualizací proměnlivosti dat pomocí PCA (Obrázek 24) lze snadno odlišit jednotlivé odrůdy, především podle jejich genetického původu. Evropský poddruh *rhamnoides* a jeho zástupce, odrůda 'Leicora' (v grafu LEI) a altajský poddruh *mongolica* s odrůdami 'Vitamínová' (VIT) a 'Aromat' (ARO) obsahují vyšší obsah vitaminu C a polyfenolů. Naopak odrůdy vzniklé jako hybrydy poddruhů *rhamnoides* a *mongolica*, 'Ljubitelna' (LJU), 'Trofimovský' (TRO) a 'Botanický' (BOT) se vyznačují nižším obsahem vitaminu C, polyfenolů a sušiny, avšak poměrně vyšším obsahem titrovatelných kyselin a tvoří tak izolovaný klastr v prvním kvadrantu rozptylového diagramu. Pozorování odrůd 'Leicora', 'Buchlovický' a 'Vitamínová' umístěných ve čtvrtém kvadrantu grafu znázorňuje hodnoty ze sklizně roku 2012, kdy u všech zmíněných odrůd, které byly jako jediné odrůdy sklízené i v roce 2012, byl nalezen vyšší obsah sušiny. Jak již bylo diskutováno výše, obsah sušiny v roce 2012 mohl být ovlivněn klimatickými podmínkami [168] nebo částečným napadením rostlin fusáriovým vadnutím [153].

Metoda PCA byla použita pro charakterizaci různých odrůd rakytníku řešetlákového na základě složení jednotlivých cukrů, organických kyselin a kyseliny askorbové [163]. Stejná metoda byla použita i pro vyhodnocení senzorické analýzy rakytníkových šťáv s vyjádřením intenzity jednotlivých deskriptorů [166].

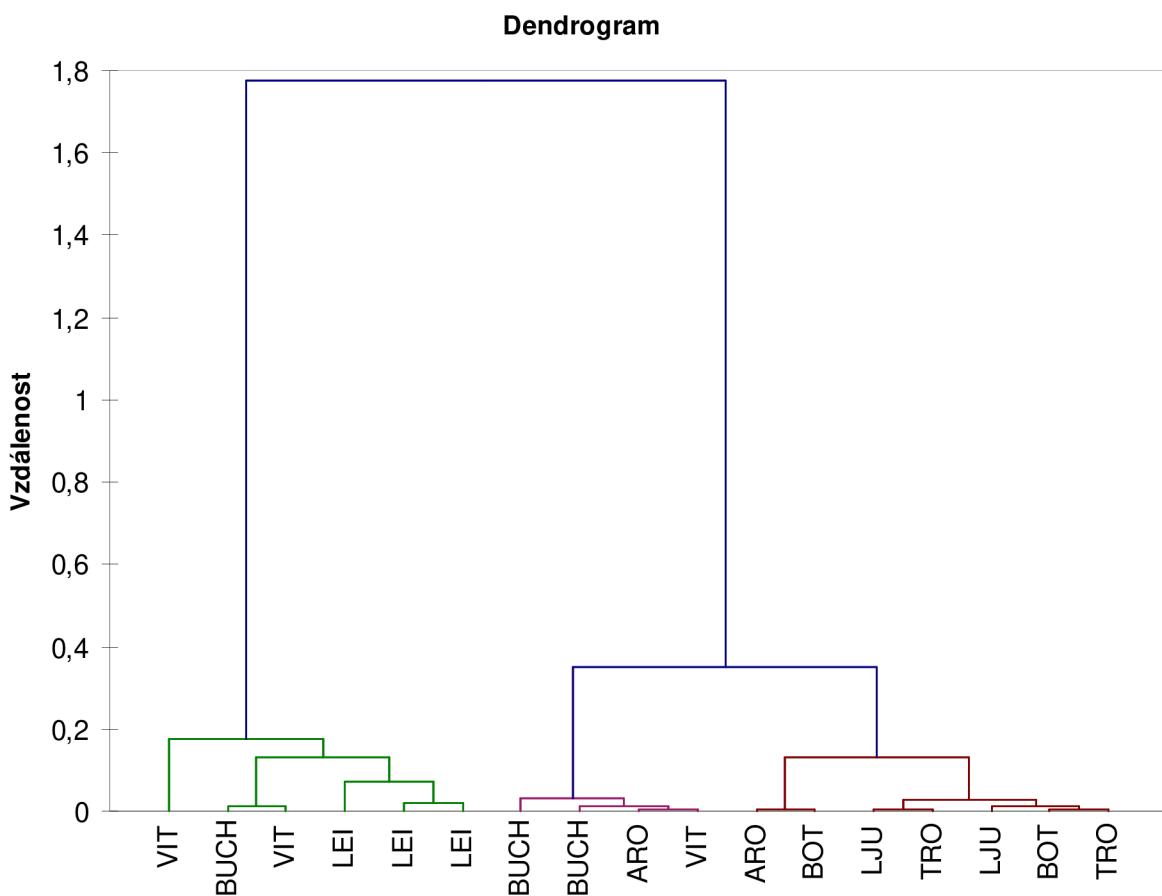
Ze statistických analýz zpracovávajících vícerozměrná data lze pro znázornění rozdílů mezi odrůdami využít i dendrogramy sestavené na základě **analýzy shluků (Cluster Analysis, CLU)**, konkrétně hierarchického shlukování pomocí míry vzdálenosti. Pro vyhodnocení byla

použita Wardova metoda shlukování a euklidovská metrická metoda. Tato metoda se hodí v případech, kdy pozorované objekty projevují přirozenou tendenci k seskupování. Podobnost jednotlivých výskytů je větší, čím nižší je spojnice (vzdálenost) mezi nimi [167].

Před samotnou analýzou byla naměřená data standardizována v rozsahu hodnot 0–1 pro eliminaci odlišnosti jednotek měření.

Z dendrogramu (viz Obrázek 25) je dobře patrné, že odrůdy 'Buchlovický' a 'Vitamínová' (*subsp. mongolica*) jsou v některých znacích podobné odrůdě 'Aromat' (*subsp. mongolica*) i odrůdě 'Leicora' (*subsp. rhamnoides*) a to i přesto, že jde o odrůdy z jiného poddruhu. Výskyt těchto odrůd v klastru odrůdy Leicora lze vysvětlit proměnlivostí hodnot některých parametrů v jednotlivých sklizních. Tyto nálezy korelují s výsledky analýzy hlavních komponent znázorněné v grafu na Obrázku 24.

Naopak, velmi dobře je v dendrogramu viditelná izolace klastru hybridů poddruhů *mongolica* x *rhamnoides* 'Ljubitelna', 'Trofimovský' a 'Botanický', která byla rozlišena podobně jako v PCA analýze a odlišnost (vzdálenost) mezi těmito odrůdami je v dendrogramu v rámci tohoto klastru nejmenší.



Obrázek 25: Dendrogram shlukové analýzy (CLU) pro jednotlivé odrůdy rakytníku řešetlákového

Uvedenými statistickými metodami bylo potvrzeno, že mezi jednotlivými poddruhy jsou statisticky významné rozdíly ve sledovaných základních znacích (parametrech), především odrůdy hybridů poddruhů *mongolica* x *rhamnoides* jsou odlišné od odrůd poddruhu samostatných poddruhů *mongolica* a *rhamnoides*.

### **5.2.1.2 Zhodnocení odrůd**

Na základě naměřených dat a jejich statistického vyhodnocení lze doporučit pro využití v potravinářství především odrůdu 'Leicora' nebo 'Vitamínová' právě pro jejich vysoký obsah biologicky aktivních látek, jako jsou vitamin C a polyfenoly. Odrůda 'Leicora', spolu s odrůdou 'Buchlovický', byla doporučena pro pěstování i na základě dat z pěstitelské stanice. Obě odrůdy mají nejvyšší efektivní výnos 3,88 a 3,48 kg.m<sup>-3</sup> koruny, na rozdíl např. od odrůd 'Aromat' nebo 'Ljubitelna', jejich nejvyšší efektivní výnos se pohybuje v hodnotách 2,02 a 2,24 kg.m<sup>-3</sup>. V produkční výsadbě může najít uplatnění i odrůda 'Vitamínová' [150]. Obě odrůdy s vysokým obsahem vitaminu C zároveň dozrávaly nejpozději, na konci září [153].

## 5.2.2 Dřín obecný

Následující parametry byly analyzovány ve třech letech 2010, 2011 a 2012 u deseti odrůd dřínu obecného – viz Tabulka 13.

**Obsah sušiny** se v plodech dřínu v letech 2010–2012 pohyboval v rozmezí hodnot 15,24–29,70 %. Výsledky pro jednotlivé roky jsou uvedeny v Tabulce 87 Přílohy 4.

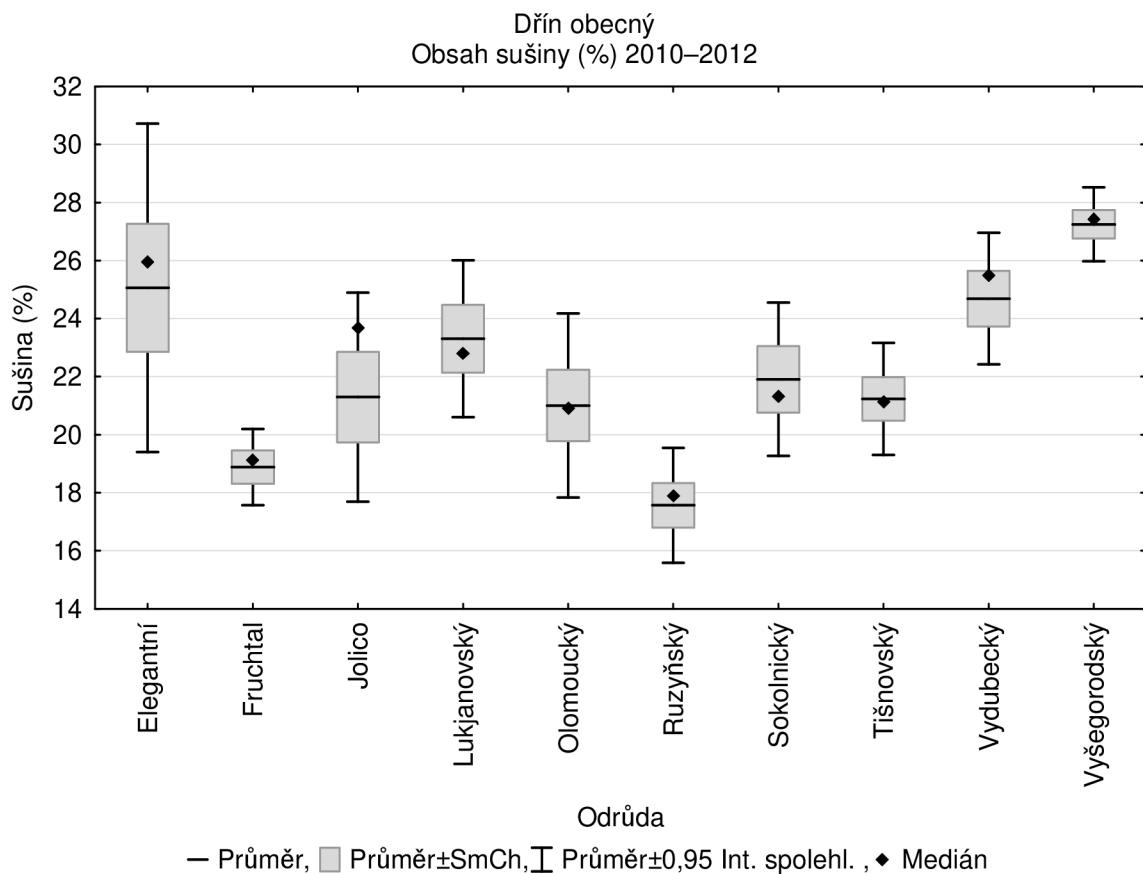
Tabulka 46: Průměrný obsah sušiny v jednotlivých odrůdách dřínu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda dřínu	původ odrůdy	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Elegantní	ukrajinská	25,06 ± 3,94	ab
Fruchtal	rakouská	18,88 ± 1,05	de
Jolico	rakouská	21,29 ± 2,89	bcd
Lukjanovský	ukrajinská	23,31 ± 2,17	bc
Olomoucký	česká	21,01 ± 2,21	cde
Ruzyňský	česká	17,57 ± 1,38	e
Sokolnický	slovenská	21,91 ± 2,12	bcd
Tišnovský	česká	21,23 ± 1,34	bcd
Vydubecký	ukrajinská	24,69 ± 1,76	abc
Vyšegorodský	ukrajinská	27,25 ± 0,89	a

Z Tabulky 46 a grafu na Obrázku 26 je patrné, že hodnoty sušiny měly v rámci jednotlivých odrůd poměrně velký rozptyl. Obsah sušiny, podobně jako ostatních sledovaných parametrů, je ovlivněn nejen dobou zralosti, ale i klimatickými poměry daného roku – množstvím srážek, teplotou, apod. [150]. Všechny sledované odrůdy měly v roce 2010 nižší hodnoty sušiny a také titrovatelných kyselin (viz níže) než v ostatních letech 2011 a 2012 (jednotlivé hodnoty viz Tabulka 87 v Příloze 4). Toto může být ovlivněno právě množstvím srážek, které bylo v roce 2010 vyšší, než v letech 2011 a 2012. V roce 2011 byl roční úhrn srážek 600–700 mm, v letech 2011 a 2012 pouze 300–400 mm [168].

Nižší obsah sušiny obsahují odrůdy 'Fruchtal' a 'Ruzyňský', konkrétně 18,88 a 17,57 %. Vyšší obsah sušiny 27,25 % byl nalezen v odrůdě 'Vyšegorodský' a může souviset např. s obsahem nerozpustných látek jako je vláknina, která je v případě plodů dřínu zastoupena především pektinem [3].

Obsah sušiny v původních odrůdách pěstovaných v Turecku se pohyboval v podobném rozmezí, tzn. 15,88–28,19 % [25]. Sušina v srbských odrůdách se pohybovala mezi hodnotami 19,68–30,84 % [31]. V odrůdách pěstovaných ve Zlíně byl obsah sušiny gravimetricky stanoven v několika odrůdách následovně: 'Elegantní' 17,42 %, 'Fruchtal' 16,01 %, 'Jolico' 15,45 %, 'Sokolnický' 21,30 %, 'Vydubecký' 17,12 % [154].



Obrázek 26: Krabicový graf – Průměrný obsah sušiny v odrůdách dřínu obecného

Plody dřínu obecného neobsahují významná **množství vitaminu C**. Plody se však hodí k přímé konzumaci a i s nižším obsahem vitaminu C mohou být, podobně jako jahody [100], jeho významným zdrojem.

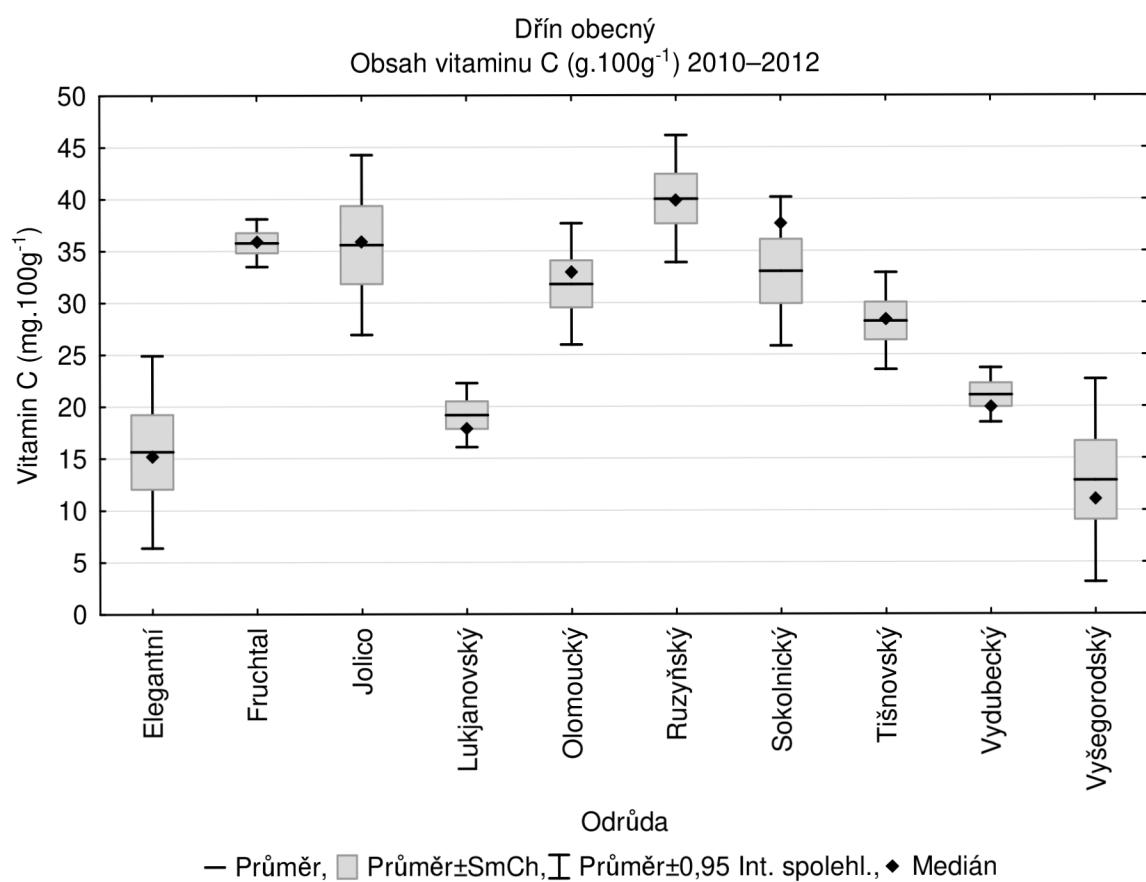
Obsah vitaminu C se v plodech dřínu obecného pohyboval v závislosti na odrůdě od 4,74 do 48,69 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů (dílčí výsledky viz Tabulka 89, Příloha 4). Mezi odrůdami byly nalezeny rozdíly, avšak ne tak výrazné, jako např. u rakytníku řešetlákového a jeřábu ptačího. Průměrný obsah vitaminu C je shrnut v Tabulce 47 a v grafu na Obrázku 27.

Nižší obsah vitaminu C mají odrůdy ukrajinského původu: 'Vyšegorodský', 'Elegantní', 'Lukjanovský' a 'Vydubecký', který se pro tyto odrůdy pohyboval v rozmezí 12,85–21,10 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Nejvyšší obsah vitaminu C byl nalezen v české odrůdě 'Ruzynský' – 40,01 mg.100 g<sup>-1</sup>.

V tureckých odrůdách se obsah vitaminu C pohyboval v rozmezí 16–112 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů [25, 28, 32]. Ve slovenských odrůdách bylo nalezeno 16,4–38,5 mg.100 g<sup>-1</sup> [29], v polské odrůdě 75,1 mg.100 g<sup>-1</sup> [34], v řeckých planě rostoucích dřínech až 103,3 mg.100 g<sup>-1</sup> [30], v srbských odrůdách 14,96–38,87 mg.100 g<sup>-1</sup> [31] a v rumunských 35–60 mg.100 g<sup>-1</sup> [27].

Tabulka 47: Průměrný obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách dřínu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda dřínu	původ odrůdy	obsah vitaminu C (mg.100 g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Elegantní	ukrajinská	15,65 ± 6,44	e
Fruchtal	rakouská	35,78 ± 1,78	ab
Jolico	rakouská	35,58 ± 6,95	ab
Lukjanovský	ukrajinská	19,17 ± 2,47	de
Olomoucký	česká	31,80 ± 4,06	ab
Ružňanský	česká	40,01 ± 4,27	a
Sokolnický	slovenská	33,02 ± 5,74	ab
Tišnovský	česká	28,22 ± 3,25	bc
Vydubecký	ukrajinská	21,10 ± 2,10	cd
Vyšegorodský	ukrajinská	12,85 ± 6,81	e



Obrázek 27: Krabicový graf – Průměrný obsah vitaminu C v odrůdách dřínu obecného

**Množství celkových polyfenolů** vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové na 100 g čerstvých plodů se pohybovalo v rozmezí 81,96–428,22 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Dílčí výsledky jsou uvedeny v Tabulce 86 v Příloze 4.

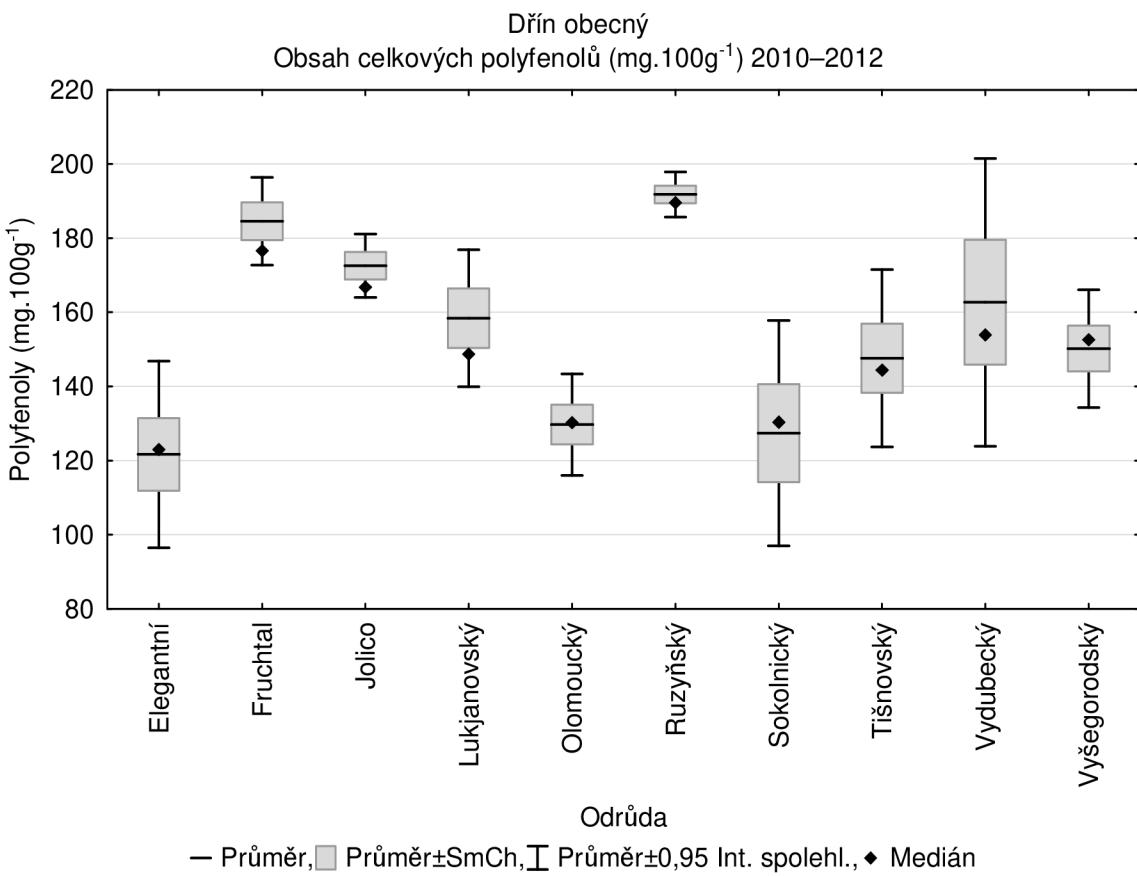
Tabulka 48: Průměrný obsah polyfenolů v jednotlivých odrůdách dřínu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda dřínu	původ odrůdy	obsah polyfenolů (mg.100 g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Elegantní	ukrajinská	121,65 ± 17,55	e
Fruchtal	rakouská	184,56 ± 9,46	ab
Jolico	rakouská	172,55 ± 6,87	abc
Lukjanovský	ukrajinská	158,42 ± 14,82	bcd
Olomoucký	česká	129,72 ± 9,54	de
Ruzyňský	česká	191,79 ± 4,23	a
Sokolnický	slovenská	127,41 ± 24,39	de
Tišnovský	česká	147,62 ± 16,67	cde
Vydubecký	ukrajinská	162,68 ± 31,11	abc
Vyšegorodský	ukrajinská	150,21 ± 11,04	cde

Obsah polyfenolů se ve většině případů významně nelišil v závislosti na odrůdě (Tabulka 48, Obrázek 28). Na rozdíl od rakytníku řešetlákového není závislost obsahu celkových polyfenolů na obsahu vitaminu C významná, což je s největší pravděpodobností způsobeno nižším obsahem vitaminu C a taktéž přítomností anthokyanových barviv, které vykazují antioxidační účinky a mohou tak přispívat k obsahu celkových polyfenolů [123, 126].

Nejvyšší obsah polyfenolů byl naměřen v odrůdě 'Ruzyňský' (291,8 mg.100 g<sup>-1</sup>), nejnižší v ukrajinské odrůdě 'Elegantní' (121,65 mg.100 g<sup>-1</sup>).

Ve srovnání s literaturou jsou hodnoty mírně nižší – obsah celkových polyfenolů se v jiných studiích pohyboval v českých, ukrajinských a rakouských odrůdách v rozsahu 261–811 mg.100 g<sup>-1</sup> [33], v řeckých bylo stanoveno 1592 mg.100 g<sup>-1</sup> [30], v tureckých odrůdách 281–579 mg.100 g<sup>-1</sup> [25], v polských 464 mg.100 g<sup>-1</sup> [34] a v rumunských odrůdách 150–400 mg.100 g<sup>-1</sup> [27] celkových polyfenolů. U obsahu polyfenolických látek závisí na způsobu extrakce – uvedené studie prováděly extrakci do organických rozpouštědel.



Obrázek 28: Krabicový graf – Průměrný obsah celkových polyfenolů v odrůdách dřínu obecného

**Obsah celkových anthokyanů** vyjádřených v ekvivalentech kyanidin-3-glukosidu se pohyboval v rozmezí  $4,646\text{--}17,850 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů.

Tabulka 49: Průměrný obsah celkových anthokyanů v jednotlivých odrůdách dřínu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda dřínu	původ odrůdy	celkové anthokyanы $\text{mg.}100 \text{ g}^{-1}$ plodů ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Elegantní	ukrajinská	$6,880 \pm 0,208$	b
Fruchtal	rakouská	$8,796 \pm 1,633$	b
Jolico	rakouská	$8,253 \pm 1,529$	b
Lukjanovský	ukrajinská	$12,443 \pm 2,874$	a
Olomoucký	česká	$8,038 \pm 2,585$	b
Ruzynský	česká	$13,323 \pm 2,600$	a
Sokolnický	slovenská	$7,646 \pm 1,172$	b
Tišnovský	česká	$8,545 \pm 1,103$	b
Vydubecký	ukrajinská	$6,980 \pm 1,311$	b
Výšegorodský	ukrajinská	$7,445 \pm 0,640$	b

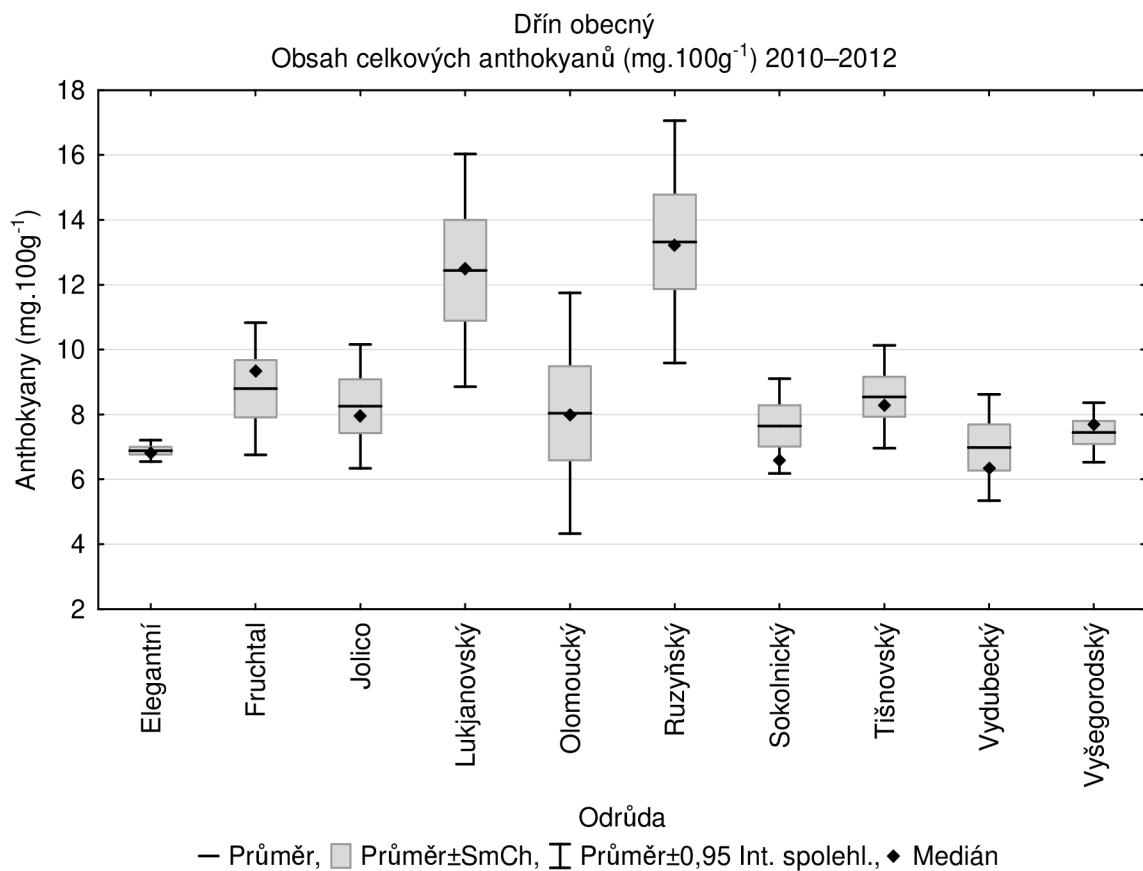
Obsah anthokyanů v plodech dřínu obecného byl celkem vyrovnaný (Tabulka 49, Obrázek 29). V rámci jednotlivých odrůd byl však nalezen poměrně vysoký rozptyl mezi jednotlivými sklizněmi (viz Tabulka 91, Příloha 4). Vyšší obsah anthokyanů, zároveň s nejvyšším

rozptylem, byl stanoven v odrůdách 'Lukjanovský' a 'Ruzyňský'. Obsah anthokyanových barviv roste se zralostí plodů. Méně zralé plody jsou světle červené, přezrálé plody mají tmavě červenou barvu. Pro usnadnění sklizně lze plody sbírat pro další potravinářské zpracování i mírně přezrálé [3, 20].

V extraktech z plodů dřínu do organických rozpouštědel byl stanoven obsah polyfenolů na  $223 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v řeckých odrůdách [30],  $112\text{--}292 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v tureckých [25, 32] a  $160 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v polských odrůdách.

Obsah anthokyanů záleží také na zralosti. V srbských odrůdách byl nalezen rozdíl mezi nezralými a zralými plody  $36,35$  a  $116,38 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  [31], v rumunských  $11,2 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v nezralých plodech a  $92,2 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  ve zralých plodech [27].

Uvedené hodnoty v literatuře jsou vyšší než nalezené hodnoty v dizertaci. Obsah anthokyanů byl v uvedených zdrojích stanovován v extraktech, které byly většinou připraveny extrakcí anthokyanů do organických rozpouštědel po vysušení plodu. Do celkového obsahu anthokyanů jsou tak započítány i anthokyany ze slupky, v které bývá obsah anthokyanů zpravidla nejvyšší z celého ovoce [169]. Při průmyslovém lisování ovoce je využívána pouze šťáva z dužiny, slupky tak většinou zůstavají neporušené.



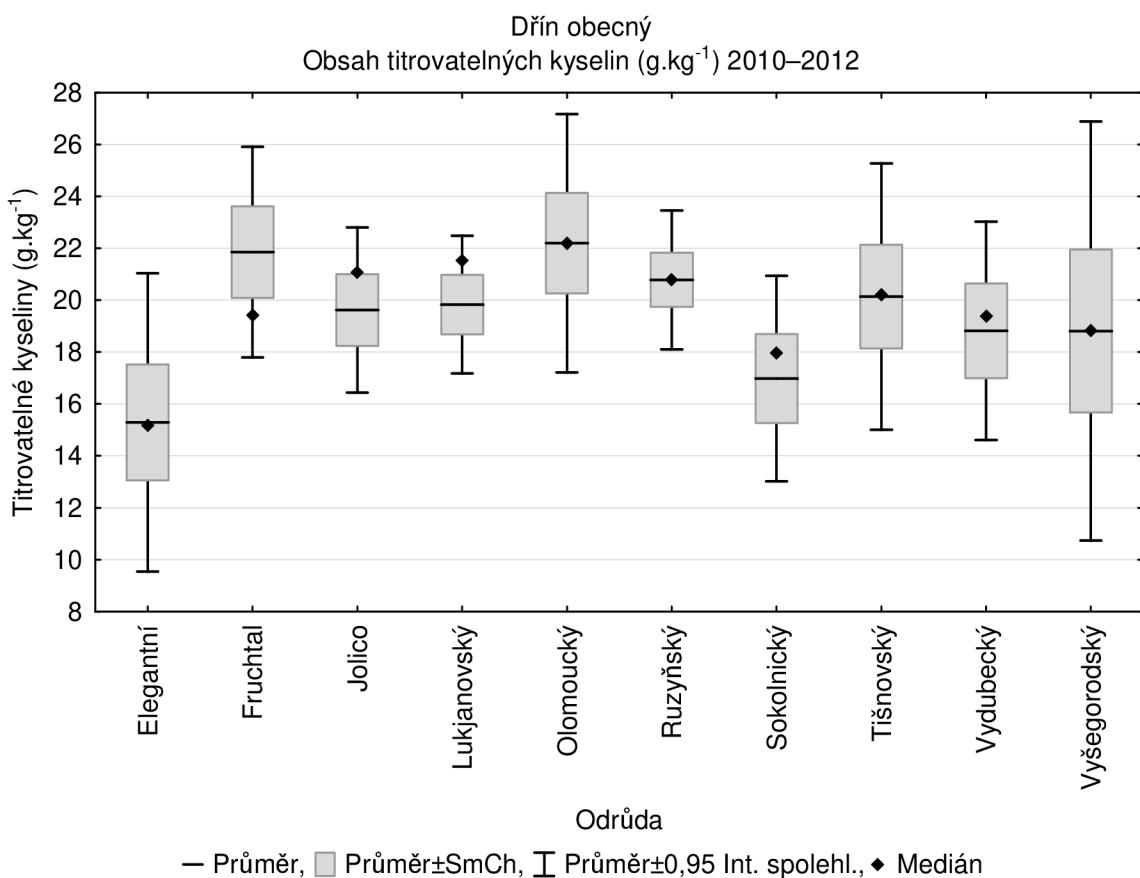
Obrázek 29: Krabicový graf – Průměrný obsah celkových anthokyanů v odrůdách dřínu obecného

**Obsah titrovatelných kyselin** vyjádřených v ekvivalentech majoritní složky organických kyselin – kyseliny jablečné, se pohyboval v letech 2010–2012 v rozmezí  $10,61\text{--}28,78 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ovoce (dílčí výsledky viz Tabulka 88, Příloha 4).

Tabulka 50: Průměrný obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých odrůdách dřínu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda dřínu	původ odrůdy	titrační kyselost ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Elegantní	ukrajinská	$15,29 \pm 4,00$	b
Fruchtal	rakouská	$21,85 \pm 3,25$	a
Jolico	rakouská	$19,62 \pm 2,55$	ab
Lukjanovský	ukrajinská	$19,83 \pm 2,13$	ab
Olomoucký	česká	$22,20 \pm 3,47$	a
Ružovský	česká	$20,78 \pm 1,86$	ab
Sokolnický	slovenská	$16,98 \pm 3,17$	ab
Tišnovský	česká	$20,14 \pm 3,57$	ab
Vydubecký	ukrajinská	$18,82 \pm 3,37$	ab
Vyšegorodský	ukrajinská	$18,81 \pm 5,62$	ab

Z Tabulky 50 a grafu na Obrázku 30 je patrné, že mezi jednotlivými odrůdami dřínu obecného v obsahu titrovatelných kyselin nejsou statisticky významné rozdíly.



Obrázek 30: Krabicový graf – Průměrný obsah titrovatelných kyselin v odrůdách dřínu obecného

**Obsah titrovatelných kyselin** se v plodech dřínu obecného pohyboval v rozmezí od 9,62 g.kg<sup>-1</sup> v odrůdě 'Lukjanovský' do 22,20 g.kg<sup>-1</sup> v odrůdě 'Olomoucký'.

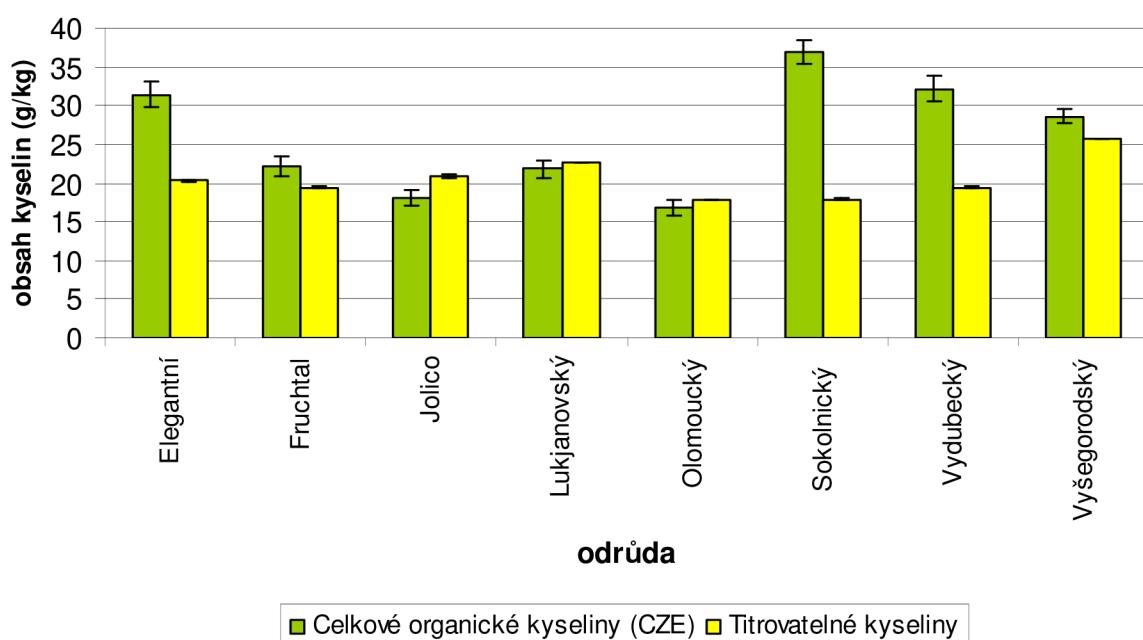
Dosažené hodnoty korespondují s výsledky titrovatelných kyselin publikovanými v odborné literatuře: turecké odrůdy obsahovaly 11,0–46,9 g.kg<sup>-1</sup> [25, 28, 32], na Slovensku divoce rostoucí dřín obecný obsahoval v plodech 46–74 g.kg<sup>-1</sup> [29]. Odrůdy dřínu obecného byly v České republice pěstovány i ve Zlíně s následujícími hodnotami titrovatelných kyselin: 'Elegantní' 23,02 g.kg<sup>-1</sup>, 'Fruchtal' 19,50 g.kg<sup>-1</sup>, 'Jolico' 18,93 g.kg<sup>-1</sup>, 'Sokolnický' 24,00 g.kg<sup>-1</sup> a 'Vydubecký' 22,37 g.kg<sup>-1</sup> [154]. Polské odůrky obsahovaly 39 g.kg<sup>-1</sup> [54], srbské 17,3–36,8 g.kg<sup>-1</sup> [31] a rumunské 4–28 g.kg<sup>-1</sup> [27] titrovatelných kyselin.

Jak již bylo zmíněno u obsahu sušiny v dřínech, obsah titrovatelných kyselin byl nejvyšší ve všech odrůdách ze sklizně 2010 (viz Tabulka 88, Příloha 4), kdy byl zároveň naměřen nejvyšší roční úhrn srážek na území, kde byly rostliny pěstovány (600–700 mm). Naopak, nejnižší obsah titrovatelných kyselin měly plody ze sklizně 2011, kdy roční úhrn srážek činil 300–400 mm. V tomto roce byla zároveň naměřena průměrná roční teplota 10–12°C, což je přibližně o 2 °C více, než v letech 2010 a 2012. Na rozdíly v obsahu mezi jednotlivými sklizněmi tedy mohly mít vliv klimatické podmínky území [168].

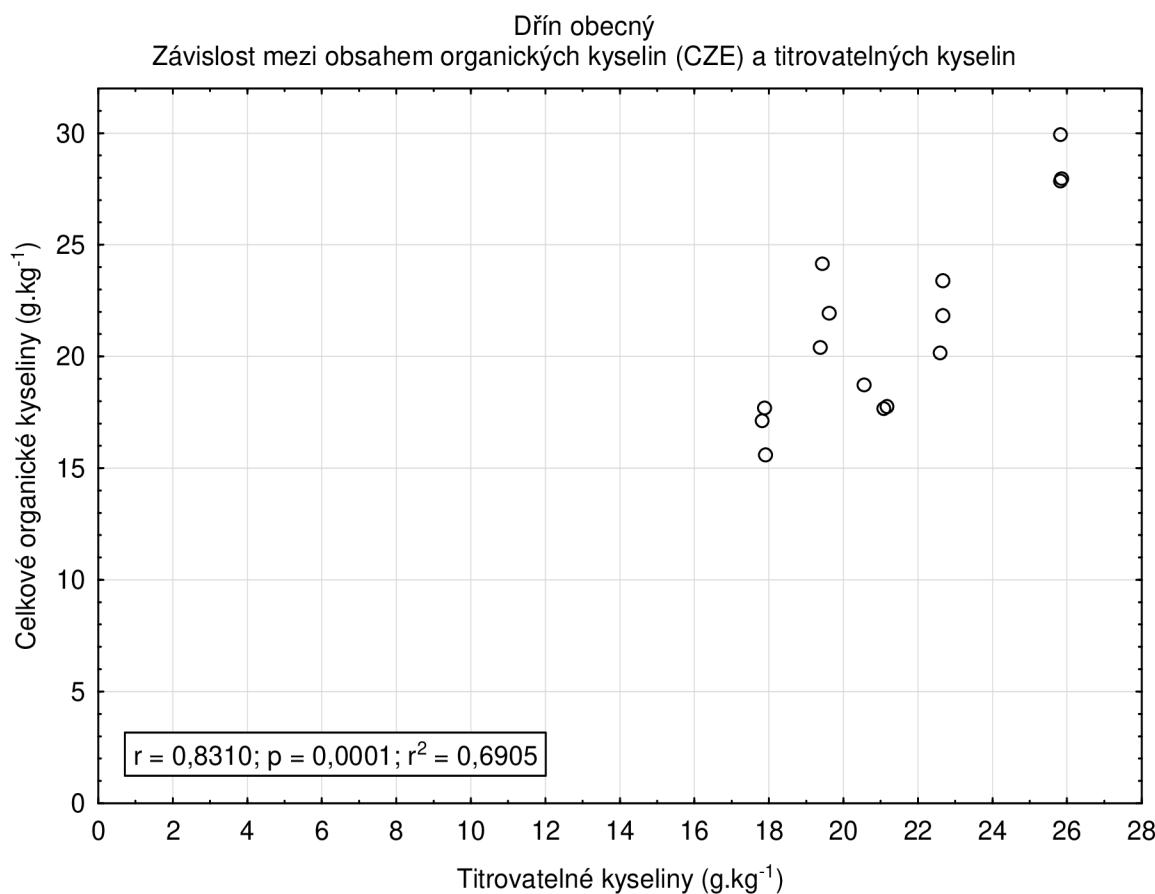
Na následujících dvou Obrázcích 31 a 32 je znázorněn vztah mezi stanovením obsahu kyselin pomocí titrační metody a pomocí kapilární zónové elektroforézy.

Graf na Obrázku 32 znázorňuje korelací mezi těmito dvěma parametry, kdy korelační koeficient R<sup>2</sup> dosáhl hodnoty 0,6905, při P = 0,0001. Pro sestrojení tohoto grafu byla vyjmuta data pro odrůdy 'Elegantní', 'Sokolnický' a 'Vydubecký', která lišila v obsazích kyselin stanovených pomocí obou metod, což je viditelné na grafu v Obrázku 31.

Srovnání obsahu kyselin pomocí CZE a titrační metody



Obrázek 31: Srovnání obsahu celkových organických kyselin (CZE) a obsahu titrovatelných kyselin v odrůdách dřínu obecného



Obrázek 32: Korelace mezi obsahem kyselin v dřínu obecném stanoveným pomocí CZE a titračně

Analýzou plodů dřínu ze sklizně 2012 pomocí CZE byl zjištěn **obsah jednotlivých organických kyselin** (Tabulka 51), z nichž převládala kyselina jablečná s obsahem v rozmezí 11,774–25,785 g·kg⁻¹, dále kyselina chinová, jejíž množství se pohybovalo v rozmezí 4,953–10,542 g·kg⁻¹. Nejméně zastoupenou složkou byla kyselina citronová, která se v plodech vyskytovala v množství 0,157–0,525 g·kg⁻¹. Celkové množství organických kyselin v plodech dřínu obecného se pohybovalo v rozmezí 18,055–36,852 g·kg⁻¹.

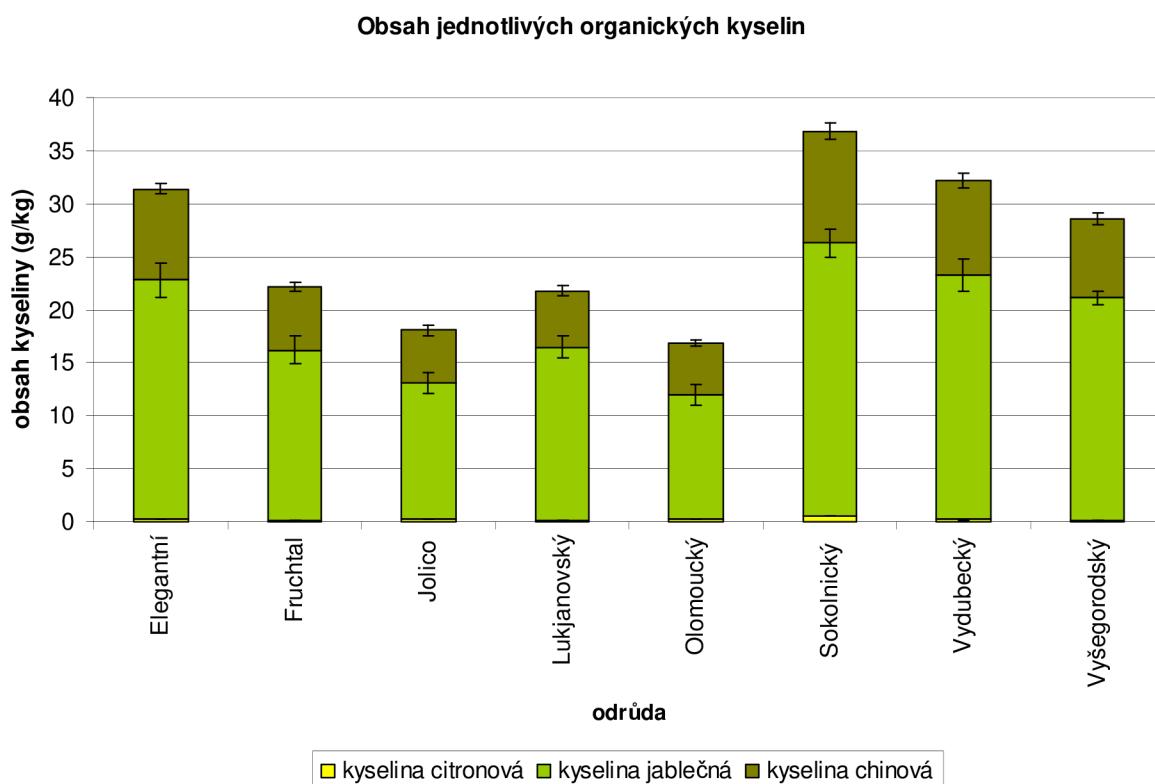
Tabulka 51: Obsah organických kyselin v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného (sklizeň 2012)

Odrůda dřínu	obsah organických kyselin (g·kg⁻¹) ± IS (95%, n = 3)			součet
	citronová	jablečná	chinová	
Elegantní	0,256 ± 0,014	22,533 ± 1,609	8,576 ± 0,491	31,365 ± 1,682
Fruchtal	0,189 ± 0,011	15,997 ± 1,318	5,988 ± 0,422	22,173 ± 1,384
Jolico	0,260 ± 0,017	12,842 ± 0,924	4,953 ± 0,543	18,055 ± 1,072
Lukjanovský	0,185 ± 0,009	16,296 ± 1,024	5,313 ± 0,465	21,794 ± 1,125
Olomoucký	0,234 ± 0,015	11,774 ± 1,019	4,801 ± 0,271	16,809 ± 1,055
Sokolnický	0,525 ± 0,034	25,785 ± 1,339	10,542 ± 0,724	36,852 ± 1,523
Vydubecký	0,216 ± 0,016	23,069 ± 1,485	8,904 ± 0,736	32,189 ± 1,657
Vyšegorodský	0,157 ± 0,019	20,972 ± 0,633	7,461 ± 0,551	28,590 ± 0,839

Rozdíl v obsahu jednotlivých organických kyselin mezi odrůdami byl proporcionální – např. při vyšším obsahu kyseliny jablečné byl zároveň zjištěn vyšší obsah kyseliny chinové.

V grafu na Obrázku 33 je znázorněn podíl jednotlivých organických kyselin na celkovém obsahu organických kyselin v odrůdách dřínu obecného.

Pro charakterizaci ovoce se především používá celkové množství organických kyselin stanovené titrační metodou. Identifikace jednotlivých složek v současné literatuře chybí.



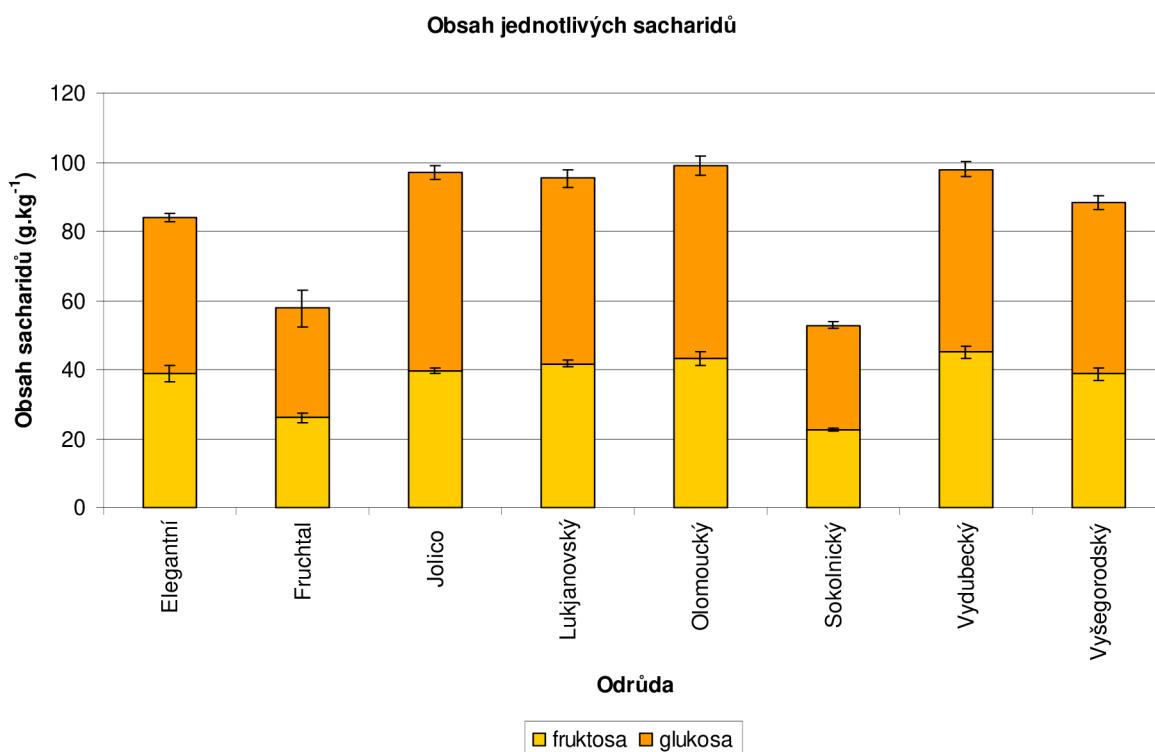
Obrázek 33: Srovnání obsahu jednotlivých organických kyselin v odrůdách dřínu obecného

Nalezený **obsah sacharidů** v jednotlivých odrůdách dřínu obecného je výrazně vyšší než u rakytníku řešetlákového, u kterého se pohybuje kolem  $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . U plodů dřínu také mírně převládá obsah glukosy ( $30,27\text{--}57,45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) nad obsahem fruktosy ( $22,55\text{--}44,97 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Celkové množství sacharidů v plodech dřínu obecného se pohybovalo v rozmezí hodnot  $52,83\text{--}99,07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Nižší obsah sacharidů obsahovaly odrůdy 'Sokolnický' a 'Fruchtal' ( $52,83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a  $57,63 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 52 a Obrázku 34.

V plodech pěstovaných na území Evropy bylo složení či obsah sacharidů pozorován následující: V polských odrůdách byl stanoven obsah fruktosy na  $37 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a glukosy na  $54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [54]. V srbských odrůdách se obsah celkových sacharidů pohyboval v rozmezí  $134,9\text{--}252,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [31]. Turecké odrůdy obsahovaly  $42,2\text{--}99,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  celkových sacharidů [28] a  $76,8\text{--}154,0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [25]. Divoce rostoucí plody dřínu obecného byly sledovány na Slovensku a obsah sacharidů byl stanoven na  $65\text{--}155 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [29]. Identifikace sacharidů byla provedena na rumunských odrůdách, kde byl nalezen obsah fruktosy  $22\text{--}38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a glukosy  $25\text{--}70 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [27].

Tabulka 52: Obsah sacharidů v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného (sklizeň 2012)

Odrůda dřínu	obsah sacharidů (g.kg <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 3)			součet
	fruktosa	glukosa	sacharosa	
Elegantní	38,73 ± 2,41	45,16 ± 1,21	nedetekováno	83,89 ± 2,70
Fruchtal	26,01 ± 1,44	31,62 ± 5,43	nedetekováno	57,63 ± 5,62
Jlico	39,67 ± 0,71	57,45 ± 1,97	nedetekováno	97,12 ± 2,10
Lukjanovský	41,78 ± 1,18	53,47 ± 2,64	nedetekováno	95,25 ± 2,89
Olomoucký	43,09 ± 1,98	55,98 ± 2,89	nedetekováno	99,07 ± 3,51
Sokolnický	22,55 ± 0,39	30,27 ± 1,13	nedetekováno	52,83 ± 1,19
Vydubecký	44,97 ± 1,77	52,95 ± 2,15	nedetekováno	97,92 ± 2,78
Vyšegorodský	38,72 ± 1,71	49,53 ± 2,01	nedetekováno	88,25 ± 2,64



Obrázek 34: Srovnání obsahu jednotlivých sacharidů v odrůdách dřínu obecného

Poměr obsahu sacharidů ku obsahu organických kyselin má velký vliv na celkový vjem chuti ovoce. U jednotlivých odrůd dřínu obecného byly nalezeny velké rozdíly (viz Tabulka 53). Nejnižší poměr, znamenající nejkyselejší plody, byl nalezen u odrůdy 'Sokolnický' (1,43), která měla zároveň nejvyšší obsah organických kyselin a nejnižší obsah celkových sacharidů ze všech sledovaných odrůd. Nejsladší plody, tedy nejvyšší poměr, má odrůda 'Olomoucký' (5,89), která naopak obsahuje nejnižší množství organických kyselin a zároveň nejvyšší množství sacharidů ze všech odrůd.

Tabulka 53: Poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami v odrůdách dřínu obecného

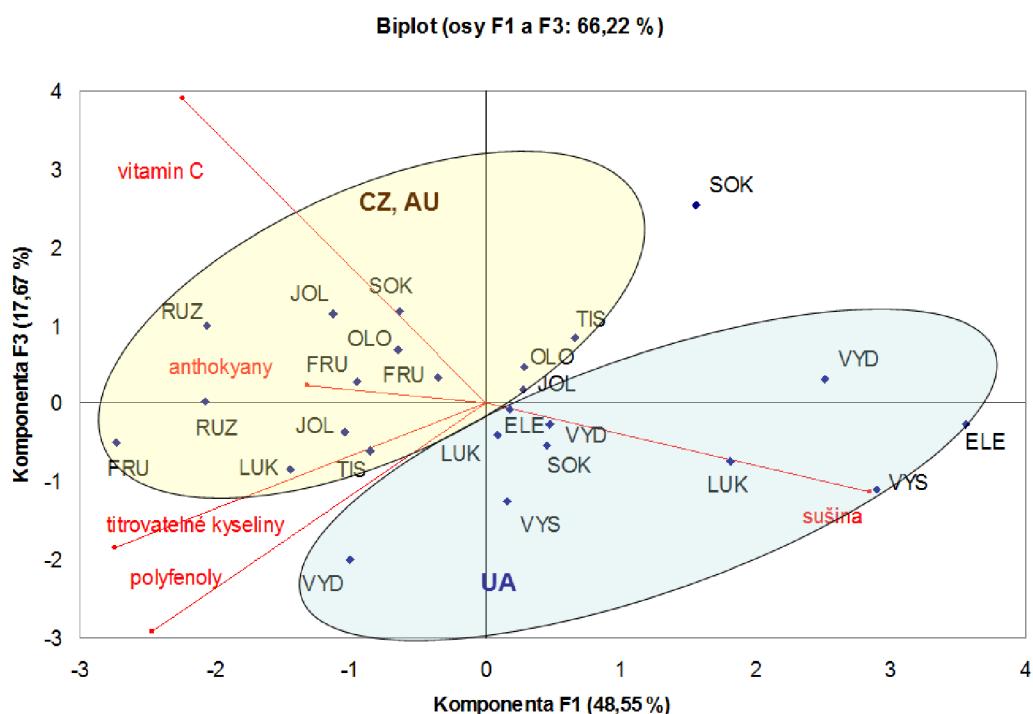
odrůda	celkové organické kyseliny (g.kg <sup>-1</sup> )	celkové sacharidy (g.kg <sup>-1</sup> )	poměr sacharidy: organické kyseliny
Elegantní	31,365	83,89	2,67
Fruchtal	22,173	57,63	2,60
Jolico	18,055	97,12	5,38
Lukjanovský	21,794	95,25	4,37
Olomoucký	16,809	99,07	5,89
Sokolnický	36,852	52,83	1,43
Vydubecký	32,189	97,92	3,04
Vyšegorodský	28,590	88,25	3,09

Poměr obsahu sacharidů a organických kyselin může být ovlivněn nejen genetickým původem, ale také zralostí plodů.

### 5.2.2.1 Statistická analýza

Podobně jako u rakytníku řešetlákového (kapitola 5.2.1.1) byly hodnoty jednotlivých parametrů pro všechny odrůdy dřínu obecného podrobeny statistické analýze vícerozměrných dat, konkrétně analýze hlavních komponent (PCA) a shlukové analýzy (CLU) pro grafické znázornění rozdílů mezi sledovanými odrůdami.

**Pro analýzu hlavních komponent PCA** byly vybrány parametry sledované po všechny tři roky 2010–2012: obsah sušiny, vitaminu C, polyfenolů, anthokyanů a titrovatelných kyselin. Data byla nejdříve prošetřena z hlediska odlehlých výsledků a normálního rozložení dat a poté podrobena analýze hlavních komponent pomocí Pearsonova rozdělení.



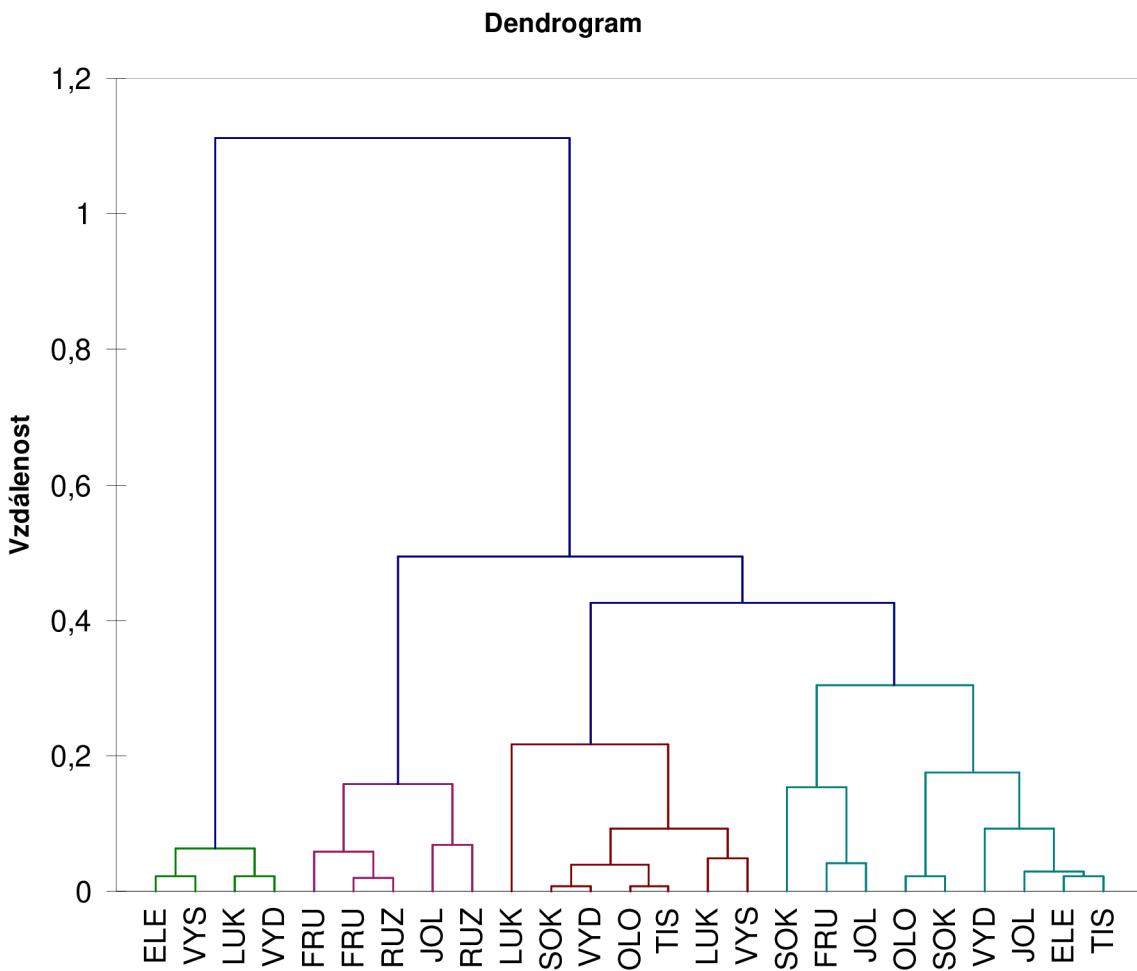
Obrázek 35: Biplot analýzy hlavních komponent (PCA) pro jednotlivé odrůdy dřínu obecného

Z kombinovaného rozptylového diagramu na Obrázku 35 lze mezi jednotlivými odrůdami pozorovat rozdíly na základě jejich původu. Obecně byly mezi jednotlivými odrůdami dřínu obecného pozorovány menší rozdíly v obsahu jednotlivých parametrů než u odrůd rakytníku, proto se odrůdy nevyskytují v grafu v izolovaných shlucích (klastrech), ale jejich rozlišení lze spíše pozorovat orientací v grafu, tzn. polohou v jednotlivých kvadrantech. Díky nízké variabilitě výsledků je i procentuální podíl jednotlivých komponent na celkovém skóre nižší. Součet komponent F1 a F3 je jen 66,22 %. Přesto stačí nalezené rozptyly alespoň k částečnému rozlišení původu odrůd. Zatímco české (v grafu CZ) a rakouské (AU) odrůdy ('Ruzyňský' – RUZ, 'Olomoucký' – OLO, 'Tišnovský' – TIS a 'Jolico' – JOL, 'Fruchtal' – FRU) se vyznačují vyšším obsahem vitaminu C a anthokyanů, obsahují menší podíl sušiny. Naopak, odrůdy původem z Ukrajiny (v grafu v shluku označeném UA), kam řadíme odrůdy 'Elegantní' (ELE), 'Vyšegorodský' (VYS), 'Vydubecký' (VYD) a 'Lukjanovský' (LUK), dosahují vyšších hodnot sušiny a obsahují méně vitaminu C a anthokyanů. Polohou jsou ukrajinské odrůdy orientovány více ve čtvrtém kvadrantu, na rozdíl od českých a rakouských odrůd, které se nachází v prvním kvadrantu. Slovenskou odrůdu 'Sokolnický' (SOK), stejně jako českou odrůdu 'Tišnovský' lze zařadit na pomezí těchto dvou skupin.

Izolovaný výskyt některých ukrajinských odrůd ve čtvrtém kvadrantu je ovlivněn rozptyly hodnot parametrů jiných než sušina. Např. u odrůdy 'Vyšegorodský' byl zaznamenán velký rozptyl hodnot v titrovatelných kyselinách, viz Tabulka 88 Přílohy 4. Stejně tak byl u odrůdy 'Vydubecký' pozorován rozptyl hodnot u obsahu polyfenolů a vitaminu C, viz Tabulka 89 Přílohy 4.

Nízkou variabilitu výsledků odhaluje i dendrogram sestavený na základě **analýzy shluků** (**Cluster analysis, CLU**), kde jsou jednotlivé výskytty stejných odrůd zařazeny do různých klastrů s odlišnými vlastnostmi (Obrázek 36).

Dendrogram byl sestaven za použití eukleidovské metriky a Wardovy metody shlukování po prvotní standardizaci dat.



Obrázek 36: Dendrogram shlukové analýzy (CLU) pro jednotlivé odrůdy dřínu obecného

Pomocí statistických analýz vícerozměrných dat byla potvrzena nízká variabilita mezi sledovanými odrůdami dřínu obecného. Od ostatních byly dobře separovány především odrůdy 'Ružynský' (česká odrůda) a 'Fruchtal' (rakouská odrůda), které se vyznačovaly vysokým obsahem vitaminu C a titrovatelných kyselin.

Statistické analýzy vícerozměrných dat byly v několika případech použity k charakterizaci odrůd dřínu ovocného i v literatuře.

K rozlišení příbuznosti íránských odrůd sklízených v jednom roce byl použit dendrogram sestavený na základě shlukové analýzy a faktorová analýza. Kromě obsahu kyselin, sacharidů, vitaminu C a sušiny byly do analýzy zahrnuty i pomologické charakteristiky, jako jsou např. rozměry a váha plodu. Mezi jednotlivými odrůdami byly nalezeny rozdíly, avšak pomocí rozptylového diagramu nebyly pozorovány výrazné separované shluky odrůd s podobným vlastnostmi. Rozdíly mezi skupinami odrůd byly lépe separovány shlukovou analýzou a jejich výsledky korelovaly s polohou jednotlivých odrůd v rozptylovém grafu [170].

K rozlišení tureckých odrůd na základě antioxidační aktivity byla použita PCA. Protože mezi většinou použitých metod byla nalezena korelace, jejich vektory v grafu komponentních vah byly orientovány v jednom kvadrantu. Pomocí rozptylového diagramu byly nalezeny izolované klastry (shluky) odrůd a bylo tak potvrzeno, že použití různých metod

charakterizujících antioxidační schopnosti dřínových extraktů může spolu s PCA sloužit jako nástroj pro charakterizaci a rozlišení odrůd [171].

PCA analýza byla použita i při charakterizaci fyzikálně-chemických vlastností srbských odrůd dřínu obecného a pomohla lépe rozlišit a charakterizovat jednotlivé odrůdy a nalézt mezi nimi podobnost ve vybraných sledovaných znacích [31].

### **5.2.2.2 Zhodnocení odrůd**

Plody dřínu dozrávají na území naší republiky od srpna do září, v závislosti na stanovišti. Pro dřívější sběr je vhodná např. odrůda 'Výsegorodský', později dozrává odrůda 'Jolico'. [150, 153].

Z pohledu obsahu sledovaných biologicky aktivních látek jako jsou vitamin C, polyfenoly a anthokyany, lze doporučit pro využití v potravinářství především odrůdu 'Ruzyňský'. Z ohledu na efektivnost plodnosti, kterou představuje hmotnost plodů na kubaturu rostliny, byly doporučeny rakouské odrůdy 'Fruchtal' ( $3,73 \text{ kg.m}^{-3}$ ) a 'Jolico' ( $3,07 \text{ kg.m}^{-3}$ ) [153], které taktéž obsahují vyšší množství sledovaných biologicky aktivních látek.

### 5.2.3 Jeřáb ptačí

Byly analyzovány následující parametry ve třech letech 2010, 2011 a 2012 u 12 odrůd jeřábu ptačího – viz Tabulka 14.

**Obsah sušiny** se v plodech jeřábu v rámci všech tří let pohyboval v rozmezí hodnot 17,14–35,57 %. Výsledky pro jednotlivé roky jsou uvedeny v Tabulce 92 Přílohy 5.

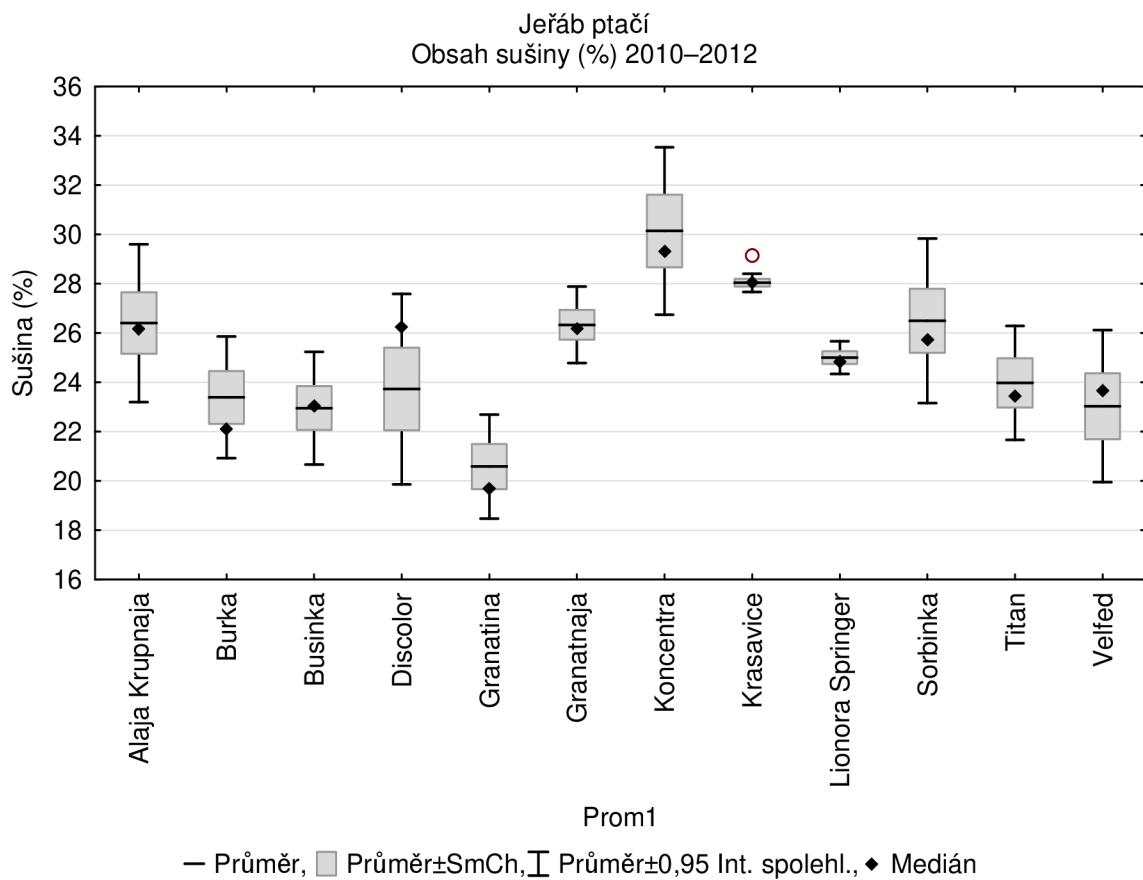
Tabulka 54: Průměrný obsah sušiny v jednotlivých odrůdách jeřábu ptačího (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda jeřábu	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 6)	skupina
Alaja Krupnaja	26,40 ± 2,23	bc
Burka	23,38 ± 1,98	cd
Businka	22,95 ± 1,59	cd
Discolor	23,72 ± 3,09	cd
Granatina	20,58 ± 1,69	d
Granatnaja	26,33 ± 1,08	bc
Koncentra	30,14 ± 2,72	a
Krasavice	28,04 ± 0,46	ab
Lionora Springer	25,00 ± 0,46	bc
Sorbinka	26,49 ± 2,32	bc
Titan	23,97 ± 1,85	cd
Velfed	23,03 ± 2,47	cd

\*hodnota sušiny z roku 2012 (51,13 %) vyloučena z průměru kvůli odlehlosti.

Tabulka 54 a graf na Obrázku 37 znázorňují průměrný obsah sušiny v jednotlivých odrůdách jeřábu ptačího. Nejvyšší průměrnou hodnotu obsahu sušiny dosahovala odrůda 'Koncentra' (30,14 %) a nejnižší odrůda 'Granatina' (20,58 %).

V rámci studií prováděných v evropských zemích byly nalezeny srovnatelné hodnoty: jeřabiny pěstované v Polsku obsahovaly 30,7 % sušiny [72], v Litvě pěstované odrůdy obsahovaly přibližně o 2–3 % absolutních méně sušiny: Burka 20,81 %, Titan 19,06 %, Granatnaja 20,75 %, Businka 19,11 %. Vyšší rozdíl (10 % absolutních) byl nalezen u odrůdy Alaja Krupnaja 16,30 % [172]. Vyšší rozdíly mohou být ovlivněny především klimatickými podmínkami jako je zeměpisná šířka nebo podnebí, klima daného roku sklizně a v neposlední řadě také dobou sběru.



Obrázek 37: Krabicový graf – Průměrný obsah sušiny (%) v odrůdách jeřábu ptačího

**Obsah vitaminu C** je v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího značně variabilní a dílčí výsledky ze sklizní 2010–2012 se pohybovaly od 2,97 do 106,33 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů (viz Tabulka 94 v příloze 5).

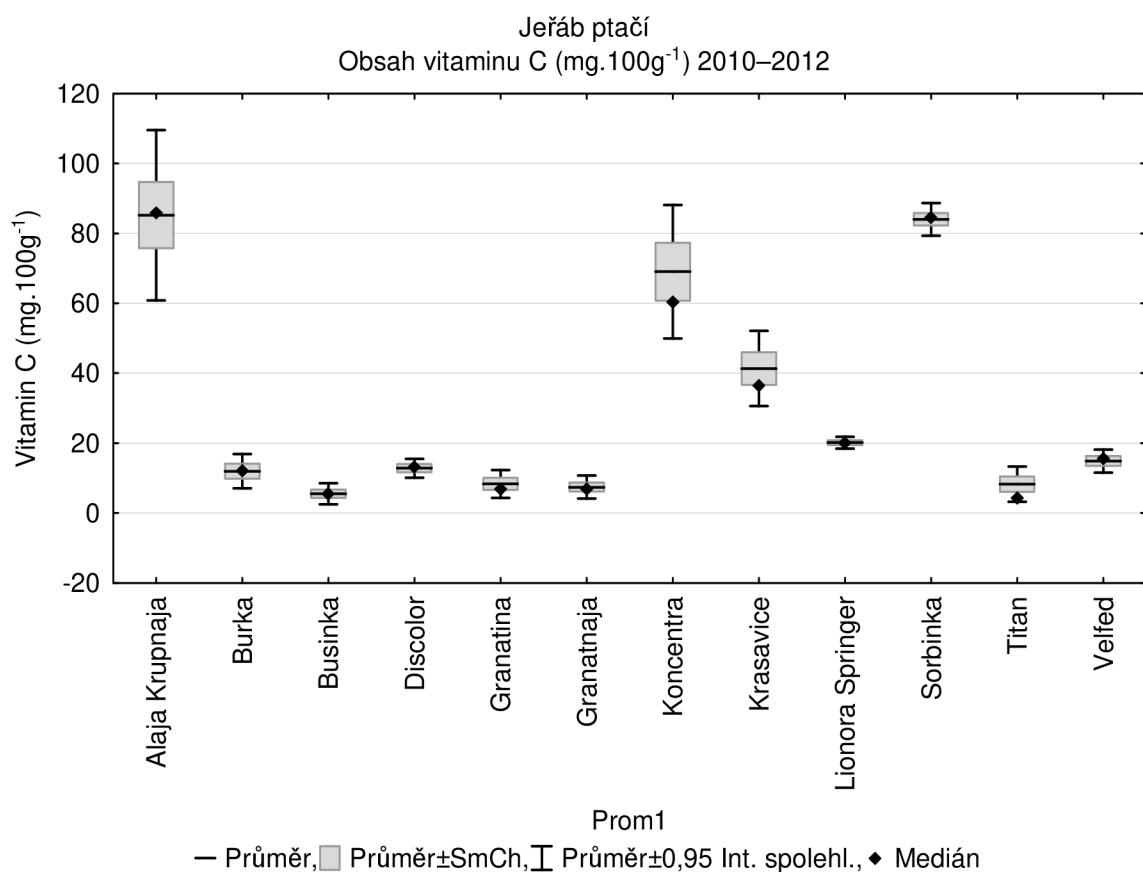
Tabulka 55 a graf na Obrázku 38 shrnují průměrný obsah vitaminu C za všechny tři sklizně.

Obsah vitaminu C v plodech jeřábu ptačího je silně ovlivněn původem odrůdy (hybridu). Nejvyšší obsah vitaminu C byl pozorován v odrůdě 'Alaja Krupnaja', 'Koncentra' a 'Sorbinka' (85,22; 69,04 a 84,00 mg.100 g<sup>-1</sup>), odrůdy 'Alaja Krupnaja' a 'Sorbinka' byly vyšlechtěny z českého ekotypu *Sorbus aucuparia moravica*, který se vyznačuje nízkou hořkostí plodů, odrůda 'Koncentra' byla vypěstována v Německu z původní sladké ruské odrůdy 'Nevěžinský' [69]. U většiny ostatních odrůd byl obsah vitaminu C poměrně vyrovnaný, avšak výrazně nižší: 5,54–20,14 mg.100 g<sup>-1</sup>.

V dosud vydaných odborných studiích nebyl podrobně studován obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách jeřábu ptačího. V Polské studii bylo nalezeno v plodech jeřábu ptačího 131,2 mg.100 g<sup>-1</sup> [72], vypěstované jeřabiny v Turecku obsahovaly 44,12 mg.100 g<sup>-1</sup> [172], není však zmíněno, zda jde o divoce rostoucí jeřáb nebo některou ze šlechtěných odrůd.

Tabulka 55: Obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách plodů jeřábu ptačího (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda jeřábu	obsah vitaminu C ( $\text{mg.}100 \text{ g}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Alaja Krupnaja	$85,22 \pm 16,94$	a
Burka	$11,97 \pm 3,96$	de
Businka	$5,54 \pm 2,09$	e
Discolor	$12,83 \pm 2,18$	de
Granatina	$8,35 \pm 3,17$	de
Granatnaja	$7,40 \pm 2,30$	de
Koncentra	$69,04 \pm 15,30$	b
Krasavice	$41,36 \pm 8,61$	c
Lionora Springer	$20,14 \pm 1,17$	d
Sorbinka	$84,00 \pm 3,24$	a
Titan	$8,27 \pm 4,02$	de
Velfed	$14,88 \pm 2,64$	de

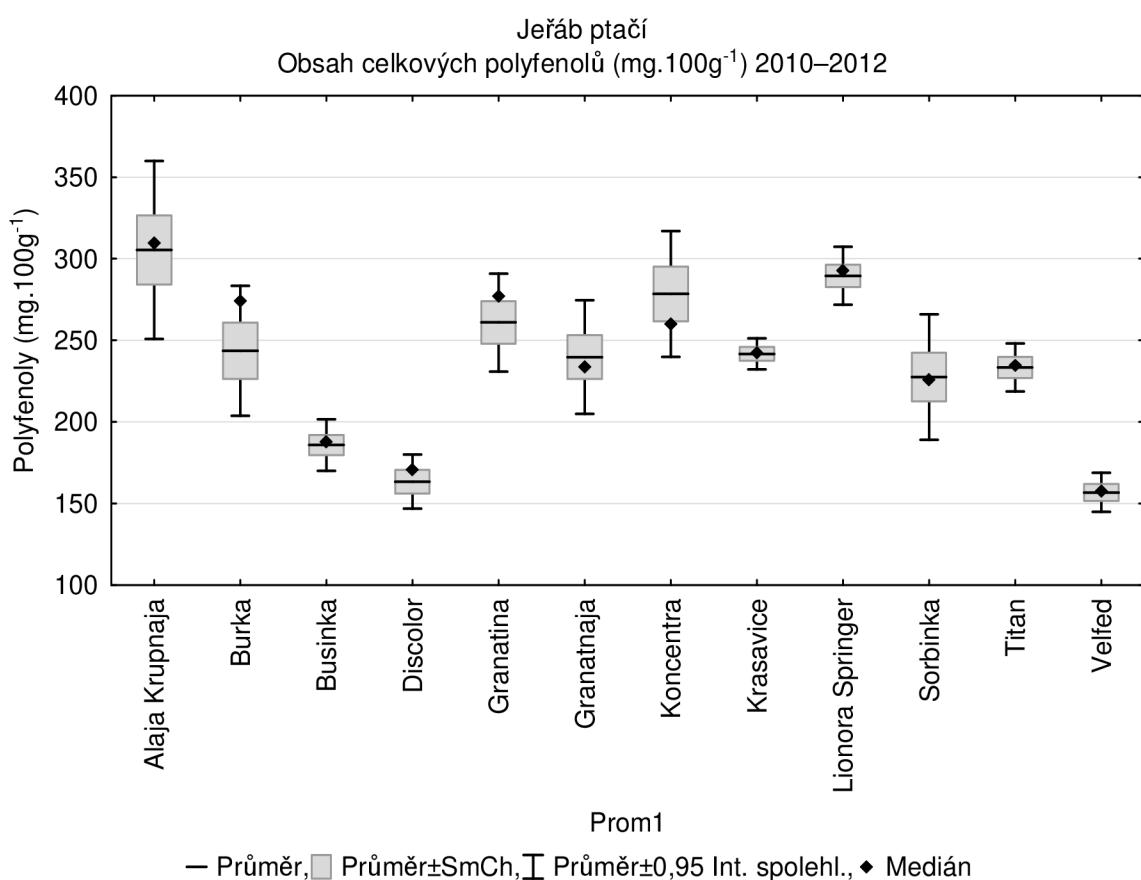


Obrázek 38: Krabicový graf – Průměrný obsah vitaminu C v odrůdách jeřábu ptačího

**Množství celkových polyfenolů** vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové se pohybovalo pro všechny tři roky 2010–2012 v rozmezí  $138,17\text{--}341,18 \text{ mg.100 g}^{-1}$  plodů. Dílčí výsledky jsou uvedeny v Tabulce 95, příloha 5. Průměrný obsah polyfenolů v jednotlivých odrůdách jeřábu ptačího je znázorněn v Tabulce 56 a v grafu na Obrázku 39.

Tabulka 56: Průměrný obsah polyfenolů v jednotlivých odrůdách plodů jeřábu ptačího (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda jeřábu	obsah polyfenolů ( $\text{mg.100 g}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Alaja Krupnaja	$305,40 \pm 37,98$	a
Burka	$243,58 \pm 31,96$	cd
Businka	$185,79 \pm 10,96$	e
Discolor	$163,34 \pm 13,31$	e
Granatina	$260,93 \pm 24,04$	bcd
Granatnaja	$239,75 \pm 24,18$	d
Koncentra	$278,38 \pm 30,84$	abc
Krasavice	$241,69 \pm 7,60$	cd
Lionora Springer	$289,51 \pm 12,37$	ab
Sorbinka	$227,48 \pm 26,74$	d
Titan	$233,35 \pm 11,87$	d
Velfed	$156,75 \pm 9,60$	e



Obrázek 39: Krabicový graf – Průměrný obsah celkových polyfenolů v odrůdách jeřábu ptačího

Obsah polyfenolů v plodech jeřábu ptačího byl nejnižší u odrůd 'Discolor' (163,30 mg.100 g<sup>-1</sup>) a 'Velfed' (156,75 mg.100 g<sup>-1</sup>), nejvyšší u odrůdy 'Alaja Krupnaja' (305,40 mg.100 g<sup>-1</sup>).

Podobně jako u dřínů obecných nebyla pozorována statisticky významná korelace mezi obsahem vitaminu C a obsahem celkových polyfenolických látek v plodech jeřábu obecného.

Obsah polyfenolů byl sledován v plodech jeřábu ptačího divoce rostoucího ve Slovinsku. Methanolové extrakty obsahovaly 540,7 mg.100 g<sup>-1</sup>, vyjádřeno v ekvivalentech kyseliny gallové [173]. V různých odrůdách pěstovaných ve Finsku se obsah polyfenolů stanovený pomocí F-C činidla pohyboval mezi 550–1014 mg.100 g<sup>-1</sup> v závislosti na odrůdě. Byly studovány odrůdy 'Burka', 'Alaja Krupnaja', 'Granatnaja' a 'Titan' [66].

**Obsah celkových anthokyanů** vyjádřených v ekvivalentech kyanidin-3-glukosidu v plodech jeřábu obecného se pohyboval v letech 2010–2012 v rozmezí 0,328–31,173 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Dílčí výsledky jsou uvedeny v Tabulce 96, Příloha 5.

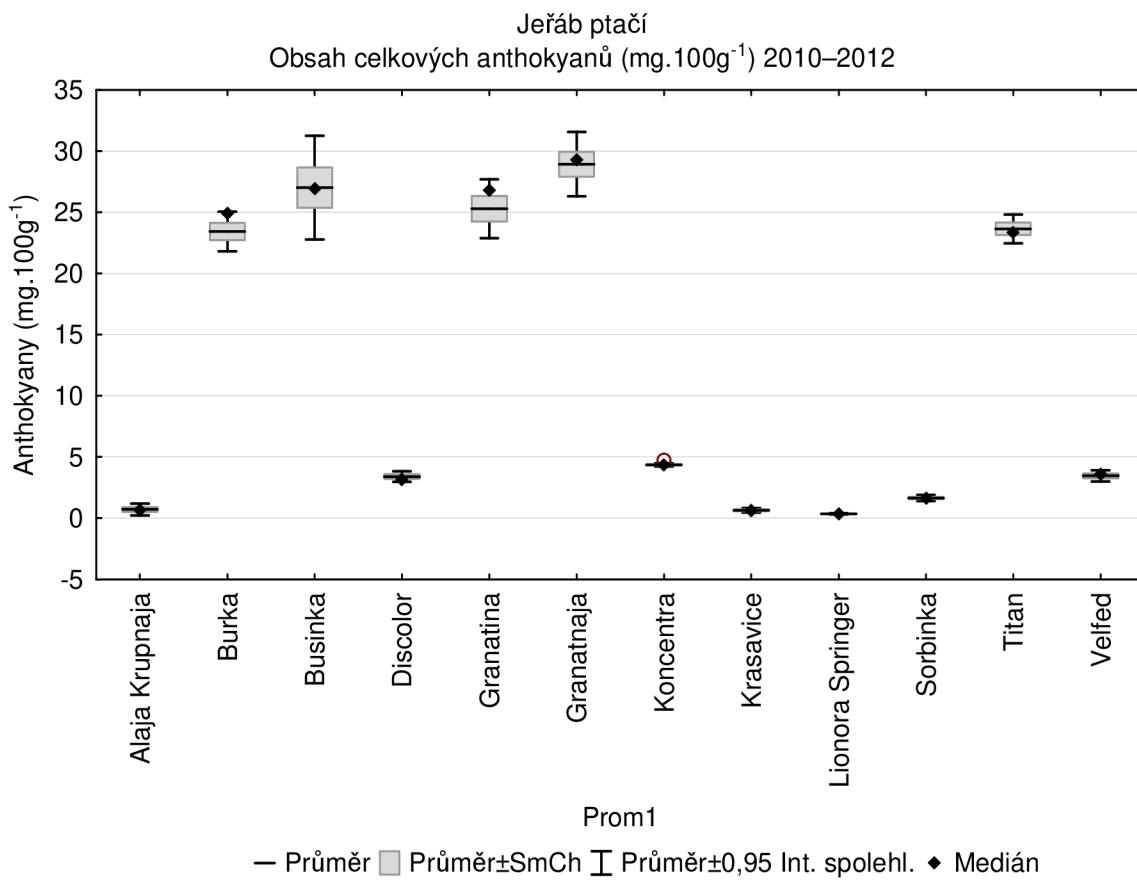
Tabulka 57 a graf na Obrázku 40 shrnují průměrný obsah anthokyanů.

Tabulka 57: Průměrný obsah celkových anthokyanů v jednotlivých odrůdách jeřábu obecného (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda jeřábu	obsah anthokyanů (mg.100 g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Alaja Krupnaja	0,710 ± 0,340	f
Burka	23,424 ± 1,306	c
Businka	27,022 ± 2,947	b
Discolor	3,398 ± 0,350	de
Granatina	25,288 ± 1,934	bc
Granatnaja	28,930 ± 1,828	a
Koncentra	4,359 ± 0,102	d
Krasavice	0,643 ± 0,141	f
Lionora Springer	0,350 ± 0,044	f
Sorbinka	1,648 ± 0,173	ef
Titan	23,642 ± 0,945	c
Velfed	3,451 ± 0,374	de

Obsah anthokyanů významně rozdělil odrůdy jeřábu ptačího do dvou skupin – méně zbarvené: 'Alaja Krupnaja', 'Discolor', 'Koncentra', 'Krasavice', 'Lionora Springer', 'Sorbinka', 'Velfed', jejichž barva byla růžovo-červená až ostře oranžovo-červená. Odrůdy 'Burka', 'Businka', 'Granatina', 'Granatnaja' a 'Titan' obsahovaly vyšší množství celkových anthokyanů – jejich zbarvení bylo tmavě červené. Odrůda Discolor zcela postrádá anthokyanová barviva.

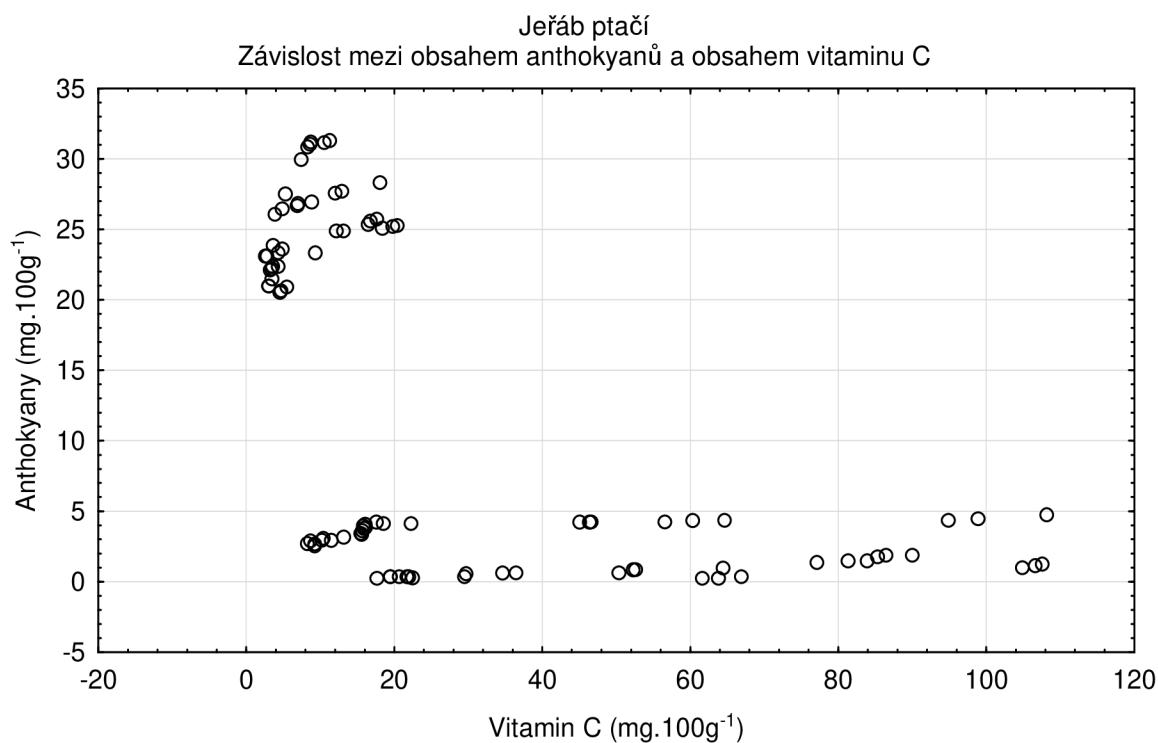
Ve Finsku pěstovaných odrůdách byl pomocí HPLC kvantifikován obsah anthokyanů v methanolových extraktech následovně: 'Burka' 156,5 mg.100 g<sup>-1</sup>, 'Alaja Krupnaja' 39,5 mg.100 g<sup>-1</sup>, 'Granatnaja' 116,8 mg.100 g<sup>-1</sup>, 'Titan' 101,6 mg.100 g<sup>-1</sup>. Tento vyšší obsah je způsoben odlišnou přípravou vzorků, kdy byla použita extrakce celých sušených plodů do organických rozpouštědel [66].



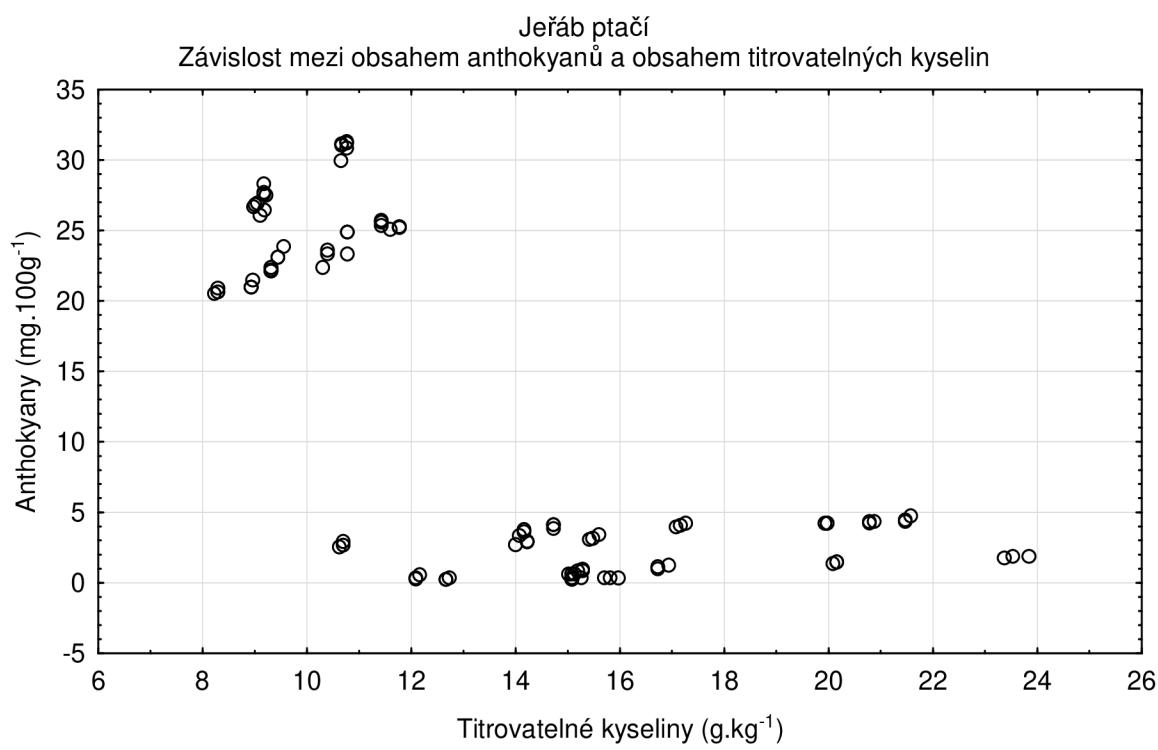
Obrázek 40: Krabicový graf – Průměrný obsah celkových anthokyanů v odrůdách jeřábu ptačího

Genetický původ, a konkrétně obsah anthokyanů, jednotlivých odrůd jeřábu ptačího značně ovlivňuje obsah dalších parametrů jako je vitamin C a obsah kyselin. Zatímco u odrůd jeřábu se světlejší barvou plodů, a tedy nižším obsahem anthokyanů, je rozložení obsahu vitaminu C a titrovatelných kyselin rovnoměrné v celém rozmezí, odrůdy s výrazně vyšším obsahem anthokyanů mají zároveň nižší obsah vitaminu C a kyselin (viz grafy na Obrázku 41 a Obrázku 42). Avšak mezi obsahem vitaminu C a obsahem kyselin navzájem byla zaznamenána jen slabá korelace (viz níže).

Konkrétně jde o odrůdy 'Burka', 'Businka', 'Granatina', 'Granatnaja' a 'Titan'. Odrůda 'Burka' vznikla křížením jeřábu ptačího *Sorbus aucuparia* s jeřáboplodem horským *Sorbus alpina*, který je křízencem jeřábu a aronie a je tedy původcem výrazně vyššího obsahu anthokyanů a zároveň nižšího obsahu vitaminu C (viz kapitola 5.2.4 Aronie černá). Z odrůdy 'Burka' byla poté vyšlechtěna odrůda 'Titan' křížením s rody hrušeň *Pyrus* a jabloň *Malus*. Odrůda 'Businka' byla vypěstována v Rusku ze staré ruské odrůdy 'Kubovaja'. Odrůdy 'Granatnaja' a 'Granatina' vznikly zkřížením jeřábu ptačího *Sorbus aucuparia* se sibiřským hlohem *Crataegus sanguinea* Pall. ('Granatnaja') nebo s *C. sanguinea* a hlohem obecným *C. laevigata* ('Granatina') [65, 68].



Obrázek 41: Korelace mezi obsahem anthokyanů a vitaminu C v jeřabinách



Obrázek 42: Korelace mezi obsahem anthokyanů a titrovatelných kyselin v jeřabinách

**Obsah titrovatelných kyselin** vyjádřených v ekvivalentech kyseliny jablečné se v extraktech z plodů jeřábu ptačího pohyboval v rozmezí  $8,27\text{--}23,58 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$  ovoce v průběhu všech tří sklizní: 2010, 2011, 2012. Výsledky pro jednotlivé sklizně jsou shrnutý v Tabulce 93, Příloha 5).

Tabulka 58: Průměrný obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých odrůdách plodů jeřábu ptačího (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

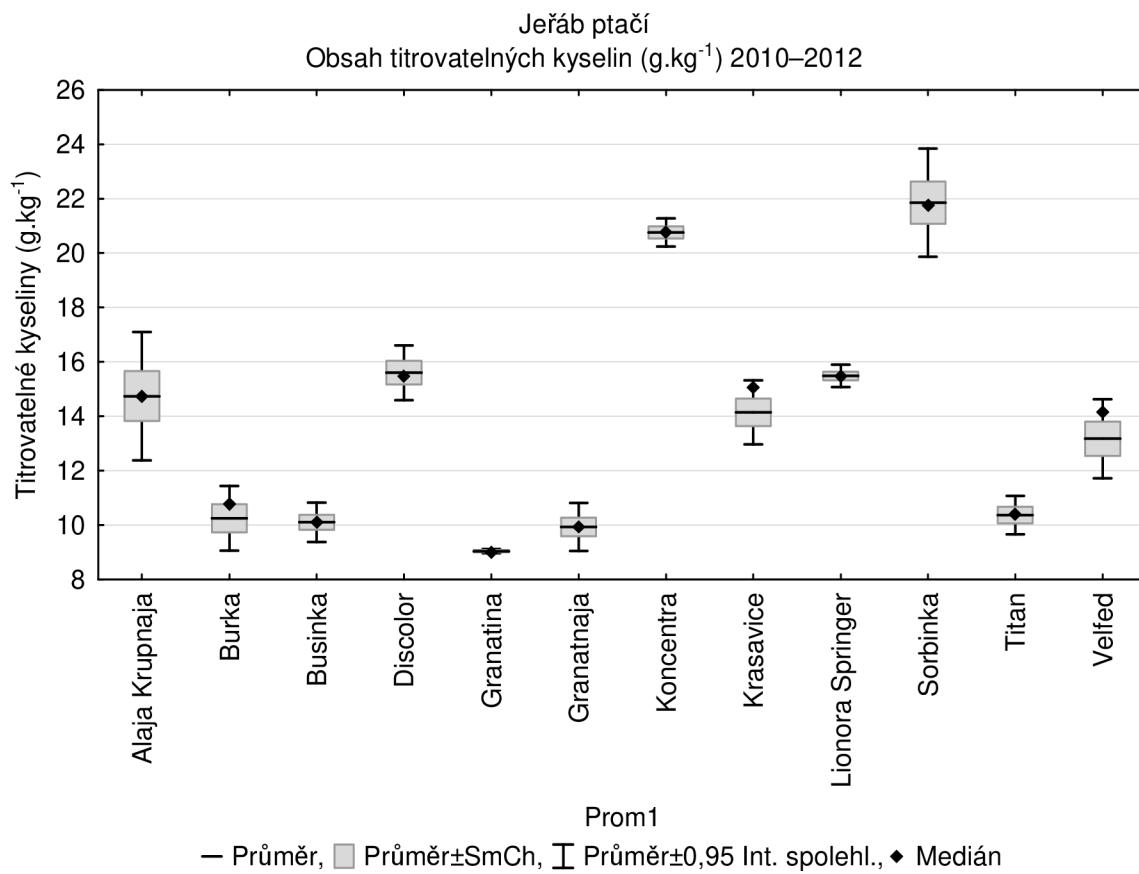
Odrůda jeřábu	obsah titrovatelných kyselin ( $\text{g}.\text{kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 6 nebo 9)	skupina
Alaja Krupnaja	$14,74 \pm 1,64$	b
Burka	$10,25 \pm 0,95$	d
Businka	$10,10 \pm 0,50$	d
Discolor	$15,60 \pm 0,81$	b
Granatina	$9,04 \pm 0,06$	d
Granatnaja	$9,93 \pm 0,61$	d
Koncentra	$20,76 \pm 0,41$	a
Krasavice	$14,14 \pm 0,94$	bc
Lionora Springer	$15,48 \pm 0,29$	b
Sorbinka	$21,85 \pm 1,39$	a
Titan	$10,36 \pm 0,56$	d
Velfed	$13,17 \pm 1,17$	c

Tabulka 58 a graf na Obrázku 43 naznačují, že mezi sledovanými odrůdami byly nalezeny statisticky významné rozdíly. Některé odrůdy měly až dvojnásobný obsah titrovatelných kyselin. Nejvyšší obsah titrovatelných kyselin byl stanoven v odrůdách 'Sorbinka' a 'Koncentra'.

Z grafu na Obrázku 42 také vyplývá, že odrůdy s vyšším obsahem anthokyanů se vyznačují nižší kyselostí – 'Burka', 'Businka', 'Granatina', 'Granatnaja', 'Titan'. Závislost mezi obsahem vitaminu C a titrovatelnými kyselinami je však poměrně nízká: korelační koeficient závislosti  $R^2 = 0,6117$ .

Obsah titrovatelných kyselin byl také sledován ve Finsku vypěstovaných odrůdách a jejich obsah byl stanoven na: 'Burka'  $14 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ , 'Alaja Krupnaja'  $25 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ , 'Granatnaja'  $17 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ , 'Titan'  $16 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$  [66]. Na výsledcích uvedené studie lze pozorovat podobnou závislost obsahu kyselin na genetickém původu jako v případě dizertační práce – odrůda s vyšším obsahem titrovatelných kyselin 'Alaja Krupnaja' má i nízký obsah anthokyanů, jak již bylo zmíněno výše.

V Turecku vypěstovaných jeřabinách dosahoval obsah titrovatelných kyselin  $28,9 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$  [172].

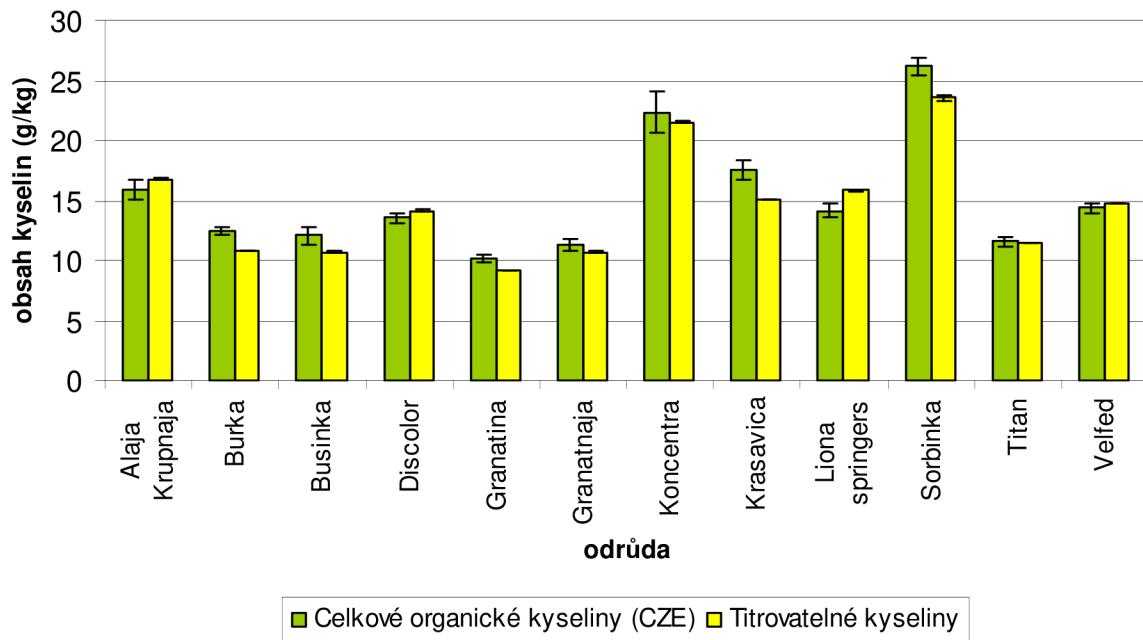


Obrázek 43: Krabicový graf – Průměrný obsah titrovatelných kyselin v odrůdách jeřábu ptačího

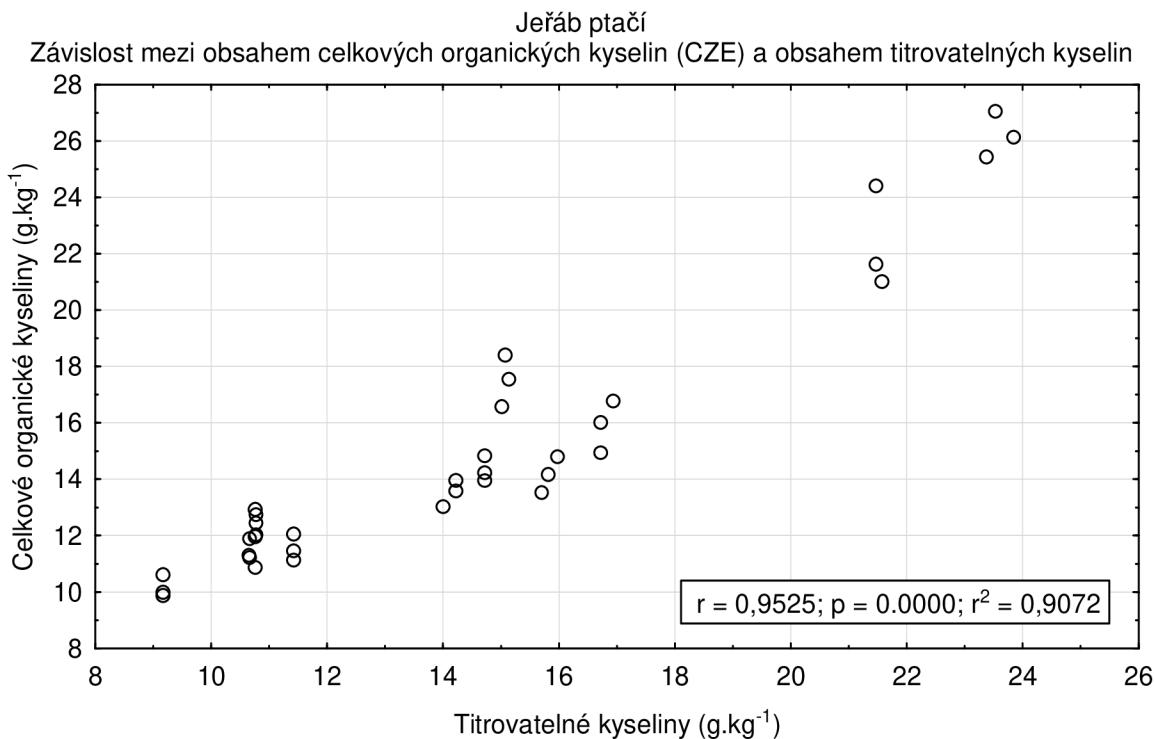
**Jednotlivé organické kyseliny** byly taktéž separovány, identifikovány a kvantifikovány pomocí CZE s UV nepřímou detekcí.

Grafy na Obrázcích 44 a 45 znázorňují srovnání obsahu kyselin stanoveného pomocí titrační metody a pomocí elektroforézy. Bylo prokázáno (Obrázek 45), že obsah titrovatelných kyselin koreluje s obsahem celkových organických kyselin kvantifikovaných pomocí elektroforézy –  $R^2 = 0,9072$ ,  $P = 0,0000$ .

### Srovnání obsahu kyselin pomocí CZE a titrační metody



Obrázek 44: Srovnání obsahu celkových organických kyselin (CZE) a obsahu titrovatelných kyselin v odrůdách jeřábu ptačího



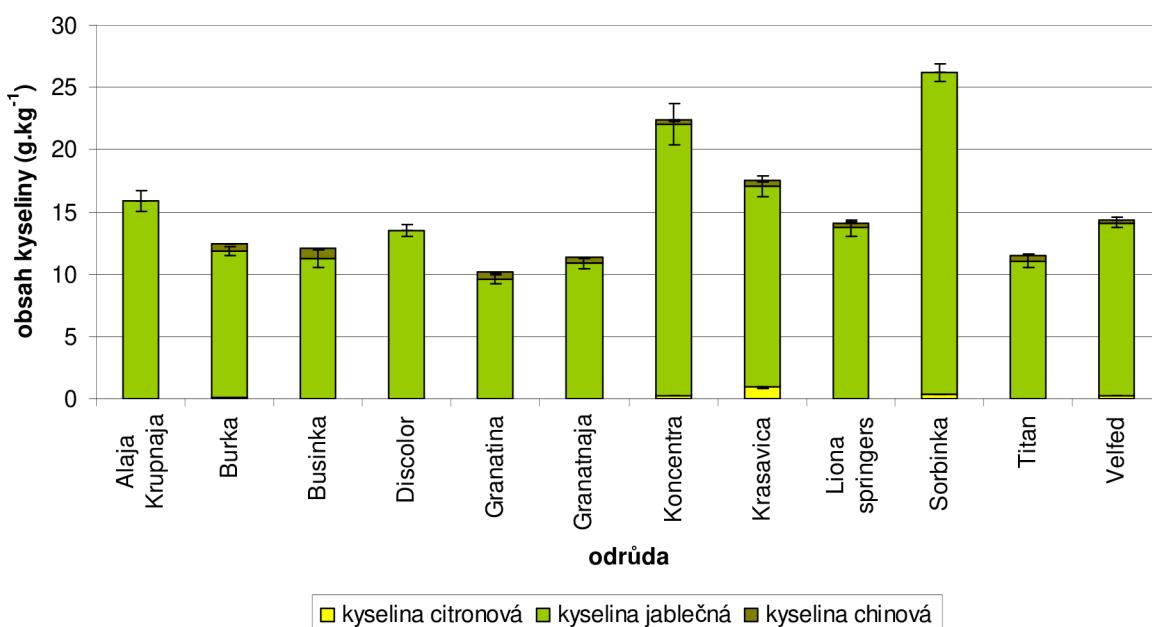
Obrázek 45: Korelace mezi obsahem kyselin v jeřabinách stanoveným pomocí CZE a titračně

Analýzou plodů jeřábu ze sklizně 2012 pomocí CZE s nepřímou UV detekcí byl zjištěn obsah jednotlivých organických kyselin, z nichž převládala kyselina jablečná  $9,58\text{--}25,84 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ , dále obsahovaly plody některých odrůd k. citronovou  $0,11\text{--}0,90 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$  a k. chinovou  $0,19\text{--}0,81 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ . Celkové množství organických kyselin v plodech jeřábu ptačího se pohyboval v rozmezí  $10,16\text{--}26,21 \text{ g}.\text{kg}^{-1}$ . Výsledky shrnuje Tabulka 59 a Obrázek 46.

Tabulka 59: Obsah organických kyselin v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího (sklizeň 2012)

Odrůda jeřábu	obsah organických kyselin ( $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)			součet
	citronová	jablečná	chinová	
Alaja Krupnaja	nedetekováno	$15,92 \pm 0,86$	nedetekováno	$15,92 \pm 0,86$
Burka	$0,11 \pm 0,01$	$11,78 \pm 0,35$	$0,53 \pm 0,01$	$12,41 \pm 0,35$
Businka	nedetekováno	$11,26 \pm 0,73$	$0,81 \pm 0,02$	$12,07 \pm 0,73$
Discolor	nedetekováno	$13,53 \pm 0,43$	nedetekováno	$13,53 \pm 0,43$
Granatina	nedetekováno	$9,58 \pm 0,34$	$0,58 \pm 0,03$	$10,16 \pm 0,34$
Granatnaja	nedetekováno	$10,90 \pm 0,45$	$0,44 \pm 0,03$	$11,34 \pm 0,46$
Koncentra	$0,26 \pm 0,01$	$21,78 \pm 1,67$	$0,31 \pm 0,02$	$22,35 \pm 1,67$
Krasavice	$0,90 \pm 0,03$	$16,17 \pm 0,80$	$0,45 \pm 0,04$	$17,52 \pm 0,80$
Lionora Springer	nedetekováno	$13,70 \pm 0,61$	$0,47 \pm 0,02$	$14,17 \pm 0,61$
Sorbinka	$0,38 \pm 0,02$	$25,84 \pm 0,74$	nedetekováno	$26,21 \pm 0,74$
Titan	nedetekováno	$11,00 \pm 0,45$	$0,56 \pm 0,04$	$11,56 \pm 0,45$
Velfed	$0,22 \pm 0,02$	$13,93 \pm 0,39$	$0,19 \pm 0,01$	$14,35 \pm 0,39$

Obsah jednotlivých organických kyselin



Obrázek 46: Srovnání obsahu jednotlivých organických kyselin v odrůdách jeřábu ptačího

Rozdíly ve složení jednotlivých kyselin se týkaly hlavně výskytu kyseliny citronové, která byla detekována ve významných množstvích pouze v odrůdách 'Burka', 'Koncentra', 'Krasavice', 'Sorbinka' a 'Velfed'. Nejvyšší obsah kyseliny citronové byl stanoven v odrůdě 'Krasavice', která vznikla opylováním květu jeřábu ptačího pylem z hrušně [65]. Hrušky obsahují významné množství kyseliny citronové – 14,2 % z celkového obsahu kyselin [174]. Taktéž v plodech hlohu (rod *Crataegus*, který se používal při křížení ostatních jmenovaných odrůd) se jako majoritní složka organických kyselin vyskytuje právě kyselina citronová [175]. Obsah kyseliny citronové v těchto odrůdách může být zapříčiněn právě uvedeným genetickým pozadím.

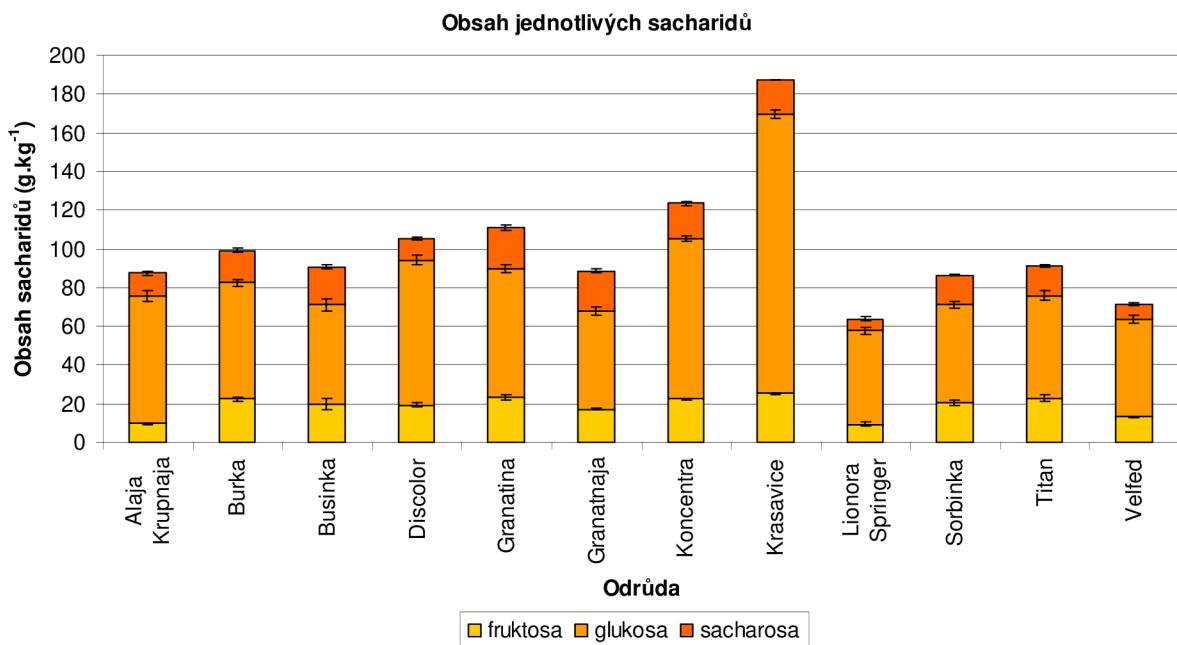
V odrůdách 'Alaja Krupnaja', 'Discolor', 'Sorbinka' nebyla detekována kyselina chinová, což může taktéž souviset s genetickým původem odrůd: 'Alaja Krupnaja' a 'Sorbinka' vznikly křížením z původní sladké moravské jeřabiny *S. aucuparia moravica (dulcis)* [66, 69]. Původ odrůdy Discolor se nepodařilo dohledat.

Ve Slovensku pěstovaných plodech jeřábu ptačího byly identifikovány a kvantifikovány následující kyseliny: citronová  $1,2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , jablečná  $30,28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , stopová množství (pod  $0,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) kyseliny vinné, fumarové a šikimové [173].

Analýzou extraktů z plodů na HPLC-RID byl stanoven **obsah nejběžnějších sacharidů** vyskytujících se v ovoci (Tabulka 60, Obrázek 47). Převládala glukosa  $48,24\text{--}144,32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  nad fruktosou  $9,65\text{--}25,17 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a sacharosou  $6,28\text{--}21,05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ovoce. Celkové množství sacharidů v jeřábu ptačím se pohybovalo v rozmezí hodnot  $63,94\text{--}187,42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

Tabulka 60: Obsah sacharidů v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího (sklizeň 2012)

Odrůda jeřábu	obsah sacharidů ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)			součet
	fruktosa	glukosa	sacharosa	
Alaja Krupnaja	$9,65 \pm 0,27$	$66,02 \pm 2,58$	$11,82 \pm 0,92$	$87,49 \pm 2,75$
Burka	$22,47 \pm 1,04$	$59,94 \pm 1,88$	$16,78 \pm 0,95$	$99,19 \pm 2,35$
Businka	$19,83 \pm 2,63$	$51,26 \pm 3,02$	$19,66 \pm 0,95$	$90,75 \pm 4,15$
Discolor	$19,25 \pm 1,03$	$74,97 \pm 2,36$	$10,98 \pm 0,94$	$105,20 \pm 2,75$
Granatina	$23,53 \pm 1,39$	$66,09 \pm 2,16$	$21,05 \pm 1,39$	$110,68 \pm 2,92$
Granatnaja	$17,25 \pm 0,43$	$50,72 \pm 2,33$	$20,70 \pm 0,88$	$88,67 \pm 2,52$
Koncentra	$22,35 \pm 0,60$	$83,09 \pm 1,54$	$18,06 \pm 0,98$	$123,49 \pm 1,92$
Krasavice	$25,17 \pm 0,56$	$144,32 \pm 1,94$	$17,92 \pm 0,13$	$187,42 \pm 2,03$
Lionora Springer	$9,42 \pm 1,22$	$48,24 \pm 1,68$	$6,28 \pm 0,97$	$63,94 \pm 2,30$
Sorbinka	$20,70 \pm 1,43$	$50,42 \pm 1,84$	$15,35 \pm 0,20$	$86,47 \pm 2,34$
Titan	$22,92 \pm 1,89$	$52,92 \pm 2,60$	$15,27 \pm 0,48$	$91,11 \pm 3,25$
Velfed	$13,17 \pm 0,45$	$50,24 \pm 2,27$	$7,96 \pm 0,54$	$71,38 \pm 2,37$

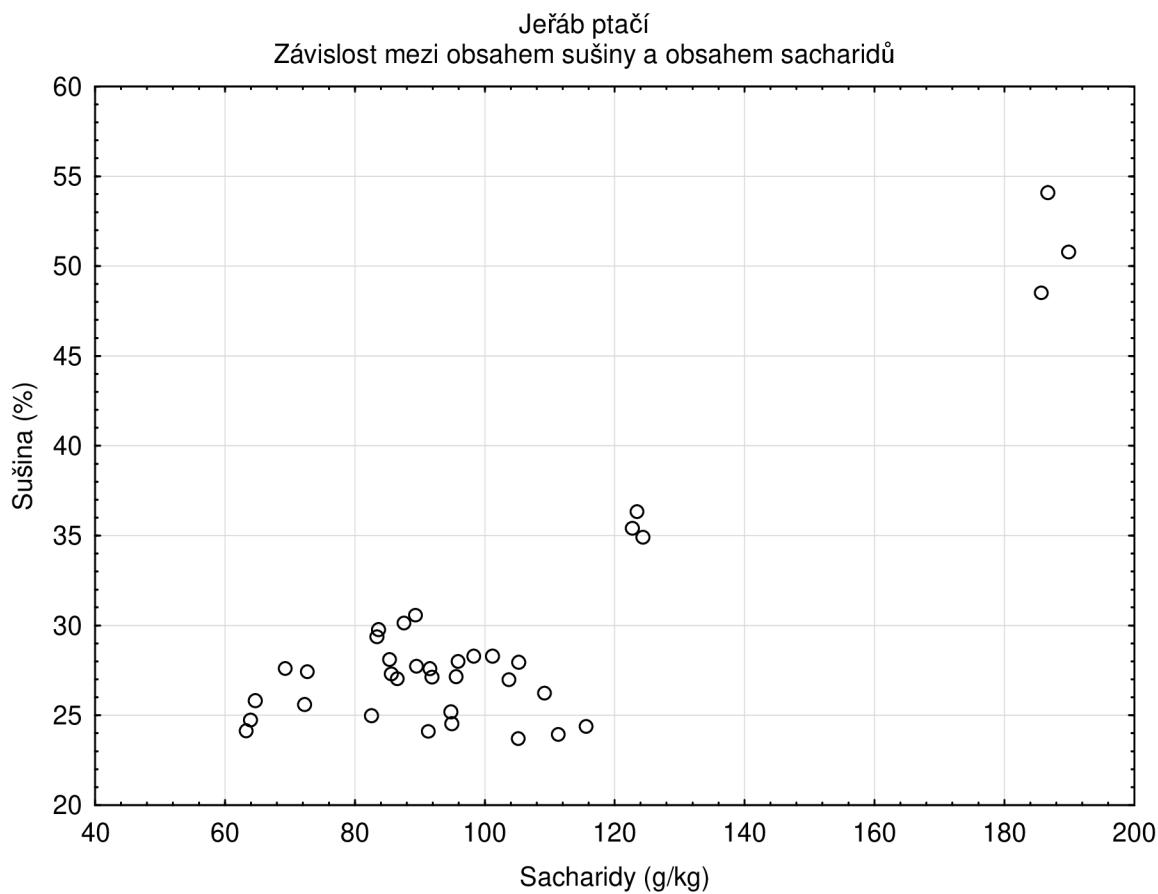


*Obrázek 47: Srovnání obsahu jednotlivých sacharidů v odrůdách jeřábu ptačího*

Jak vyplývá z Obrázku a z Tabulky 60, majoritní složkou sacharidů v jeřabinách je glukosa. Dalšími složkami s přibližně vyrovnaným obsahem jsou fruktosa a sacharosa.

K celkové sladké chuti jeřabin přispívá také hydroxylový derivát sacharidů – sorbitol, kterého jeřabiny obsahují dokonce více než majoritní glukosy. V Litvě byl obsah sorbitolu stanoven v odrůdách 'Burka', 'Titan', 'Granatnaja', 'Businka' a 'Alaja Krupnaja' v rozsahu 33–52 g·kg⁻¹, obsah glukosy 24–40 g·kg⁻¹ a obsah fruktosy 28–42 g·kg⁻¹, přičemž nejnižší obsah sacharidů měla odrůda 'Alaja Krupnaja' a 'Businka', poměrně vyrovnaný obsah sacharidů byl nalezen u odrůd 'Burka', 'Titan', 'Granatnaja' [172]. V plodech divoce rostoucího jeřábu ptačího ve Slovensku byl stanoven obsah sorbitolu na 134 g·kg⁻¹, glukosa 52,9 g·kg⁻¹, fruktosa 24,8 g·kg⁻¹ a sacharosa 5,18 g·kg⁻¹ [173].

Obsah sacharidů ve vzorku závisí na době sběru. V průběhu zrání plodu se navýšuje obsah sacharidů. Po uplynutí doby zralosti dochází k postupnému úbytku vody v jeřabinách a tím i nárůstu obsahu sacharidů vztaženého na aktuální váhu plodu. Z grafu na Obrázku 48 je patrné, že zatímco hodnota obsahu sacharidů většiny odrůd byla distribuována rovnoměrně v rámci celého rozsahu, dvě odrůdy s výrazně vyšším obsahem sušiny ('Krasavice' a 'Koncentra', obě sklizeň 2012) naznačují, že se nepodařilo stanovit správné datum zralosti a plody byly sbírány přezrálé. Na obsah sledovaných látek však tato skutečnost neměla vliv, protože kromě sušiny se všechny ostatní sledované parametry pohybovaly blízko hodnot z předchozích sklizní.



Obrázek 48: Korelace mezi obsahem sušiny a sacharidů v jeřabinách

Velmi sladká chuť a poměrně nízký obsah kyselin šlechtěných jeřabin činí z těchto plodů senzoricky velmi slibnou surovinu pro zpracování v potravinářském průmyslu. Vysoký obsah sacharidů mírní výraznou a charakteristickou svírávou chuť tříšlovin. Navíc, narozdíl od divoce rostoucích jeřabin, mají šlechtěné odrůdy (kultivary) téměř neznatelnou hořkou chuť.

Důležitým ukazatelem celkového senzorického vjemu ovoce je **poměr sacharidů ku kyselinám**. Zatímco např. u plodů rakytníku řešetlákového byl poměr nižší nebo roven 1,0 díky vyššímu obsahu kyselin, plody jeřábu obecného se vyznačují vysokým poměrem těchto dvou základních nutričních složek ovoce – Tabulka 61.

Tabulka 61: Poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami v odrůdách dřínu obecného

odrůda	celkové organické kyseliny (g.kg <sup>-1</sup> )	celkové sacharidy (g.kg <sup>-1</sup> )	poměr sacharidy: organické kyseliny
Alaja Krupnaja	15,92	87,49	5,50
Burka	12,41	99,19	7,99
Businka	12,07	90,75	7,52
Discolor	13,53	105,20	7,78
Granatina	10,16	110,68	10,89
Granatnaja	11,34	88,67	7,82
Koncentra	22,35	123,49	5,53
Krasavice	17,52	187,42	10,70
Lionora Springer	14,17	63,94	4,51
Sorbinka	26,21	86,47	3,30
Titan	11,56	91,11	7,88
Velfed	14,35	71,38	4,97

Nejvyšších hodnot poměru sacharidy:kyseliny dosáhla odrůda 'Granatina' (10,89), nejméně odrůda 'Sorbinka' (3,30).

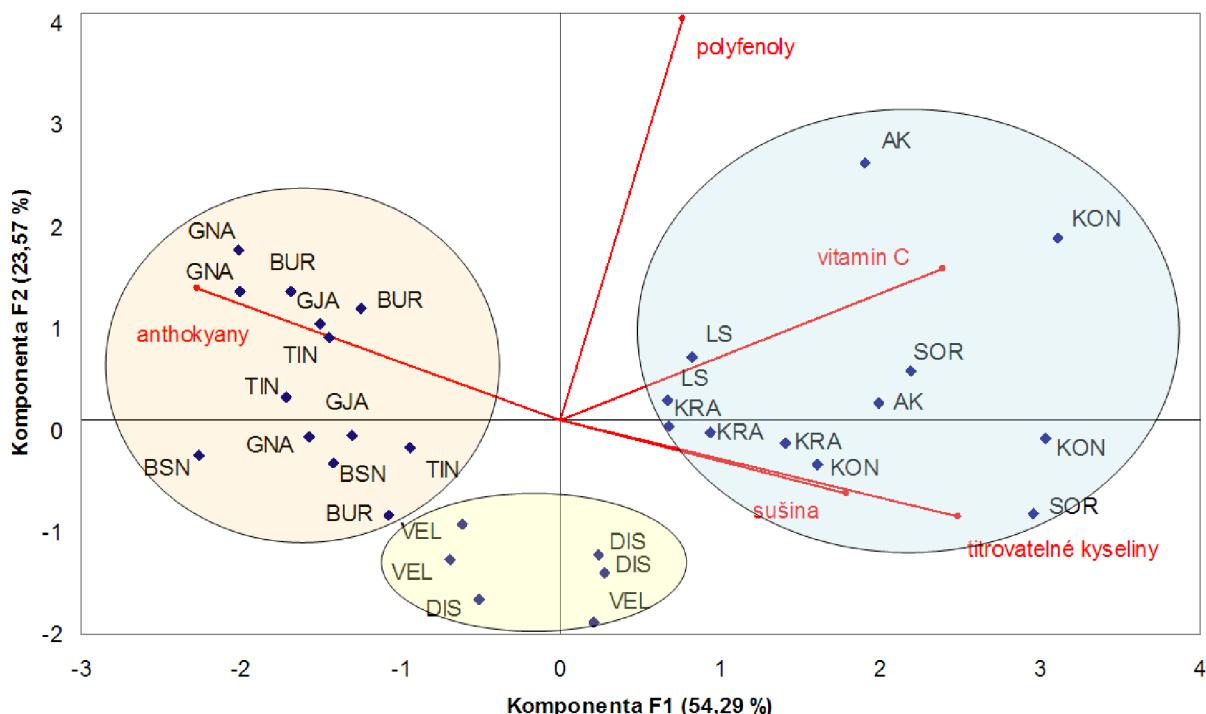
V plodech divoce rostoucího jeřábu obecného byl poměr sacharidů a kyselin stanoven na 5,05 [173]. Ve Finsku pěstovaných odrůdách 'Burka', 'Alaja Krupnaja', 'Granatnaja' a 'Titan' se poměr sacharidů ku kyselinám (sacharidy vyjádřeny jako rozpustná sušiny °Brix) pohyboval mezi hodnotami 5,1–8,1. Odrůda 'Alaja Krupnaja' dosahovala výrazně nižších hodnot poměru sacharidů ku kyselinám než ostatní odrůdy [66].

#### 5.2.3.1 Statistická analýza

**Analýza hlavních komponent (PCA)** byla provedena, podobně jako pro rakytník a dřín, i pro odrůdy jeřábu ptačího.

Ze sledovaných základních parametrů u plodů jeřábu ptačího byly vybrány opět jen ty parametry, které byly sledovány po všechny tři roky 2010–2012, tedy obsah sušiny, vitaminu C, titrovatelných kyselin, celkových anthokyanů a celkových polyfenolů. Data byla nejdříve prošetřena z hlediska odlehlých výsledků a normálního rozložení dat a poté podrobena analýze hlavních komponent pomocí Pearsonova rozdělení.

Biplot (osy F1 a F2: 77,87 % )



Obrázek 49: Biplot analýzy hlavních komponent (PCA) pro jednotlivé odrůdy jeřábu ptačího

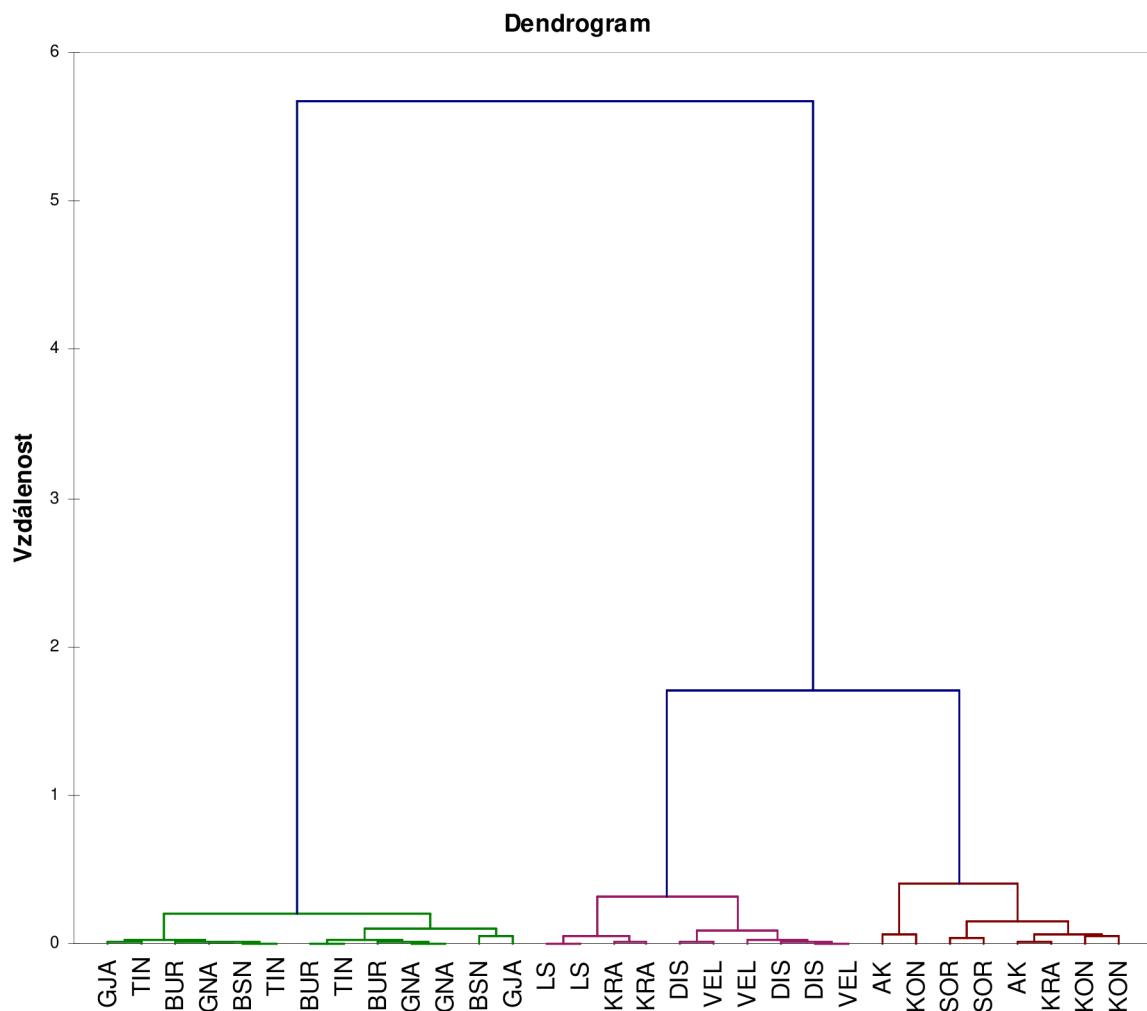
Obrázek 49 znázorňuje PCA pomocí dvojného grafu (Biplot) pro dvě hlavní komponenty s nejvyšším podílem na celkové proměnlivosti znaků: komponenta F1 se zastoupením 60,64 % a komponenta F2 se zastoupením 33,50 %. Obě komponenty mají vlastní číslo (eigenvalue) větší než 1,0. Jednotlivé vektory znázorňují komponentní váhy všech sledovaných parametrů a v grafu jsou kombinované s rozptylovým diagramem komponentního skóre, znázorněné jako body jednotlivých odrůd.

Do komponenty F1 přispívá nejvíce obsah sušiny, titrovatelných kyselin, vitaminu C a méně poté obsah polyfenolů. Negativně do komponenty F1 přispívá obsah anthokyanů. Nejvyšší podíl na komponentě F2 má obsah polyfenolů, méně poté obsah anthokyanů a vitaminu C. Negativně ke komponentě F2 přispívají titrovatelné kyseliny a sušina.

Vizualizací proměnlivosti mezi jednotlivými odrůdami pomocí PCA (Obrázek 49) lze snadno rozlišit jednotlivé odrůdy do třech hlavních skupin. Skupina odrůd s vyšším obsahem anthokyanů má zároveň nižší obsah vitaminu C, titrovatelných kyselin a sušiny. Patří sem odrůdy vzniklé křížením jeřábu s hlohem (odrůdy 'Granatina' a 'Granatnaja'), jeřábu s aronií nebo jeřáboplodem (odrůdy 'Burka' a 'Titan'), odrůda 'Businka' byla vypěstována z ruské odrůdy 'Kubovaja'. Odrůdy 'Velfed' a 'Discolor' se vyznačují nižším obsahem polyfenolů, anthokyanů i vitaminu C. Třetí skupinou jsou odrůdy s vyšším obsahem vitaminu C a titrovatelných kyselin: 'Alaja Krupnaja', 'Koncentra', 'Sorbinka', 'Lionora Springers' a 'Krasavica'.

Data pro jeřáb ptačí byla zpracována i pomocí **shlukové analýzy (Cluster Analysis, CLU)**. Data byla nejdříve standardizována a následně byla provedena statistická analýza pomocí Wardovy metody shlukování s eukleidovskou metrikou. Výsledkem je přiložený dendrogram na Obrázku 50, který dobře znázorňuje významné rozdíly mezi jednotlivými

klastry (skupinami, shluky) odrůd. Rozložení jednotlivých odrůd poměrně dobře koreluje s výsledky provedenými PCA (Obrázek 49). Pouze odrůdy 'Velfed' a 'Discolor' jsou zařazeny do jedné skupiny s odrůdami 'Lionora Springer' a 'Krasavica', které na základě PCA lze zařadit spíše do skupiny spolu s odrůdami 'Koncentra', 'Sorbinka' a 'Alaja Krupnaja'. Obě dvě tyto skupiny jsou velmi dobře odlišeny od odrůd v prvním klastru. Např. odrůdy 'Burka', 'Granatina' a další, které obsahují vyšší množství anthokyanových barviv.



Obrázek 50: Dendrogram shlukové analýzy (CLU) pro jednotlivé odrůdy jeřábu ptačího

Pomocí statistických analýz vícerozměrných dat (PCA a CLU) byly rozlišeny odrůdy jeřábu obecného do dvou základních izolovaných skupin hlavně na základě zbarvení plodů. S obsahem anthokyanů významně koreluje i obsah dalších parametrů jako titrovatelných kyselin a vitaminu C.

Uvedené výsledky odpovídají literatuře, kde byl taktéž nalezen významný vztah mezi variabilitou odrůd a obsahem anthokyanů. Analýza hlavních komponent byla použita pro klasifikaci odrůd jeřábu obecného na základě obsahu fenolických látek (anthokyanů, chlorogenových kyselin a flavonolů). Složení jednotlivých fenolických látek v odrůdě je velmi specifické, proto byla většina odrůd velmi dobře rozdělena do samostatných izolovaných klastrů [66]. Mezi odrůdami 'Granatnaja' a 'Titan' byl nalezen velmi malý rozdíl

[66], což odpovídá výsledkům pozorovaným v dizertační práci, kde se v PCA diagramu na Obrázku 49 uvedené odrůdy nachází velmi blízko sebe.

Při analýze 25 různých druhů divoce rostoucích drobných bobulovin byly porovnávány jednotlivé druhy ovoce pomocí shlukové analýzy (sledované parametry: celkové polyfenoly a základní metabolismy jako sacharidy a organické kyseliny). Největší podobnosti dosahovaly jeřabiny s aroniemi, kalinou, šípkou a muchovníkem [173].

#### 5.2.3.2 Zhodnocení odrůd

Po shrnutí všech výsledků lze pro potravinářské využití doporučit především odrůdy 'Koncentra' (má zároveň jeden z nejvyšší efektivních výnosů [150]), 'Sorbinka' a 'Alaja Krupnaja', které mají vysoký obsah vitamínu C a také celkových polyfenolů. Pro vyšší obsah anthokyanů lze doporučit odrůdy 'Burka', 'Businka', 'Granatina', 'Granatnaja' a 'Titan'.

Zralosti začínají odrůdy dosahovat koncem srpna a v září. Mezi ranné odrůdy se řadí 'Alaja Krupnaja', 'Burka', 'Granatina' a 'Granátový'. Mezi pozdní odrůdy patří 'Titan' a 'Velfed' [153].

## 5.2.4 Aronie černá

Byly analyzovány následující parametry ve třech letech 2010, 2011 a 2012 u dvou odrůd aronie černé – viz Tabulka 15.

Výsledky jsou shrnutý v Tabulce 62. Výsledky pro jednotlivé roky jsou uvedeny v Tabulce 97–101 přílohy 6.

*Tabulka 62: Obsah sledovaných parametrů v plodech jednotlivých odrůd aronie černé (obsah ± interval spolehlivosti pro  $\alpha = 0,05$  a  $n = 6$  nebo 9)*

Odrůda aronie	sušina (%)	titrovatelné kyseliny (g.kg <sup>-1</sup> )	vitamin C (mg.100 g <sup>-1</sup> )	celkové polyfenoly (mg.100 g <sup>-1</sup> )	celkové anthokyany (mg.100 g <sup>-1</sup> )
Nero	24,78 ± 2,94	8,98 ± 0,76	5,28 ± 0,99	623,16 ± 51,59	182,69 ± 10,94
Viking	23,62 ± 2,56	9,55 ± 0,26	6,69 ± 1,21	670,59 ± 63,51	205,75 ± 5,76

Dlouhé obsahy sušiny se v plodech aronie černé pohybovaly v rozmezí hodnot 19,14–30,07 %. Podobně jako obsah sušiny v jeřabinách a plodech dřínu byly hodnoty sušiny nižší pro rok 2010, kdy byl zároveň vyšší roční úhrn srážek než v následných letech (2011, 2012) [168].

Obsah vitaminu C je v plodech aronie poměrně nízký – v rámci všech tří studovaných let dosahoval 3,59–7,06 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. V Itálii pěstovaná odrůda 'Nero' dosahovala obsahu vitaminu C 13,1 mg.100 g<sup>-1</sup> [128].

Množství celkových polyfenolů, vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové, se pohybovalo v rozmezí 535,04–721,28 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů. Podobný obsah byl stanoven i v Itálii pěstované odrůdě 'Nero' – 690,2 mg. 100 g<sup>-1</sup> plodů [128]. Ve Slovensku pěstovaných plodech aronie byl analyzován obsah celkových polyfenolů pomocí F-C činidla na 1013,2 mg.100 g<sup>-1</sup> [173], v divoce rostoucích aroniích v USA byl dosažen obsah dokonce 2556 mg.100 g<sup>-1</sup> [176].

Obsah celkových anthokyanů, vyjádřených v ekvivalentech kyanidin-3-glukosidu, 169,535–211,993 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů byl o něco nižší, než nalezený v literatuře: odrůda 'Nero' pěstovaná v Itálii obsahovala 460,5 mg.100 g<sup>-1</sup> [128], divoce rostoucí aronie sbíraná v USA obsahovala 428 mg.100 g<sup>-1</sup> [176].

Pro všechny tři sklizně v letech 2010–2012 se obsah titrovatelných kyselin, vyjádřených v ekvivalentech majoritní kyseliny jablečné, pohyboval v rozmezí 7,53–10,15 g.kg<sup>-1</sup> ovoce. Ve studii prováděné v USA bylo studováno složení šťávy v průběhu zrání plodů. Obsah titrovatelných kyselin se pohyboval v rozmezí 8,5–11,5 g.kg<sup>-1</sup> šťávy [177].

Porovnáním výsledků analýz aronií s výsledky plodů jeřábu byl nalezen výrazný rozdíl pouze v obsahu celkových polyfenolů a anthokyanů, které jsou u aronií výrazně vyšší. Obsah vitaminu C je podobný jako u odrůd 'Burka', 'Businka', 'Titan', 'Granatina' a 'Granatnaja', které se vyznačují také vyšším obsahem anthokyanů, protože právě odrůdy 'Burka' a 'Titan' vznikly křížením s aronií černou [67].

V plodech aronie (odrůdy 'Nero', 'Viking') ze sklizně 2012 byl také sledován obsah jednotlivých organických kyselin (Tabulka 63), z nichž převládala kyselina jablečná 6,47 g.kg<sup>-1</sup> a 7,97 g.kg<sup>-1</sup> nad kyselinou chinovou 3,29 g.kg<sup>-1</sup> a 3,59 g.kg<sup>-1</sup>, kyselina citronová nebyla detekována. Celkové množství organických kyselin v plodech aronie černé bylo stanoveno na 9,76 g.kg<sup>-1</sup> v odrůdě Nero a 11,56 g.kg<sup>-1</sup> v odrůdě Viking. Obsah kyseliny chinové v plodech aronie je výrazně vyšší než v plodech jeřábu.

V plodech aronie pěstovaných ve Slovinsku byly identifikovány a kvantifikovány následující kyseliny: citronová  $1,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , jablečná  $12,16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a stopová množství kyseliny vinné, šikimové a fumarové. Celkové množství kyselin bylo  $13,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Kyselina chinová nebyla sledována [173].

*Tabulka 63: Obsah organických kyselin v plodech jednotlivých odrůd aronie černé (sklizeň 2012)*

Odrůda aronie	obsah organických kyselin ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)			součet
	citronová	jablečná	chinová	
Nero	nedetekováno	$6,47 \pm 0,53$	$3,29 \pm 0,10$	$9,76 \pm 0,54$
Viking	nedetekováno	$7,97 \pm 0,23$	$3,59 \pm 0,04$	$11,56 \pm 0,23$

Ze sacharidů (Tabulka 64) převládala glukosa  $59,26\text{--}63,32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  nad fruktosou  $15,07\text{--}23,62 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a sacharosou  $14,11\text{--}20,73 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ovoce. Celkové množství sacharidů v aronii černé se pohybovalo v rozmezí hodnot  $84,44\text{--}107,67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

V plodech aronie černé pěstovaných ve Slovinsku byl stanoven obsah glukosy na  $35,4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , fruktosy na  $28,2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , sacharosy na  $4,12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a taktéž sorbitolu na  $46,2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Celkové množství sacharidů (včetně sorbitolu) bylo  $113,92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , bez sorbitolu potom  $67,72 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [173]. V aroniové šťávě, připravené z plodů pěstovaných v USA, byl stanoven obsah jednotlivých sacharidů v závislosti na době sběru plodů. Obsah sacharidů se pohyboval v rozmezí  $22\text{--}32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  fruktosy,  $22\text{--}34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  glukosy a  $27,4\text{--}48,1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  sorbitolu a jejich obsah narůstal s pozdějším datem sběru [177].

*Tabulka 64: Obsah sacharidů v plodech jednotlivých odrůd aronie černé (sklizeň 2012)*

Odrůda aronie	obsah sacharidů ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)			součet
	fruktosa	glukosa	sacharosa	
Nero	$15,07 \pm 0,55$	$59,26 \pm 1,32$	$14,11 \pm 1,33$	$84,44 \pm 1,96$
Viking	$23,62 \pm 1,60$	$63,32 \pm 1,91$	$20,73 \pm 0,88$	$107,67 \pm 2,64$

Poměr obsahu sacharidů ku obsahu organických kyselin (Tabulka 65) je u plodů aronie velmi vysoký. Navíc, do celkových sacharidů nebyl zahrnut obsah sorbitolu, který je v plodech aronie poměrně významný [173, 177] a který taktéž přispívá k celkové sladké chuti plodů.

V aroniích pěstovaných ve Slovinsku byl stanoven poměr sacharidů a kyselin na 8,44 (se sorbitolem) a 5,02 bez sorbitolu [173].

*Tabulka 65: Poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami v odrůdách aronie černé*

odrůda aronie	celkové organické kyseliny ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	celkové sacharidy ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	poměr sacharidy: organické kyseliny
Nero	9,76	84,44	8,65
Viking	11,56	107,67	9,31

Mezi oběma sledovanými odrůdami aronie černé ('Nero' a 'Viking') nebyly ve sledovaných parametrech nalezeny významné rozdíly, k pěstování lze tedy doporučit obě.

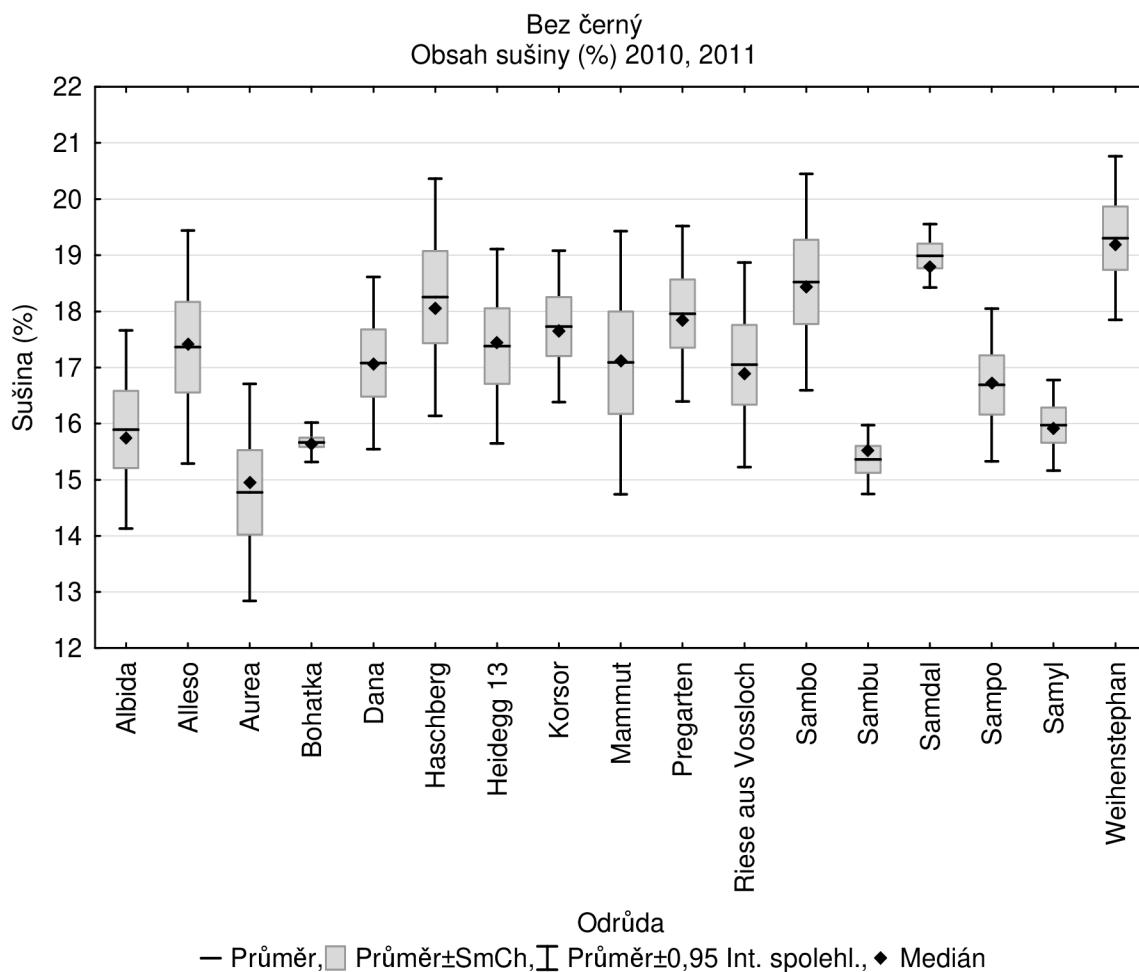
## 5.2.5 Bez černý

Byly analyzovány následující parametry v plodech 17 odrůd bezu černého (viz Tabulka 16) pěstovaných v letech 2010 a 2011: sušina, titrovatelné kyseliny, vitamin C, celkové polyfenoly a anthokyany. U sklizně bezu černého z roku 2011 byl navíc stanoven obsah rutinu v plodech.

V plodech bezu černého byl stanoven **obsah sušiny (%)**, který se pohyboval v rozmezí 13,12–20,52 % v rámci dvou sledovaných let 2010 a 2011. V Tabulce 102 Přílohy 7 jsou uvedeny výsledky jednotlivých odrůd pro jednotlivé roky. Tabulka 66 a graf na Obrázku 51 shrnuje průměrný obsah sušiny za obě dvě sklizně.

*Tabulka 66: Průměrný obsah sušiny v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))*

Odrůda bezu	obsah sušiny (%) $\pm$ IS (95%, n = 6 nebo 3)	skupina
Albida	15,90 $\pm$ 1,23	defg
Allesö	17,36 $\pm$ 1,45	abcdef
Aurea	14,78 $\pm$ 1,35	g
Bohatka	15,67 $\pm$ 0,09	efg
Dana	17,08 $\pm$ 1,07	bcd
Haschberg	18,25 $\pm$ 1,47	abc
Heidegg 13	17,38 $\pm$ 1,20	abcdef
Körsör	17,73 $\pm$ 0,94	abcde
Mammut	17,09 $\pm$ 1,63	bcd
Pergarten	17,96 $\pm$ 1,09	abcd
Riese aus Vossloch	17,05 $\pm$ 1,27	bcd
Sambo	18,52 $\pm$ 1,34	abc
Sambu	15,36 $\pm$ 0,43	fg
Samdal	18,99 $\pm$ 0,39	ab
Sampo	16,69 $\pm$ 0,95	cdefg
Samyl	15,97 $\pm$ 0,56	defg
Weihenstephan	19,30 $\pm$ 1,01	a



Obrázek 51: Krabicový graf – Obsah sušiny v odrůdách bezu černého

V obsahu sušiny v plodech bezu černého nebyly mezi jednotlivými odrůdami nalezeny výrazné rozdíly. Statisticky významný (nejvyšší) obsah sušiny byl zaznamenán v odrůdě 'Weihenstephan' (19,30 %), nejméně sušiny obsahovala odrůda 'Aurea' (14,78 %). Obsah sušiny byl nižší ve sklizni roku 2010, na což mohl mít vliv vyšších úhrnných srážek. V Holovousích, kde bylo ovoce pěstované, a přilehlé oblasti byl v roce 2010 roční úhrn srážek 600–700 mm a v roce 2011 jen 400–500 mm. Průměrné roční teploty dosahovaly v roce 2010 o 1 °C níže než v roce 2011 [168].

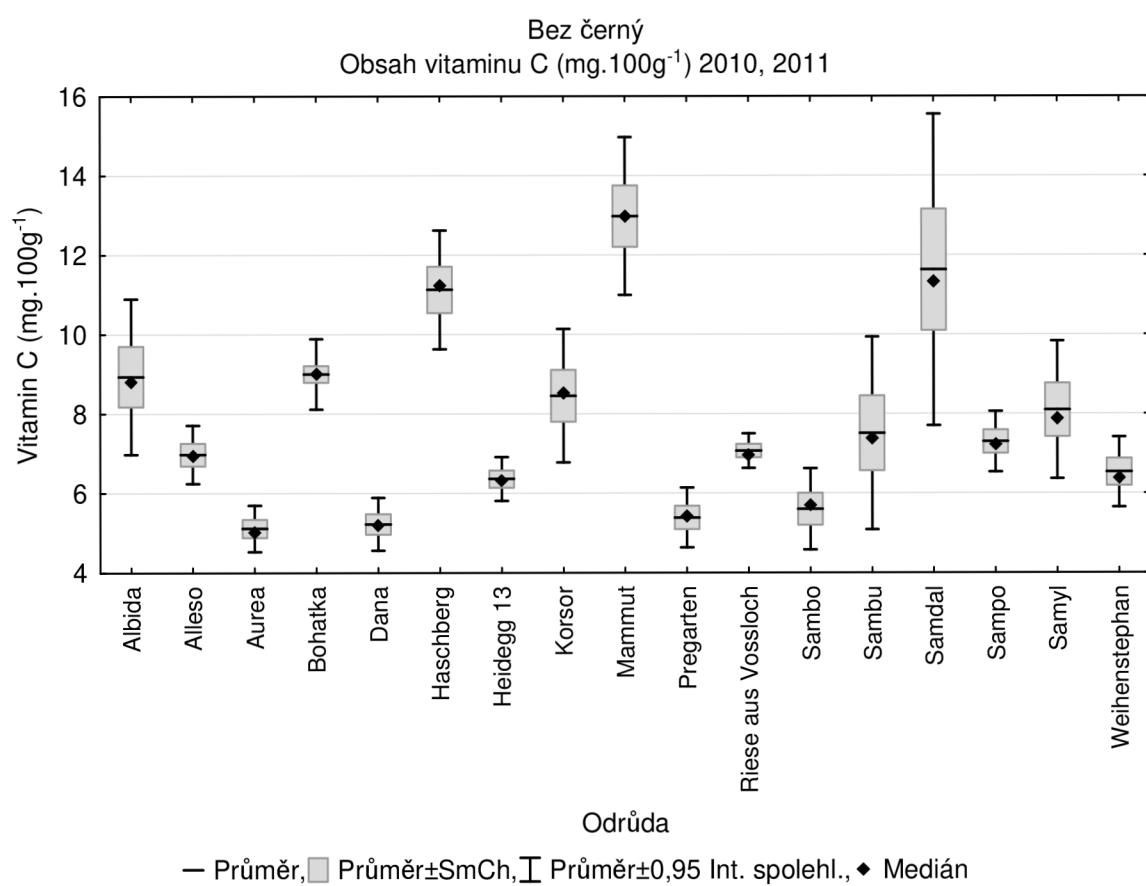
Obsah sušiny se v odrůdách pěstovaných v Dánsku pohyboval v následujícím rozmezí: 'Haschberg' 18,5–21,2 %, 'Sampo' 19,4–22,9 %, 'Samdal' 18,2–21,4 %, 'Mammut' 18,6–20,9 % v různých stádiích zralosti plodů [88]. Plody divokého bezu černého sbíraného v USA obsahovaly 17,5 % sušiny [75].

**Obsah vitaminu C** je v plodech bezu černého poměrně nízký. Dílčí výsledky ze sklizní se pohyboval od 4,68 do 14,99 mg.100 g<sup>-1</sup> (Tabulka 104, Příloha 7).

Tabulka 67 a graf na Obrázku 52 shrnují průměrný obsah vitaminu C za obě dvě sklizně.

Tabulka 67: Průměrný obsah vitaminu C v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda bezu	obsah vitaminu C (mg.100 g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 3)	skupina
Albida	8,94 ± 1,36	b
Allesö	6,98 ± 0,51	bcdefg
Aurea	5,11 ± 0,41	g
Bohatka	9,00 ± 0,23	b
Dana	5,23 ± 0,47	fg
Haschberg	11,13 ± 1,04	a
Heidegg 13	6,36 ± 0,39	defg
Körsör	8,46 ± 1,17	bc
Mammut	12,98 ± 1,38	a
Pergarten	5,39 ± 0,52	fg
Riese aus Vossloch	7,07 ± 0,30	bcdefg
Sambo	5,60 ± 0,71	efg
Sambu	7,51 ± 1,69	bcde
Samdal	11,63 ± 2,73	a
Sampo	7,30 ± 0,53	bcdef
Samyl	8,10 ± 1,20	bcd
Weihenstephan	6,53 ± 0,61	cdefg



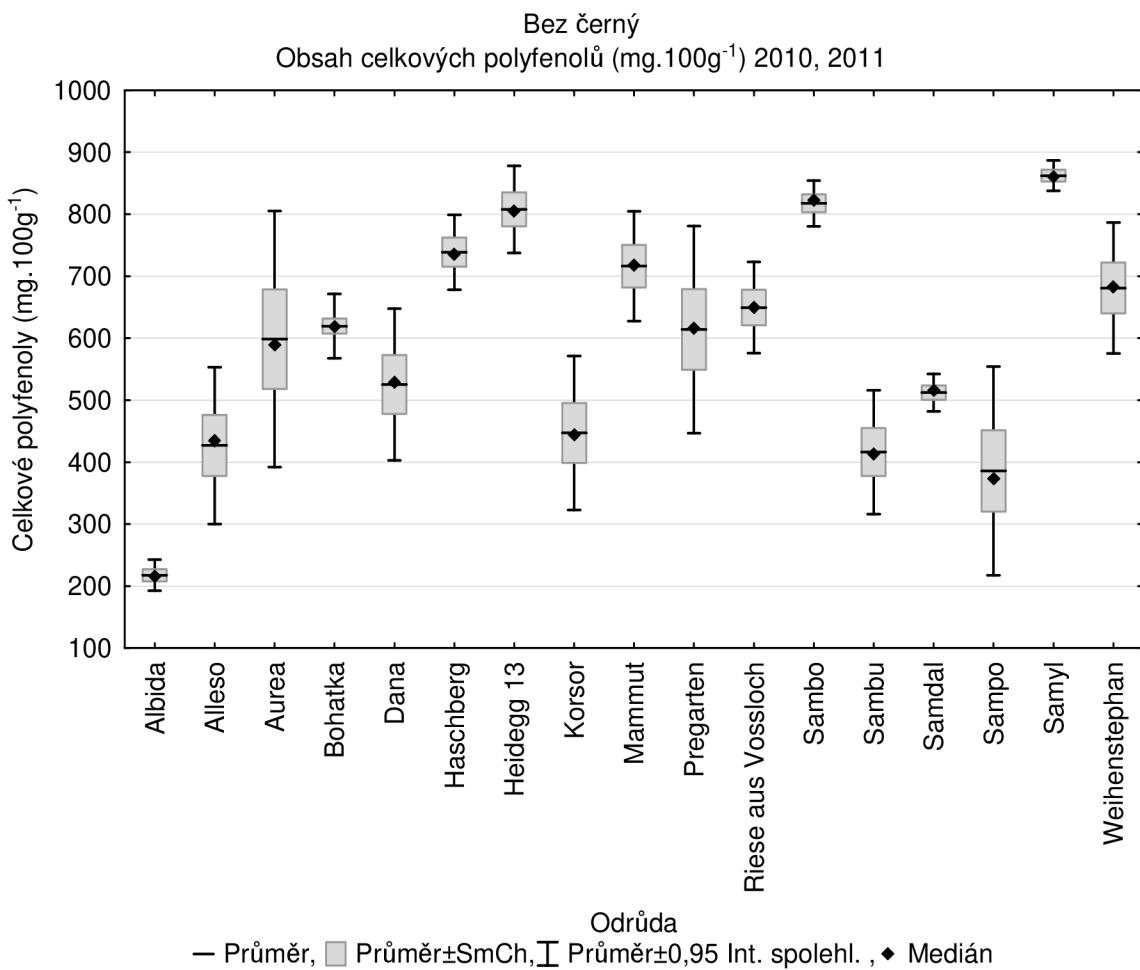
Obrázek 52: Krabicový graf – obsah vitaminu C v odrůdách bezu černého

Nejvyšší obsah vitaminu C ze sledovaných odrůd dosahovala odrůda 'Mammut' s průměrným obsahem  $12,98 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , nejnižší obsah byl zjištěn v odrůdě 'Aurea' –  $5,11 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ . Nalezené hodnoty korespondují s těmi uvedenými v literatuře – např. odrůda 'Mammut' dosahovala v dánské studii také nejvíce vitaminu C –  $25 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  plodů. Další studované odrůdy dosahovaly následující množství vitaminu C: 'Haschberg'  $6 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Allesö'  $16 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Körsör'  $15 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Sambu'  $6 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Samyl'  $13 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Samdal'  $18 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$ , 'Sampo'  $18 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  [99].

**Obsah celkových polyfenolů**, vyjádřených v ekvivalentech kyseliny gallové, se v odrůdách bezu pohyboval mezi  $198,6$  a  $868,2 \text{ mg.}100 \text{ g}^{-1}$  v jednotlivých sklizních (Tabulka 105, Příloha 7). Tabulka 68 a graf na Obrázku 53 shrnují průměrný obsah polyfenolů pro oba dva sledované roky.

Tabulka 68: Průměrný obsah celkových polyfenolů v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))

Odrůda bezu	obsah celkových polyfenolů ( $\text{mg.}100 \text{ g}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 6 nebo 3)	skupina
Albida	$217,7 \pm 17,3$	i
Allesö	$427,0 \pm 88,1$	gh
Aurea	$598,5 \pm 143,6$	ef
Bohatka	$619,4 \pm 13,7$	def
Dana	$525,3 \pm 85,3$	fg
Haschberg	$738,7 \pm 42,1$	abcd
Heidegg 13	$807,7 \pm 48,8$	abc
Körsör	$447,2 \pm 86,6$	gh
Mammut	$716,1 \pm 61,5$	bcde
Pregarten	$614,0 \pm 116,3$	def
Riese aus Vossloch	$649,4 \pm 51,2$	def
Sambo	$817,4 \pm 25,7$	ab
Sambu	$416,2 \pm 69,5$	gh
Samdal	$512,1 \pm 21,0$	fgh
Sampo	$385,8 \pm 117,1$	h
Samyl	$862,2 \pm 17,1$	a
Weihenstephan	$680,9 \pm 73,4$	cde



Obrázek 53: Krabicový graf – obsah celkových polyfenolů v odrůdách bezu černého

Mezi jednotlivými odrůdami byla nalezena poměrně velká variabilita. Nejméně polyfenolů bylo stanoveno v odrůdě 'Albida' (217,7 mg.100 g<sup>-1</sup>), která se vyznačuje absencí anthokyanových barviv – zbarvení plodů je zelené. Nejvyšší množství polyfenolů dosahovaly odrůdy 'Samyl' a 'Sambo' (862,2 a 817,4 mg.100 g<sup>-1</sup>). Mezi obsahem vitaminu C a obsahem celkových polyfenolů byla nalezena jen slabá závislost, vyjádřená korelačním koeficientem  $R^2 = 0,6399$ ,  $P = -0,05$ ), např. narozdíl od plodů rakytníku řešetlákového.

V Chorvatsku byl stanoven obsah celkových polyfenolů na 6362 mg.l<sup>-1</sup> šťávy [178]. Ve Slovensku byl sledován obsah polyfenolů v divoce rostoucím bezu a byl stanoven na 514,9 mg.100 g<sup>-1</sup> [173].

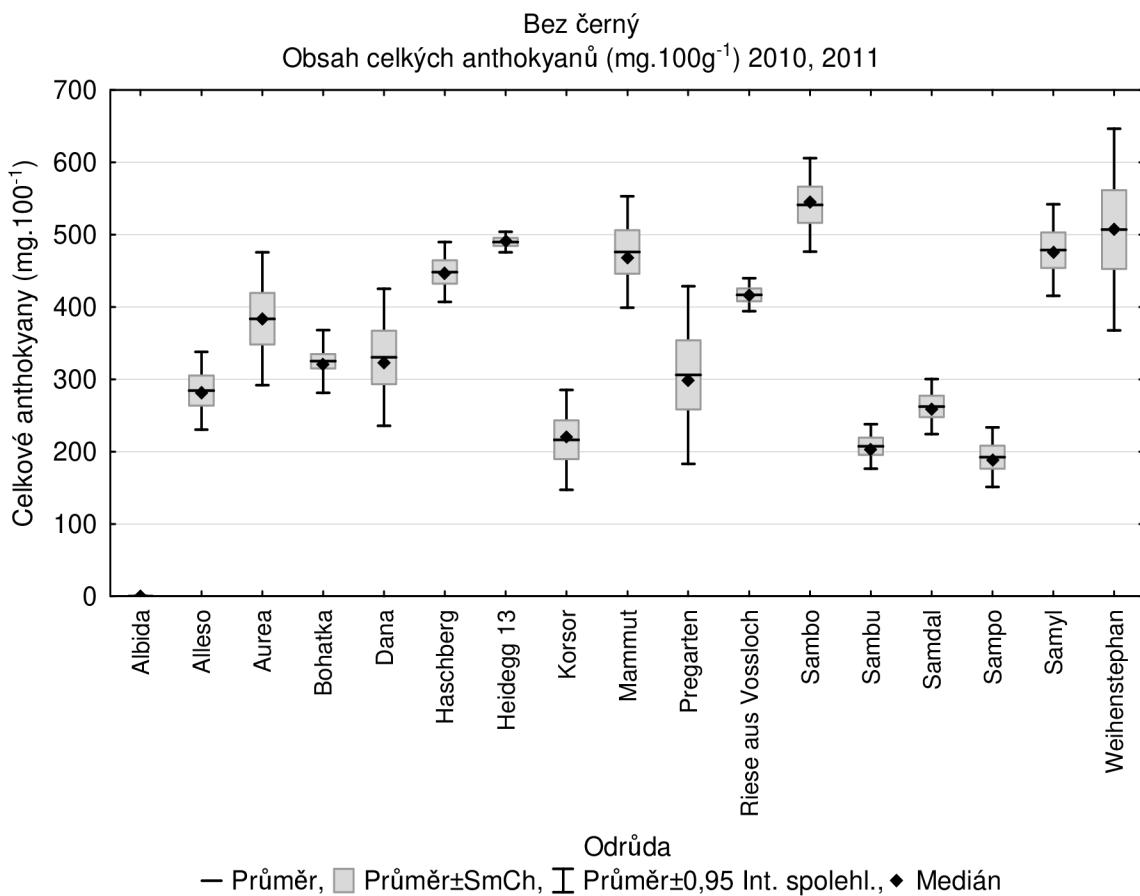
Planý bez pěstovaný v USA obsahoval 1950 mg.100 g<sup>-1</sup>. U methanolových extraktů plodů bezu byla taktéž měřena antioxidační kapacita pomocí metody ORAC a byla nalezena korelace mezi obsahem celkových polyfenolů nebo anthokyanů a ORAC hodnotou. Z toho lze tedy vyvodit, že na antioxidační kapacitě plodů bezu černého se nejvíce podílí právě obsah celkových polyfenolů a anthokyanů [75].

V plodech bezu černého jsou anthokyany významnou složkou. **Množství celkových anthokyanů** v jednotlivých odrůdách bezu černého bylo sledováno pH diferenční metodou a vyjádřeno v ekvivalentech kyanidin-3-glukosidu. V obou sledovaných letech se pohyboval od 156,7 do 596,8 mg.100 g<sup>-1</sup> s výjimkou odrůdy 'Albida', která neobsahuje žádná anthokyanová barviva. Dílčí hodnoty pro jednotlivé roky jsou uvedeny v Tabulce 106 v Příloze 7).

Tabulka 69 a graf na Obrázku 54 shrnuje průměrné hodnoty obsahu celkových anthokyanů za oba dva roky.

*Tabulka 69: Průměrný obsah celkových anthokyanů v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))*

Odrůda bezu	obsah celkových anthokyanů (mg.100 g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 3)	skupina
Albida	0	i
Allesö	284,4 ± 37,4	fg
Aurea	383,6 ± 63,9	de
Bohatka	324,8 ± 11,4	ef
Dana	330,4 ± 66,1	ef
Haschberg	448,2 ± 28,7	bcd
Heidegg 13	489,7 ± 9,8	abc
Körsör	216,3 ± 48,0	gh
Mammut	476,0 ± 53,5	abc
Pregarten	306,0 ± 85,5	ef
Riese aus Vossloch	416,8 ± 15,8	cd
Sambo	541,1 ± 45,0	a
Sambu	207,3 ± 21,4	gh
Samdal	262,3 ± 26,5	fgh
Sampo	192,2 ± 28,6	h
Samyl	478,6 ± 44,0	abc
Weihenstephan	506,9 ± 97,1	ab



Obrázek 54: Krabicový graf – Obsah celkových anthokyanů v odrůdách bezu černého

Nejvyšší množství anthokyanových barviv bylo nalezeno v odrůdě 'Sambo' – 541,1 mg.100 g<sup>-1</sup>. Mimo bezbarvou odrůdu 'Albida' obsahovala nejnižší množství anthokyanů odrůda 'Sampo', a to 192,2 mg.100 g<sup>-1</sup>. Anthokyanы svými antioxidačními vlastnostmi významně přispívají k celkové antioxidační aktivitě plodů bezu [75], což bylo potvrzeno i výsledky této dizertační práci. Byla nalezena statisticky významná korelace mezi obsahem celkových anthokyanů a celkových polyfenolů v jednotlivých sledovaných odrůdách: korelační koeficient závislosti byl  $R^2 = 0,9209$ , při  $P = 0,0000$  (viz graf na Obrázku 55).

Závislost mezi obsahem anthokyanů i celkových polyfenolů na antioxidační kapacitě vyjádřené ORAC metodou byla nalezena ve studii provedené v USA. Pomocí HPLC byl stanoven obsah fenolických látek v planě rostoucím bezu na 1374,4 mg.100 g<sup>-1</sup> [75].

V dostupné literatuře se obsah anthokyanů mění v závislosti na použité metodě extrakce i stanovení a taktéž velmi závisí na době sběru plodů [88].

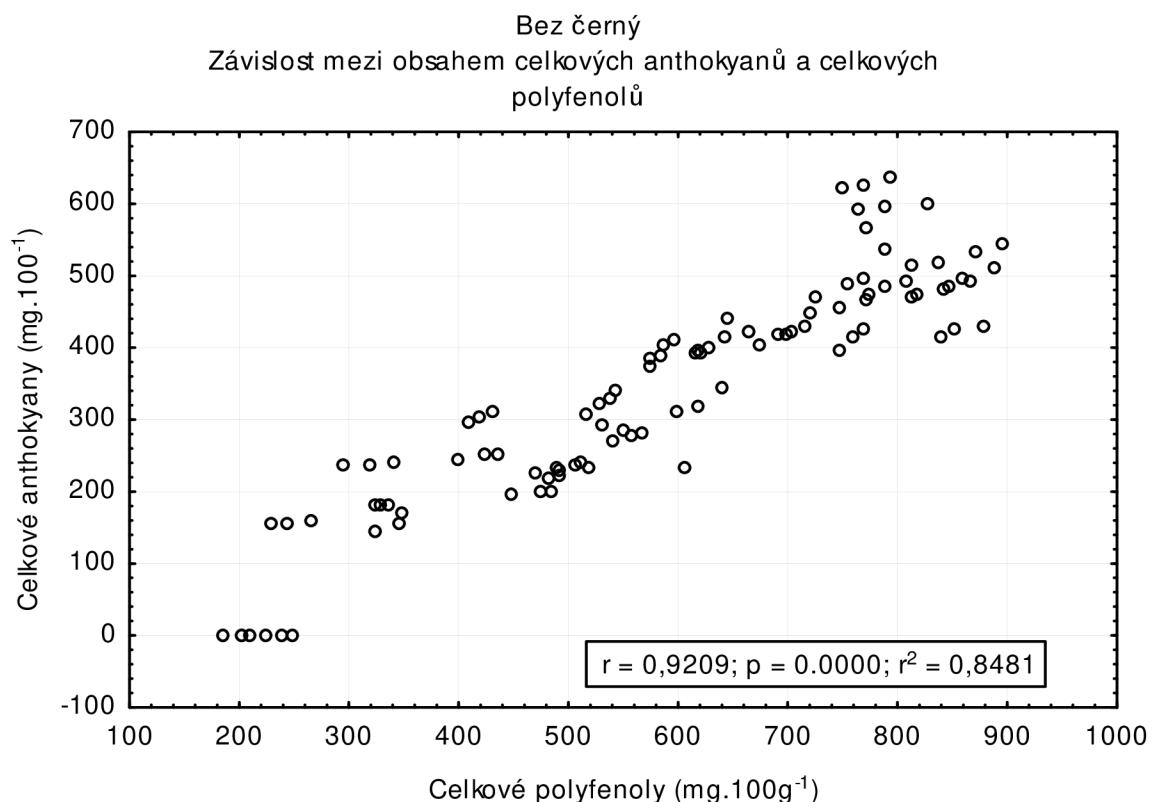
V plodech bezu odrůdy Haschberg, která byla pěstována v Rakousku blízko Grazu, dosahoval obsah celkových anthokyanů stanovených jako suma pěti identifikovaných anthokynů pomocí HPLC – 736,7 mg.100 g<sup>-1</sup> [85].

V Dánské studii byl sledován obsah anthokyanů (suma 4 anthokyanů detekovaných HPLC) v různých odrůdách v závislosti na době sběru. Dle očekávání v průběhu zrání obsah anthokyanů narůstal: Haschberg 760–1770 mg.100 g<sup>-1</sup>, Sampo 1020–1900 mg.100 g<sup>-1</sup>, Samdal 390–1440 mg.100 g<sup>-1</sup>, Mammut 1390–1770 mg.100 g<sup>-1</sup>. Taktéž bylo zjištěno, že použití pektinolýzy má minimální nebo i negativní vliv na obsah anthokyanů a fenolických

látek ve šťávě, protože hydrolyzuje esterovou vazbu mezi sacharidy a fenolickou složkou. Taktéž negativně působí zářev v průběhu hydrolýzy [88].

V jiné dánské studii byl obsah anthokyanů stejnou metodou jako [88] stanoven na: Haschberg 664 mg.100 g<sup>-1</sup>, Allesö 794 mg.100 g<sup>-1</sup>, Körsör 1095 mg.100 g<sup>-1</sup>, Mammut 1589 mg.100 g<sup>-1</sup>, Sambu 1336 mg.100 g<sup>-1</sup>, Samyl 1634 mg.100 g<sup>-1</sup>, Samdal 1690 mg.100 g<sup>-1</sup>, Sampo 1816 mg.100 g<sup>-1</sup> [99].

pH differenční metoda byla použita u stanovení anthokynů v Chorvatsku sbíraných plodech planého bezu na 4188 mg.l<sup>-1</sup> šťávy [178]. V divoce rostoucím bezu černém ve Slovinsku byl obsah anthokyanů pomocí HPLC stanoven na 7400 mg.l<sup>-1</sup> šťávy [179].



Obrázek 55: Korelace mezi obsahem celkových anthokyanů a obsahem celkových polyfenolů v plodech bezu černého

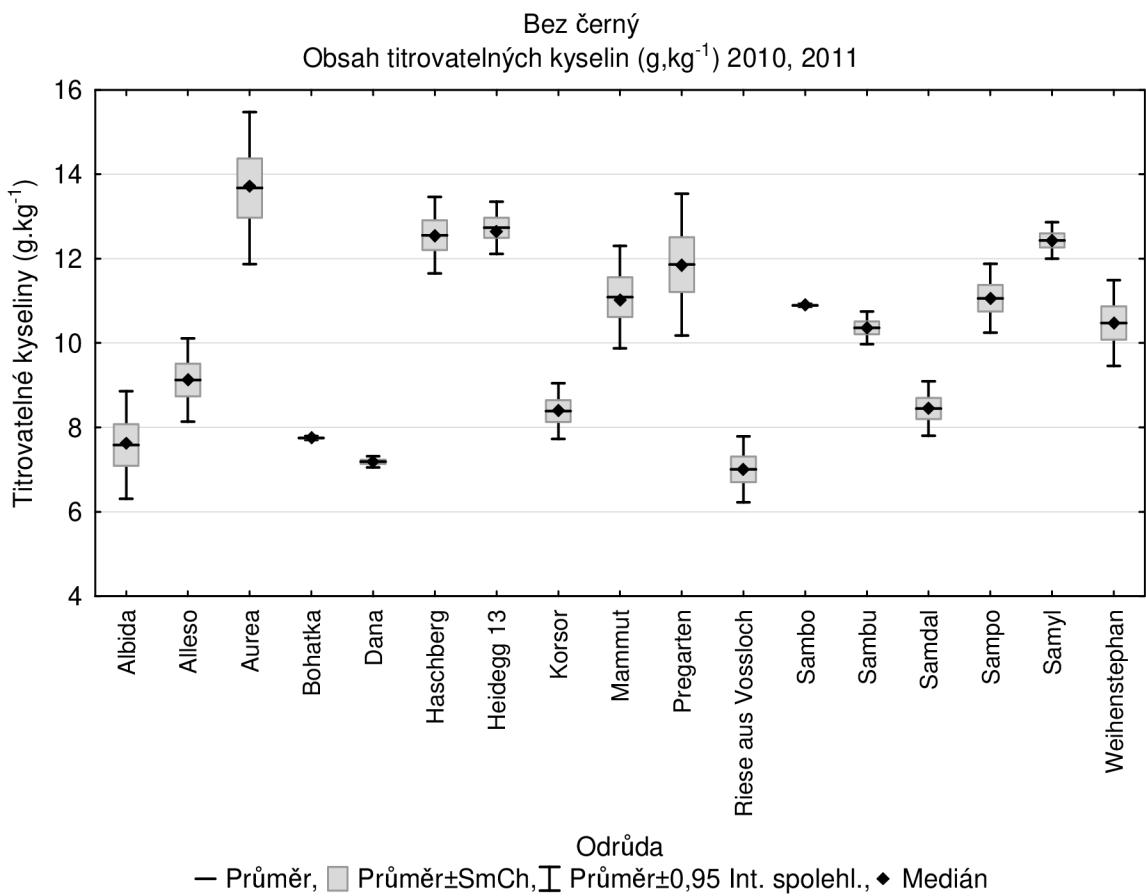
Bыло проанализировано, что в супчике преобладают антоцианы. Было обнаружено, что от 56 до 90 % от общего количества антоцианов в плодах [169]. Эта особенность влияет и на содержание антоцианов, определенное в экстрактах ягод, которые были приготовлены из целых, а не сушеных или липофилизированных плодов. На основе этого можно заключить, что во время производства яблока из измельченных супчиках остается значительная часть антоцианов в плодах. Зубные щетки (супчики плодов) являются хорошим сырьем для промышленной вытяжки антоцианов и их дальнейшего использования в пищевом производстве.

Obsah anthokyanů výrazně klesá během zahřátí šťávy i během jejího skladování. Obsah celkových polyfenolů však zůstává více méně stabilní, stejně jako antioxidační kapacita (DPPH). Anthokyanы неспецифически реагируют с другими компонентами, такими как проантокинидины, и образуют с ними полимеризованные фенольные соединения, которые могут быть обнаружены методом F-C. Celkové zbarvení šťávy не изменяется мало, оно остается темно-красным [180].

V plodech bezu černého byl stanoven **obsah titrovatelných kyselin** (vyjádřený v ekvivalentech kyseliny citronové, jakožto majoritní složky organických kyselin [85]). V Tabulce 103 Přílohy 7 jsou shrnutý dílčí výsledky pro sklizně let 2010 a 2011, kdy se obsah titrovatelných kyselin pohyboval v rozmezí 6,33–15,24 g.kg<sup>-1</sup>. Tabulka 70 a graf na Obrázku 56 shrnují průměrný obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých sledovaných odrůdách za oba dva roky.

*Tabulka 70: Průměrný obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ ))*

Odrůda bezu	obsah titrovatelných kyselin (g.kg <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 6 nebo 3)	skupina
Albida	7,59 ± 0,89	fg
Allesö	9,13 ± 0,68	e
Aurea	13,67 ± 1,26	a
Bohatka	7,75 ± 0,01	fg
Dana	7,19 ± 0,09	g
Haschberg	12,56 ± 0,63	ab
Heidegg 13	12,73 ± 0,43	ab
Körsör	8,39 ± 0,46	ef
Mammut	11,09 ± 0,84	cd
Pergarten	11,86 ± 1,17	bc
Riese aus Vossloch	7,01 ± 0,54	g
Sambo	10,90 ± 0,02	cd
Sambu	10,36 ± 0,27	d
Samdal	8,45 ± 0,45	ef
Sampo	11,06 ± 0,57	cd
Samyl	12,43 ± 0,30	b
Weihenstephan	10,48 ± 0,71	d



Obrázek 56: Krabicový graf – Obsah titrovatelných kyselin v odrůdách bezu černého

Nejvyšší obsah titrovatelných kyselin byl nalezen v plodech odrůdy 'Aurea' ( $13,67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), nejnižší obsah byl stanoven v odrůdě 'Riese van Vossloch' ( $7,01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Nižší obsah titrovatelných kyselin byl dále nalezen v odrůdách 'Albida', 'Alleso', 'Bohatka', 'Dana', 'Korsor' a 'Samdal'.

V plodech bezu černého je majoritní složkou organických kyselin kyselina citronová, následována kyselinou jablečnou. V odrůdě Haschberg pěstované blízko Grazu v Rakousku byla stanovena suma organických kyselin na  $6,38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  plodů [85]. V divoce rostoucím bezu černém ve Slovinsku byl nalezen celkových obsah organických kyselin na  $11,07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [173].

Bez černý není významný jen pro svůj vysoký obsah anthokyanů, ale také pro významná množství jedné z fenolických látek – **rutinu** (kvercetin-3-rutinosid), jež se nachází v rostlině nejen v plodech, ale také v listech a větvích [181].

Jeho obsah v celých plodech byl sledován v odrůdách bezu černého sklizně 2011 – viz Tabulka 71. Obsah se pohyboval od 20,37 (odrůda 'Aurea') do 128,32 (odrůda 'Haschberg')  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Tabulka 71: Obsah rutinu v jednotlivých odrůdách bezu černého (rozřazení do skupin dle Duncanova testu ( $\alpha = 0,05$ )), sklizeň 2011

Odrůda bezu	obsah rutinu ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny) $\pm$ IS (95%, n = 3)	obsah rutinu ( $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ plodů) $\pm$ IS (95%, n = 3)	skupina
Albida	6,70 $\pm$ 0,03	116,38 $\pm$ 0,68	b
Allesö	3,23 $\pm$ 0,03	61,89 $\pm$ 0,18	k
Aurea	1,24 $\pm$ 0,01	20,37 $\pm$ 0,21	o
Bohatka	-	-	-
Dana	2,18 $\pm$ 0,01	40,11 $\pm$ 0,24	n
Haschberg	6,40 $\pm$ 0,24	128,32 $\pm$ 0,62	a
Heidegg 13	2,30 $\pm$ 0,01	43,40 $\pm$ 0,24	m
Körsör	3,51 $\pm$ 0,03	66,20 $\pm$ 0,43	j
Mammut	3,68 $\pm$ 0,02	70,25 $\pm$ 0,42	h
Pergarten	5,68 $\pm$ 0,01	109,45 $\pm$ 0,50	d
Riese aus Vossloch	3,68 $\pm$ 0,02	68,26 $\pm$ 0,74	i
Sambo	5,53 $\pm$ 0,01	111,54 $\pm$ 0,40	c
Sambu	6,41 $\pm$ 0,03	101,34 $\pm$ 0,19	f
Samdal	4,03 $\pm$ 0,02	77,54 $\pm$ 0,66	g
Sampo	5,09 $\pm$ 0,04	77,98 $\pm$ 0,21	g
Samyl	3,50 $\pm$ 0,14	58,21 $\pm$ 0,37	l
Weihenstephan	4,99 $\pm$ 0,05	102,39 $\pm$ 0,50	e

Nalezené hodnoty odpovídají hodnotám v literatuře: v Rakousku, blízko Grazu, byla pěstována odrůda 'Haschberg', v které byl stanoven obsah rutinu na  $52,02 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  plodů [85]. V dánské studii byl sledován pokles rutinu v průběhu zrání ovoce. V jednotlivých sledovaných odrůdách klesal obsah rutinu následovně: 'Haschberg'  $62,12\text{--}35,89 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , 'Sampo'  $89,31\text{--}66,64 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , 'Samdal'  $78,54\text{--}54,05 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , 'Mammut'  $77,96\text{--}47,48 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Tento pokles rutinu nejspíše souvisí s nárůstem obsahu kvercetinu – v průběhu zrání dochází k přeměně rutinu (kvercetin-3-rutinosid) na kvercetin (kvercetin-3-glukosid) [88].

Vzorky bezu černého ze sklizně roku 2012 nebyly k dispozici, proto byl obsah jednotlivých sacharidů a organických kyselin analyzován u dostupných odrůd 'Dana' a 'Haschberg' ze sklizně 2011.

Na rozdíl od ostatního sledovaného ovoce je u bezu černého majoritní složkou organických kyselin kyselina citronová (Tabulka 72). Celkový **obsah organických kyselin** byl v odrůdě 'Dana' stanoven na  $6,09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  a  $8,87 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  v odrůdě 'Haschberg'.

Tabulka 72: Obsah organických kyselin v plodech bezu černého (sklizeň 2011)

Odrůda bezu	obsah organických kyselin ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)			součet
	citronová	jablečná	chinová	
Dana	5,46 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,11	nedetekováno	$6,09 \pm 0,13$
Haschberg	7,90 $\pm$ 0,05	0,96 $\pm$ 0,04	nedetekováno	$8,87 \pm 0,06$

Blízko Grazu v Rakousku bylo v odrůdě 'Haschberg' nalezeno  $4,81 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  kyseliny citronové a  $1,10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  k. jablečné, celková suma  $6,38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [85]. Ve Slovinsku byl studován obsah organických kyselin v divoce rostoucím bezu: kyselina citronová  $9,4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , kyselina jablečná  $1,67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [173].

V odrůdách byl také sledován **obsah jednotlivých sacharidů** – viz Tabulka 73.

*Tabulka 73: Obsah jednotlivých sacharidů v plodech bezu černého (sklizeň 2011)*

Odrůda bezu	obsah sacharidů ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)			součet
	fruktosa	glukosa	sacharosa	
Dana	$13,9 \pm 0,2$	$39,2 \pm 0,1$	nedetekováno	$53,2 \pm 0,2$
Haschberg	$18,6 \pm 0,5$	$42,9 \pm 0,3$	nedetekováno	$61,5 \pm 0,6$

V Rakousku pěstované odrůdě 'Haschberg' bylo stanoveno následující množství jednotlivých sacharidů: sacharosa  $1,21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , fruktosa  $33,99 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , glukosa  $33,33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , suma  $68,53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  [85]. V divoce rostoucím bezu ve Slovinsku bylo nalezeno:  $26,1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  glukosy,  $27,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  fruktosy a  $1,47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  sacharosy [173].

Jelikož plody bezu černého obsahují velmi malá množství kyselin, **poměr mezi sacharidy a kyselinami** je vyšší a lze tyto plody sladkostí zařadit mezi jeřabiny nebo aronie – viz Tabulka 74.

*Tabulka 74: Poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami v odrůdách bezu černého*

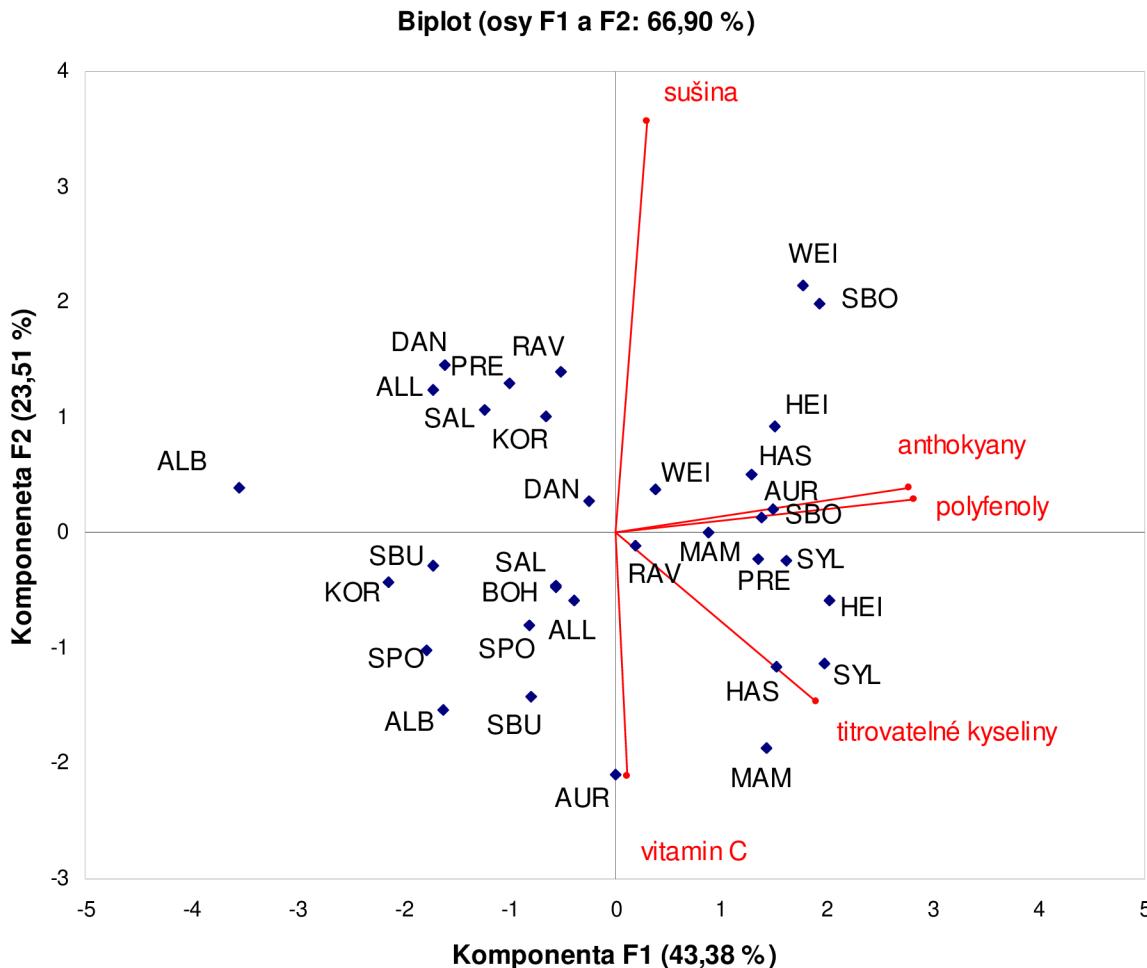
odrůda	celkové organické kyseliny ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	celkové sacharidy ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	poměr sacharidy: organické kyseliny
Dana	6,09	53,2	8,73
Haschberg	8,87	61,5	6,93

Pro odrůdu 'Haschberg' pěstovanou v Rakousku byl vypočítán poměr mezi sacharidy a kyselinami na 10,74 [85]. Ve Slovinsku v divoce rostoucím bezu černém dosahoval poměr pouze 4,55 [173].

### 5.2.5.1 Statistická analýza

Pro jednotlivé sledované odrůdy bezu černého byla provedena **analýza hlavních komponent (PCA)**.

Ze sledovaných základních parametrů u plodů bezu černého byly vybrány parametry sledované v obou sklizních 2010 a 2011, tedy obsah sušiny, vitaminu C, titrovatelných kyselin, celkových anthokyanů a celkových polyfenolů. Data byla nejdříve prošetřena z hlediska odlehlých výsledků a normálního rozložení dat a poté podrobena analýze hlavních komponent pomocí Pearsonova rozdělení.



Obrázek 57: Biplot analýzy hlavních komponent (PCA) pro jednotlivé odrůdy bezu černého

Na Obrázku 57 je znázorněna PCA pomocí dvojného grafu (Biplot) pro dvě hlavní komponenty s nejvyšším podílem na celkové proměnlivosti znaků. Komponenta F1 se na celkové proměnlivosti znaků podílí z 43,38 % a komponenta F2 z 23,51 %. Obě komponenty mají vlastní číslo (eigenvalue) větší než 1,0. Jednotlivé vektory znázorňují komponentní váhy sledovaných parametrů a v grafu jsou kombinované s rozptylovým diagramem komponentního skóre, který představují body jednotlivých odrůd.

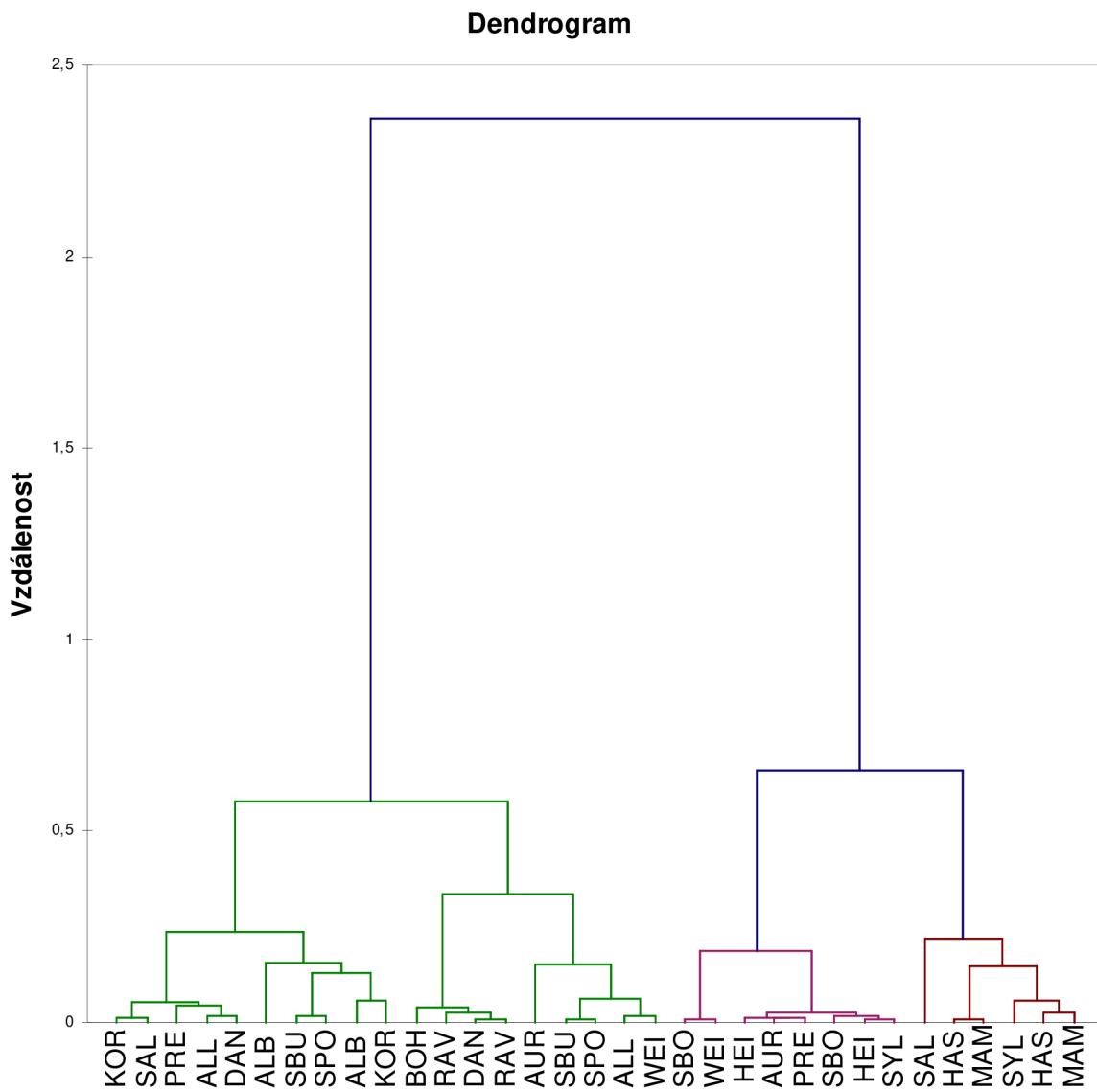
Do komponenty F1 přispívá nejvíce obsah anthokyanů a polyfenolů, méně poté obsah titrovatelných kyselin. Nejvyšší podíl na komponentě F2 má obsah sušiny, negativně ke komponentě F2 přispívá obsah vitaminu C a titrovatelných kyselin.

Vizualizací proměnlivosti dat pomocí PCA (Obrázek 57) lze odrůdy snadno posoudit na základě obsahu sledovaných parametrů. Mezi odrůdami byly nalezeny rozdíly, avšak je nelze rozdělit do viditelných a izolovaných skupin (klastrů, shluků), které by vykazovaly podobné a charakteristické vlastnosti odlišující danou skupinu od jiných. I zde je dobře znázorněna korelace mezi obsahem polyfenolů a anthokyanů. Vektory těchto parametrů svírají nejmenší úhel. Korelace mezi těmito parametry stanovená výše je  $R^2 = 0,86$  (viz Obrázek 55).

Vyšší obsah anthokyanů, polyfenolů a titrovatelných kyselin byl zaznamenán u odrůd 'Haschberg' (HAS), 'Heidegg 13' (HEI), 'Sambo' (SBO), 'Weihenstephan' (WEI), 'Samyl' (SYL) nebo 'Mammut' (MAM). Rakouská odrůda 'Haschberg' je velmi často pěstovaná v celé

Evropě právě pro svůj vysoký obsah biologicky aktivních látek, byl v ní nalezen nejvyšší obsah rutinu (Tabulka 71). Dle analýz anthokyanů a polyfenolů vypadá slibně i slovenská odrůda 'Sambo'. Další slovenské odrůdy 'Dana' a 'Bohatka' patří do skupiny s nižším obsahem těchto látek.

Taktéž byla data zhodnocena pomocí **shlukové analýzy (Cluster Analysis, CLU)**, která někdy dokáže odhalit souvislosti, které jiné zobrazovací metody nejsou schopny rozlišit [*meloun*]. Data byla nejdříve standardizována a následně byla provedena statistická analýza pomocí Wardovy metody shlukování s eukleidovskou metrikou. Výsledkem je přiložený dendrogram na Obrázku 58, který koreluje s výsledky provedenými PCA (Obrázek 57).



Obrázek 58: Dendrogram shlukové analýzy (CLU) pro jednotlivé odrůdy bezu černého

Shluková analýza rozdělila odrůdy do dvou hlavních skupin, tak jako v biplotu PCA analýzy (Obrázek 57) rozdělila osa x diagram na dvě skupiny: s vyšším a nižším obsahem anthokyanů a polyfenolů. Variabilita jednotlivých odrůd ve sledovaných parametrech není příliš výrazná.

Faktorová analýza byla použita pro rozlišení odrůd na základě obsahu anthokyanů, flavonolů, titrační kyselosti, rozpustné sušiny a dalších parametrů ve šťávě bezu černého. Byl nalezen vztah mezi vysokým obsahem rutinu a nízkým obsahem anthokyanů. Taktéž obsah anthokyanů koreloval s obsahem rozpustné sušiny a turbiditou, což může být zajímavé pro potravinářské využití. Na základě předchozích studií i této faktorové analýzy byla odrůda 'Sambu' vybrána jako vhodná pro další využití z důvodu vysokého obsahu anthokyanů, atraktivní chuti a vysokého obsahu rozpustné sušiny [88].

#### **5.2.5.2 Zhodnocení odrůd**

Na základě provedených analýz a statistického vyhodnocení dat lze k pěstování doporučit zejména odrůdu 'Haschberg', 'Samyl', 'Weihenstephan', 'Heidegg 13' nebo slovenskou odrůdu 'Sambo', které obsahují vysoká množství anthokyanových barviv a polyfenolických látek.

Chemické složení však není jediným parametrem, který určuje využití odrůdy v potravinářství. Lze sem zařadit také výtěžnost šťávy, hmotnostní výnos sklizně a další aspekty. Na základě těchto informací z uvedených odrůd lze doporučit odrůdy 'Weihenstephan' nebo 'Samyl', které poskytují nejvyšší množství plodů na rostlinu. Avšak i ostatní z výše uvedených odrůd dosahují nadprůměrných výsledků [181].

## 5.2.6 Srovnání a zhodnocení ovoce

Sledované druhy ovoce, tj. rakytník, dřín, jeřáb, aronie a bez, byly srovnány z hlediska obsahu vybraných parametrů nejen v rámci odrůd, ale také byly posuzovány komplexně z hlediska technologického zpracování a využití v potravinářství.

Tabulka 75 shrnuje rozsah průměrných hodnot jednotlivých sledovaných parametrů pro každý druh ovoce.

*Tabulka 75: Srovnání jednotlivých druhů ovoce (rozsah průměrných hodnot jednotlivých odrůd)*

	rakytník	dřín	jeřáb	aronie	bez*
sušina (%)	15,22–19,02	17,57–27,25	22,95–30,14	23,62–24,78	14,78–19,30
vitamin C (mg.100g <sup>-1</sup> )	53,48–281,45	12,85–40,01	5,54–85,22	5,28–6,69	5,11–12,98
polyfenoly (mg.100g <sup>-1</sup> )	104,33–297,87	121,65–191,79	156,75–305,40	623,16–670,59	217,7–862,2
anthokyany (mg.100g <sup>-1</sup> )	–	6,88–13,32	0,35–28,93	182,69–205,75	0 (192,2)–541,1
titr. kyseliny (g.kg <sup>-1</sup> )	15,77–26,93	15,29–22,20	9,04–21,85	8,98–9,55	7,01–13,67
celk. org. kys. (g.kg <sup>-1</sup> )	20,33–25,97	16,81–36,85	10,16–26,21	9,76–11,56	6,09–8,87
- k. citronová (g.kg <sup>-1</sup> )	0,26–0,55	0,157–0,525	0,11–0,90	–	5,46–7,90
- k. jablečná (g.kg <sup>-1</sup> )	7,52–20,44	11,77–25,79	9,58–25,84	6,47–7,97	0,64–0,96
- k. chinová (g.kg <sup>-1</sup> )	4,93–12,26	4,95–10,54	0,19–0,81	3,29–3,59	–
celk. sacharidy (g.kg <sup>-1</sup> )	20,29–21,16	52,83–99,07	63,94–187,42	84,44–107,67	53,16–61,49
- fruktosa (g.kg <sup>-1</sup> )	7,277–9,702	26,01–44,97	9,42–25,17	15,07–23,62	13,89–18,55
- glukosa (g.kg <sup>-1</sup> )	10,59–13,43	30,27–57,45	48,24–144,32	59,26–62,32	39,21–42,94
- sacharosa (g.kg <sup>-1</sup> )	–	–	6,28–21,05	14,11–20,73	–
poměr sacharidy:org. kys.	0,81–1,02	1,43–5,89	4,51–10,89	8,65–9,31	6,93–8,73

\*Analýzy celkových organických kyselin a celkových sacharidů byly prováděny u plodů ovoce ze sklizně 2012. Vzorky bezu černého této sklizně nebyly k dispozici, byly analyzovány pouze dostupné odrůdy 'Dana' a 'Haschberg' ze sklizně 2011.

**Rakytník řešetlákový** je v České republice importovaný rostlinný druh. Přesto v našich klimatických podmínkách dobře roste a jeho pěstování je snadné. Obsahuje značný obsah biologicky aktivních látek, především vitaminu C. Všechny tyto skutečnosti vedly k tomu, že před několika lety byly v České republice a na Slovensku vysazeny jeho první sady. Při zpracování rakytníku řešetlákového je problematický zejména sběr plodů. Keř má trny, křehké plody dobře drží na větvích a při otrhávání dochází k jejich výraznému poškození. Plody lze sklízet buď ořezem větví s plody s jejich následným zamražením, čímž se může poškodit růst rostliny [4]. Dalším způsobem je sklizeň až po prvních mrazech, kdy lze plody lépe oddělit od zbytku rostliny, avšak klesá obsah vitaminu C [3, 6].

V rakytníku bylo nalezeno nejvyšší množství vitaminu C ze všech sledovaných druhů ovoce (53–281 mg.100 g<sup>-1</sup> plodů). Jeho obsah je taktéž vyšší než v jiných běžně pěstovaných druzích ovoce, které jsou považovány za jeho významné zdroje (citrusy, kiwi, jahody a další [100]). Pro svůj vysoký obsah vitaminu C stačí i malé množství pro dosažení doporučené denní dávky, která představuje 80 mg [146]. Obsah polyfenolů je nižší (104–298 mg.100 g<sup>-1</sup>) ve srovnání s ostatními sledovanými druhy ovoce.

Plody rakytníku obsahují sice podobné množství kyselin jako dříny (16–27 g.kg<sup>-1</sup>, vyjádřeno jako titrovatelné kyseliny), avšak obsah sacharidů je výrazně nižší (20–21 g.kg<sup>-1</sup>). Poměr těchto dvou základních nutričních složek je důležitý pro celkový chut'ový vjem – šťáva

z rakytníku je tedy velmi kyselá – poměr sacharidů a kyselin dosahuje 0,8–1,0. Ke kyselé chuti přispívá i výrazný podíl kyseliny chinové na celkovém obsahu kyselin, který dosahoval i přes 50 %, v závislosti na odrůdě.

Rakytník řešetlákový má jeden z nejnižších obsahů sušiny u sledovaných druhů ovoce: 15–19 %, a proto získávání šťávy z těchto plodů může být poměrně jednoduché. Šťáva však obsahuje v poměrně velkém množství lipidickou složku, která může zkracovat stabilitu šťávy a navýšovat tak počet potřebných technologických operací, jako např. centrifugace nebo dekantace [6].

Pro své fyzikálně-chemické vlastnosti se rakytník hodí zejména pro přípravu šťávy, která by mohla být vhodně kombinována se sladšími typy ovoce pro vyváženější chuťový vjem. Jelikož má rakytník poměrně charakteristickou, výraznou a senzoricky atraktivní chuť, lze jej použít i pro přípravu džemů nebo sirupů. Tímto zpracováním se však může znehodnocovat obsah vitaminu C.

V posledních letech došlo k velkému nárůstu povědomí spotřebitelů o tomto dosud méně využívaném druhu ovoce a v současné době je sortiment výrobků z rakytníku, nejen ze zahraniční produkce, široký a na českém trhu dobře dostupný, zejména v prodejnách zdravé výživy.

**Dřín obecný** je v České republice domácí rostlinný druh s tradicí využití v lidové kuchyni. Jeho divoká forma se běžně vyskytuje na teplých slunných stráních střední a jižní Evropy. Ušlechtilé odrůdy jsou pěstovány většinou jen zahradkáři a nebo jsou vysazovány jako okrasné keře v parcích [3].

Dřín obecný v porovnání s ostatním sledovaným ovocem obsahuje menší množství biologicky aktivní látek s antioxidačním účinkem. Obsah vitaminu C se pohybuje v rozmezí 13–40 mg.100 g<sup>-1</sup>, obsah anthokyanů dosahuje podobně jako v jeřabinách 9–13 mg.100g<sup>-1</sup>. Obsah celkových polyfenolů byl stanoven na 122–192 mg.100 g<sup>-1</sup>. Avšak jako jediný ze studovaných druhů ovoce je vhodný k přímé konzumaci díky poměru sacharidů a kyselin, který se pohybuje mezi hodnotami 1,4–5,9. Podobně jako rakytník řešetlákový, obsahuje dříny vysoký podíl kyseliny chinové na celkovém obsahu organických kyselin (kolem 30–40 %), což jim propůjčuje, narozdíl např. od třešní, mírně trpkou chuť.

Při technologickém zpracování lze postupovat podobně jako v případě třešní. Obsahuje významné množství vlákniny především ve formě pektinu [3], který ovšem může ztěžovat jeho technologické zpracování pro výrobu šťáv. Při technologii je třeba uvážit i přítomnost velkých pecek. Vysoký obsah pektinu však může být naopak žádoucí např. pro výrobu tzv. smoothie [2]. Pro svou méně výraznou chuť je vhodnější jej kombinovat s jinými druhy ovoce.

V České republice nejsou zatím velkopěstitelé tohoto druhu ovoce a taktéž chybí na českém trhu jeho výrobky.

**Jeřáb ptačí** je druh ovoce s dlouhou tradicí pěstování i zpracování v lidové kuchyni. Z České republiky pochází i původní sladká odrůda (*Sorbus aucuparia* L. var. *moravica*, f. *dulcis*), která slouží jako základní odrůda pro následná šlechtění. Sklizeň plodů jeřábů je obdobná jako u hroznů, kdy se stříhají celá plodenství.

U plodů jeřábu, jeřabin, je obsah sledovaných látek velmi závislý na původu odrůdy. Jeřabiny obsahují významná množství vitaminu C (6–85 mg.100 g<sup>-1</sup>) a hydroxyskořicových

kyselin [3, 64, 71], které spolu s anthokyany ( $0\text{--}29 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ) přispívají k antioxidační aktivitě ovoce. Obsah celkových polyfenolů byl stanoven na  $157\text{--}305 \text{ mg.100 g}^{-1}$ .

Taktéž poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami je vysoký: 4,5–10,9. Plody jsou velmi sladké a kromě fruktosy a glukosy obsahují i sacharosu. Výtežnost šťávy z tohoto ovoce může být poměrně nízká z důvodu nejvyššího obsahu sušiny ze sledovaného ovoce (23–30 %), na kterém má velký vliv právě vysoký obsah sacharidů ( $64\text{--}187 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Do této celkové sumy sacharidů navíc není započítaný obsah sorbitolu, který se v jeřabinách i aroniích vyskytuje ve významném množství [173].

Díky vysokému obsahu sacharidů by šťáva připravená z tohoto ovoce mohla sloužit k dosazování směsi ovocných šťáv. Jako minoritní složku v směsných ovocných šťávách by bylo vhodné šťávu z jeřabin zařazovat také pro její nepříliš výraznou a méně známou chut'. Navíc, některé odrůdy mohou mít poměrně trpkou a hořkou chut'.

Kulturní odrůdy jeřábu se v České republice ve velkém nepěstují a taktéž chybí výrobky z něj na českém trhu.

**Aronie černá** (temnoplodec černoplodý) není v České republice původní druh, avšak její druhová blízkost s jeřábem ptačím poukazuje na podobné vlastnosti – lze ji snadno pěstovat v našich podmínkách, je mrazuvzdorná a nemá speciální nároky na stanoviště [3]. Plody aronie se sklízí stejným způsobem jako jeřabiny.

Obsah vitaminu C v plodech aronie je nejnižší ze sledovaných druhů ovoce ( $5\text{--}7 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ), podobně jako odrůdy jeřábu, které vznikly křížením s tímto druhem ovoce. Obsah anthokyanů je však v aroniích, podobně jako v plodech bezu černého, velmi vysoký:  $183\text{--}206 \text{ mg.100 g}^{-1}$ . V aroniích bylo nalezeno i velké množství polyfenolů:  $623\text{--}671 \text{ mg.100 g}^{-1}$ .

Plody aronie obsahují kromě fruktosy a glukosy i sacharosu a sorbitol. Podíl sacharidů převažuje nad podílem kyselin a tedy poměr mezi těmito složkami se pohybuje v rozsahu 8,7–9,3. Nezádoucí senzorickou vlastností se může zdát výrazná svírává chuť plodů, za kterou je zodpovědný především vysoký obsah proanthokyanidinů a hydroxyskořicových kyselin [74–76]), kvůli níž je také výhodnější kombinovat konzumaci aronie s jinými ovocnými druhy.

Výrobky z plodů aronie lze na českém trhu koupit, avšak převážně zahraniční výroby, např. z Rakouska nebo Polska. Pomalu se objevují i výrobky od tuzemských malopěstitelů.

**Bez černý** je taktéž domácí druh ovoce s dlouhou tradicí zpracování v lidové kuchyni i léčitelství. Jeho pěstování je díky nenáročnosti na stanoviště velice snadné. Sklizeň bezu černého probíhá stejně jako v případě hroznů.

Plody i květy mají ověřené farmakologické účinky [124], obsahují vysoké množství rutinu ( $20\text{--}128 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ) a ze sledovaných druhů ovoce mají nejvyšší obsah anthokyanů ( $0\text{--}541 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ) a polyfenolů ( $218\text{--}862 \text{ mg.100 g}^{-1}$ ). Množství vitaminu C není v porovnání s ostatními druhy ovoce významné, dosahuje hodnot  $5\text{--}13 \text{ mg.100 g}^{-1}$ . Šlechtěné odrůdy obsahují minimální množství kyanogenního sambunigrinu [89].

Plody bezu černého mají vyšší poměr sacharidů a kyselin (6,9–8,7), jen trochu nižší než jeřabiny nebo aronie. Mohou tak být vhodně kombinovány i s kyselejšími druhy ovoce.

Obsah sušiny je, podobně jako u rakytníku řešetlákového, nejnižší (15–19 %) ze sledovaného ovoce, avšak, na rozdíl od rakytníku, bezy neobsahují v dužině lipidickou

složku a získávání šťávy je proto poměrně jednoduché. Výtěžnost se pohybuje od 50–70 % [181].

Pro charakteristické aroma bezových plodů je ovšem využití ve formě 100% šťávy nevhodné. Jeho kombinací se šťávou z jiného sladkého ovoce lze připravit poměrně chutný výrobek, který si stále zachovává významné množství biologicky aktivních látek.

Perspektivou při pěstování a zpracování bezu černého je také možnost minimalizace odpadu při technologických procesech: odpad z plodů bezu po vylisování stále obsahuje vysoká množství anthokyanů a lze jej využít pro výrobu žádaných potravinářských barviv přírodního původu. Samotné keře (listy i větve) bezu černého obsahují významná množství rutinu a po každoroční prořezávce keřů mohou být odpadní větve a listy využity k extrakci této látky pro farmaceutický průmysl [3, 86].

V České republice je v současnosti několik sadů, v ostatních státech střední Evropy je bez černý hojně pěstován a využíván. V České republice lze zakoupit výrobky jen zahraniční výroby.

Po zhodnocení současného stavu problematiky na základě provedené literární rešerše, analýz plodů, zohledněním technologických aspektů a osobních znalostí trhu, byl jako nevhodnější zástupce ovoce pro využití v potravinářství zvolen bez černý. Všechny zmíněné druhy ovoce jsou kromě plodů dřínu málo vhodné k přímému konzumu, jsou kyselé či trpké, popřípadě mají jiná úskalí při získávání šťávy, např. velké množství sušiny, pektinu, lipidické složky, apod. Stále mají však velký potenciál stát se vhodnými surovinami pro nejrůznější potravinářské výrobky, které by mohly zaujmout koncového spotřebitele nejen svou dosud neznámou chutí, ale také obsahem látek s pozitivními účinky na lidské zdraví.

Aby mohly být co nejlépe využity biologicky aktivní látky v ovoci obsažené, bylo třeba zvolit vhodný výrobek, který by byl pro spotřebitele dostatečně atraktivní a netradiční, chuťově přijatelný a zachoval si co nejvíce látek, které mohou mít pozitivní vliv na lidský organismus. Nejpřímější cestou k takovému výrobku byla zvolena vícedruhová šťáva, kdy jednu složku tvoří šťáva z plodů bezu, která dává výrobku biologicky aktivní látky a druhá složka je z chuťově přijatelnějšího ovoce, které zjemní charakteristické bezové aroma a uděluje finálnímu výrobku spotřebitelem preferovanou chut'.

### 5.3 ANALÝZA BEZOVÝCH ŠŤÁV

Na základě srovnání ovoce v předchozí kapitole byl pro využití v potravinářském průmyslu zvolen bez černý.

Byly analyzovány odrůdy 'Dana' a 'Bohatka', které budou využity pro přípravu finálního produktu. Šťávy z jednotlivých odrůd byly připraveny v laboratoři (dle postupu uvedeného v kapitole 4.4.1.1) a byly u nich analyzovány následující parametry: refraktometrická sušina, vitamin C, jednotlivé sacharidy, titrovatelné kyseliny, celkové polyfenoly a celkové anthokyany.

Odrůdy byly vybrány na základě možností spolupracujícího subjektu Agrofrukt Hustopeče, který má možnost využít sadů s těmito odrůdami pro produkci šťávy. Na základě výsledků analýz jednotlivých odrůd byla také vysazena odrůda 'Haschberg', která však v roce 2013 neposkytovala dostatečné množství plodů pro přípravu šťávy a její analýzu.

Výsledky analýz jsou shrnuty v Tabulce 76.

Tabulka 76: Srovnání analýz šťáv vybraných odrůd bezu černého (sklizeň 2013)

parametr	Dana	Bohatka
refraktometrická sušina ( $^{\circ}$ Brix)	$8,85 \pm 0,30$	$8,99 \pm 1,24$
vitamin C (mg.100 ml $^{-1}$ )	$8,5 \pm 1,2$	$12,1 \pm 1,4$
polyfenoly (mg.100 ml $^{-1}$ )	$379,8 \pm 5,3$	$359,8 \pm 17,6$
anthokyany (mg.100 ml $^{-1}$ )	$200,5 \pm 1,6$	$240,3 \pm 1,2$
titr. kyseliny (g.l $^{-1}$ )	$7,89 \pm 0,09$	$7,61 \pm 0,07$
celk. sacharidy (g.l $^{-1}$ )	$71,5 \pm 0,4$	$97,8 \pm 0,7$
- fruktosa (g.l $^{-1}$ )	$18,4 \pm 0,3$	$25,7 \pm 0,3$
- glukosa (g.l $^{-1}$ )	$53,1 \pm 0,1$	$72,1 \pm 0,5$
- sacharosa (g.l $^{-1}$ )	–	–
poměr sacharidy:organické kys.	9,1	12,9

Obě odrůdy slovenského původu se vyznačují poměrně vyrovnaným složením a potvrzují tak výsledky analýz provedených na odrůdách ze sklizní roku 2010 a 2011. Obsah látek s antioxidačními vlastnostmi, mezi něž patří vitamin C, anthokyany a polyfenoly, je taktéž vysoký. Obsah polyfenolů je mírně vyšší u odrůdy 'Dana', zatímco množství anthokyanů a vitaminu C je vyšší u odrůdy 'Bohatka'. Odrůda 'Bohatka' obsahuje více sacharidů a tedy výsledný poměr mezi sacharidy a organickými kyselinami je u této odrůdy vyšší. Obě odrůdy však svým vysokým poměrem sacharidů a organických kyselin lze využít ke kombinaci např. s méně sladkou šťávou v případě, že procentuální podíl bezové šťávy bude dost vysoký na to, aby svou sladkostí ovlivnil celkový senzoricky vjem z výrobku.

## 5.4 SENZORICKÁ ANALÝZA

Senzoricky bylo hodnoceno osm vzorků ovocných nápojů složených ze šťáv plodů bezu černého a bílých a červených hroznů v různých poměrech (Tabulka 19). Nápoje A, B, C, G a H obsahovaly jen 100% ovocné šťávy. Nápoje D, E, F byly ředěny vodou – nektar.

Vzorky byly senzoricky hodnoceny pomocí sedmibodové ordinální stupnice (1 = vynikající, 7 = nepřijatelná). Byl hodnoceny čtyři parametry: vzhled a barva šťávy, její konzistence, chuť a vůně a celkové posouzení nápoje, jejichž jednotlivé body stupnice byly v dotazníku podrobně definovány.

Dále hodnotitelé posuzovali předložené nápoje profilovým testem – byla hodnocena intenzita vybraných deskriptorů chuti (harmonická, ovocná, trpká, kyselá, sladká, bezová, hroznová, jiná). Intenzitní stupnice byla pětibodová (1 = neznatelná, 5 = velmi silná).

V závěru dotazníku bylo zhodnoceno celkové pořadí jednotlivých vzorků nápojů.

Cílem bylo vyhodnotit chuť jednotlivých nápojů a posoudit, které složení nápoje by mohlo být optimální pro využití v potravinářství – uvedení na trh.

### 5.4.1 Úvod

Celkem hodnotilo vzorky nápojů 13 hodnotitelů starších 18 let, všichni nekuřáci.

Z úvodní ankety, která byla součástí dotazníku vyplývá, že alespoň jednou denně pije ovocné šťávy osm z třinácti hodnotitelů. Díky děletrvající výzkumné činnosti s tímto druhem ovoce na Fakultě chemické VUT byli hodnotitelé poměrně dobře seznámeni s chutí bezových nápojů – deset hodnotitelů z třinácti někdy ochutnalo šťávu z bezových plodů a šest hodnotitelů z třinácti zná na trhu produkty z bezu černého a občas si je i koupí (jde však především o produkty z bezových květů).

Produkty z bezových plodů na trhu nejsou tolik rozšířené a tudíž mezi klasickými konzumenty (spotřebiteli) není tato chuť příliš známá. Dotazník byl orientován zejména na charakterizaci jednotlivých připravených nápojů a na nalezení vhodné kombinace bezové a hroznové šťávy, proto byl zvolen panel hodnotitelů, kteří byli z větší části obeznámeni s produkty z plodů bezu černého.

Výrobek – ovocný nápoj, který by měl zaujmout spotřebitele by měl mít charakteristickou bezovou chuť, která by neměla být výrazně tlumena dalšími složkami ovocné šťávy. Hroznová šťáva je přidávána do produktu pro zjemnění výrazné bezové chuti.

### 5.4.2 Posouzení pomocí stupnice

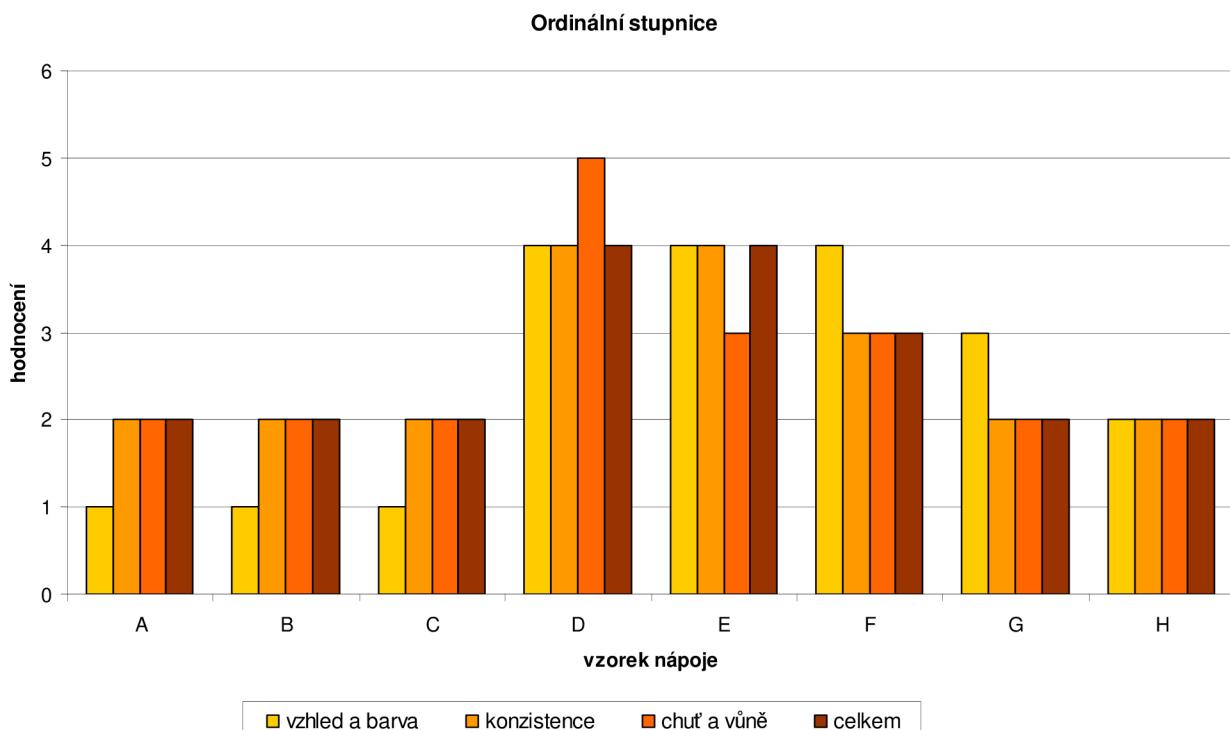
Pomocí ordinální kategorové stupnice byly posuzovány čtyři parametry (vzhled a barva, konzistence, chuť a vůně a celkový dojem).

Hodnotou „vynikající“ byly hodnoceny vzorky, které měly výraznou temně červenou barvu s tónem dohněda, charakteristická pro ovocnou šťávu z plodů černého bezu. Takové šťávy byly hustší (viskóznější), homogenní, popř. s mírnou usazeninou. Chuť i vůně byla harmonická, vyvážená, lahodná, mírně natrpklá, z chuti i vůně byly dobře rozeznatelné obě složky šťávy: bezová i hroznová šťáva (viz Příloha 1).

Na základě Kruskall-Wallisova testu byly mezi vzorky nalezeny statisticky významné rozdíly ( $P < 0,05$ ) u všech sledovaných parametrů.

Z Obrázku 59 je patrné, že nejlépe byly hodnoceny nápoje A, B a C, spolu s nápoji G a H, hodnocení „vynikající“ „velmi dobrá“. Tyto nápoje byly složeny čistě z ovocných šťáv (bezové, hroznové bílé, hroznové červené), bez přídavku vody. Nejlépe byly hodnoceny šťávy s vyšším obsahem bezové složky. Dotazník byl koncipován tak, aby byla nalezena nejlepší kombinace chutí – aby bezová složka byla stále výrazná, avšak nikoli nepříjemná nebo narušující celkový dojem, ať již zrakový nebo chuťový.

Vzorky D, E a F byly hodnoceny jako „dobré“ až „uspokojivé“. Slo o nektary – ovocné šťávy s přídavkem vody. Podíl bezové a hroznové šťávy v celkovém množství nápoje byl tedy nižší. Zředěné šťávy vykazovaly nejen hůře hodnocenou chuť, ale také horší vzhled a konzistence.



Obrázek 59: Vyhodnocení posuzování pomocí ordinální stupnice (1 – vynikající, 7 – nepřijatelná).  
Výsledek prezentován jako medián hodnocení 13 hodnotitelů.

#### 5.4.3 Posouzení pomocí profilového testu

Profilový test byl zařazen pro získání lepšího přehledu o jednotlivých složkách (deskriptorech) chuti přispívajících k celkovému chuťovému vjemu.

Pro grafické znázornění (Obrázek 60–Obrázek 62) byly šťávy rozděleny do třech skupin podle hodnocení v předchozím testu (ordinální stupnice) a příbuznosti složení.

Při porovnání jednotlivých pavučinových grafů (Obrázek 60–Obrázek 62) je patrné, že 100% ovocné šťávy mají poměrně podobný profil. Jako více harmonické a sladké byly označeny vzorky G a H (vyšší obsah sladké hroznové šťávy, méně charakteristického bezového aroma).

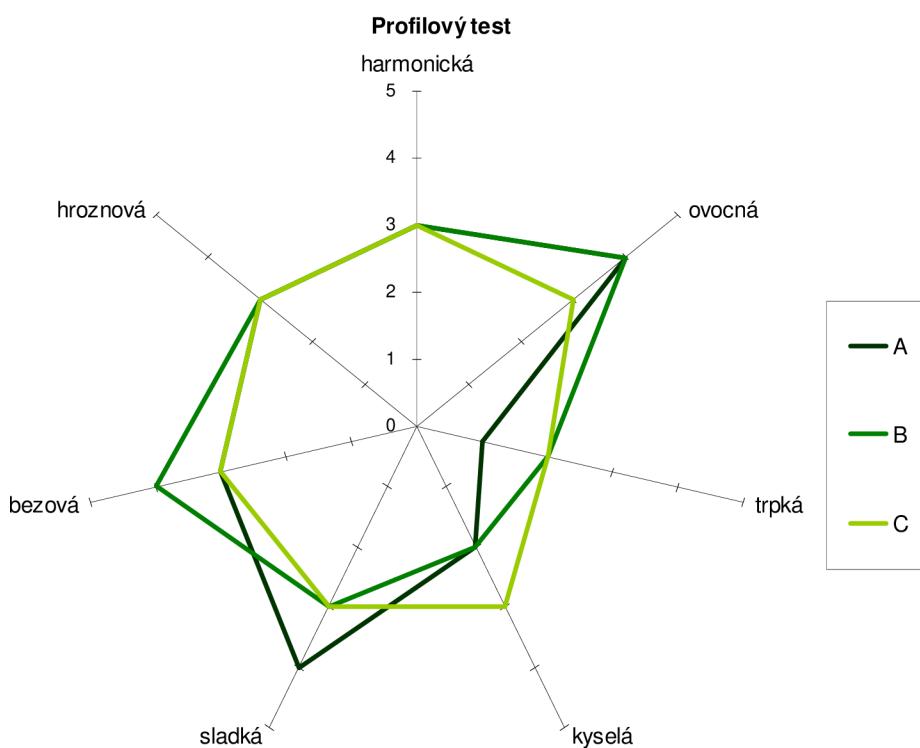
Všechny vzorky byly hodnoceny jako poměrně málo trpké a kyselé, výjimku tvořily vzorky B a C, které obsahovaly vždy jen jednu složku hroznové šťávy, ať už červenou nebo bílou. Hlavní podíl na trpkosti a kyslosti mělo však nejvyšší množství bezové šťávy (50 %) – vzorek B.

Další chuti, identifikované v deskriptoru „jiná“ byly vztaženy hlavně ke vzorkům s přídavkem vody (D, E, F). Tento přídavek byl zodpovědný za deskriptory chuti jako „vodnatá“, „ředěná“, „nevýrazná“ (viz Tabulka 77).

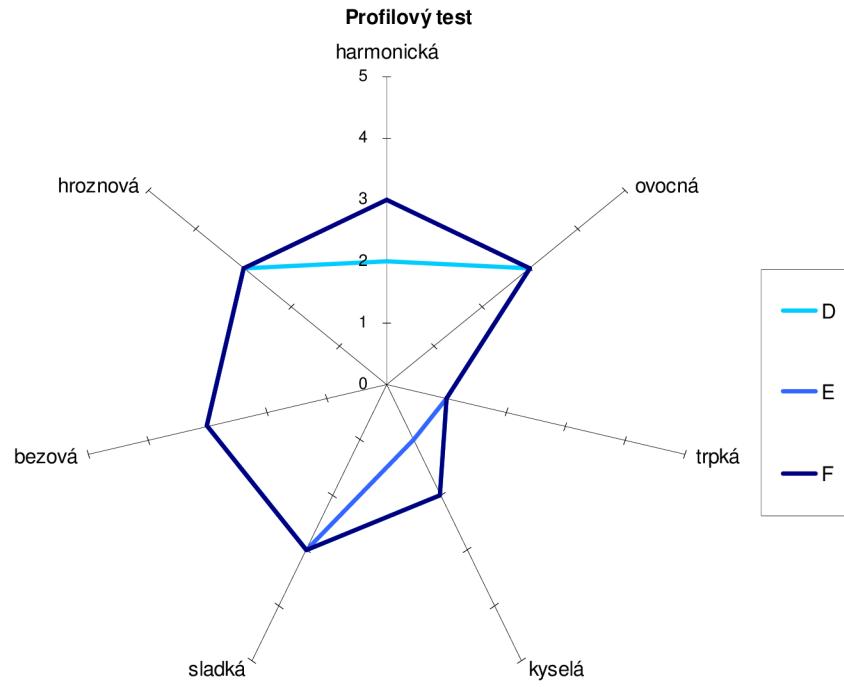
Tabulka 77: Další popisné deskriptory specifikované jako jiná chut'

jiná chut'	intenzita chuti u jednotlivých vzorků							
	A	B	C	D	E	F	G	H
vodnatá				4	5	3		
hořká	3	3						
nepříjemná pachut'				4				
hnilá				3				
jiná				4	2	3	2	
jiná	2	2	2	2	2	2	2	2
nevýrazná					x*			
dost zředěná						x*		
přeslazená								4

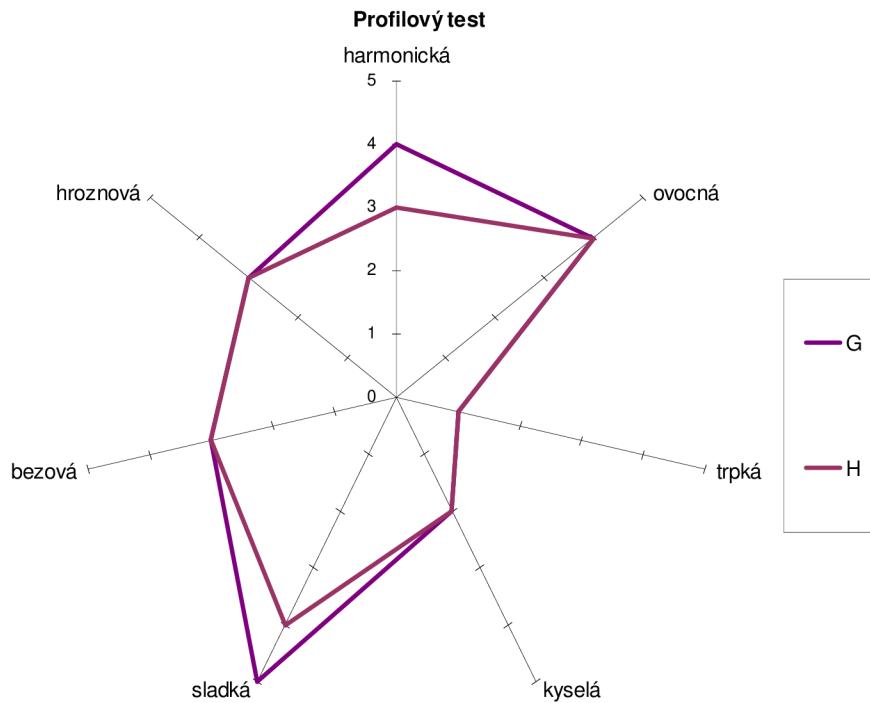
\*ve vyplněném dotazníku nebyla specifikována intenzita deskriptoru, jen jeho definice



Obrázek 60: Profilový test pro vzorky A, B, C. Znázorněné intenzity jednotlivých deskriptorů jsou vyjádřeny jako medián



Obrázek 61: Profilový test pro vzorky D, E, F.. Znázorněné intenzity jednotlivých deskriptorů jsou vyjádřeny jako medián



Obrázek 62: Profilový test pro vzorky G, H.. Znázorněné intenzity jednotlivých deskriptorů jsou vyjádřeny jako medián

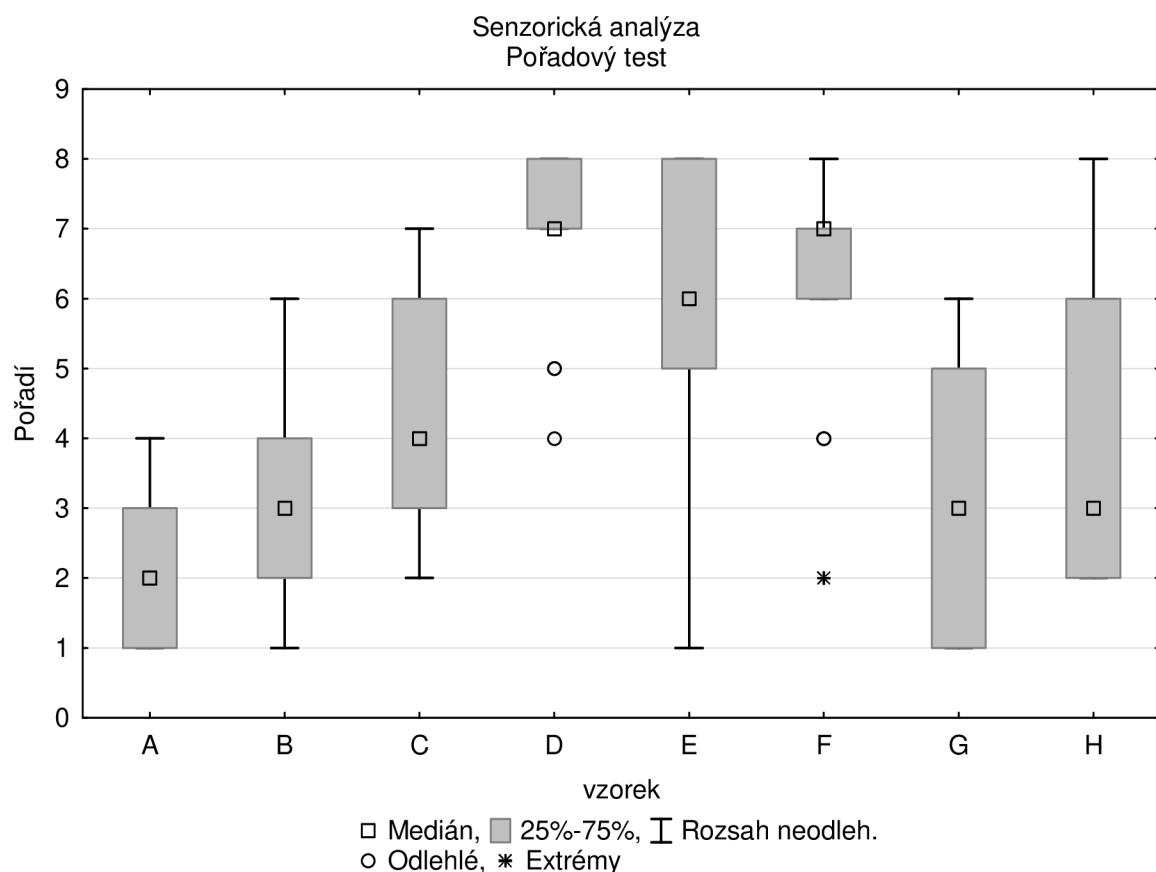
#### 5.4.4 Posouzení pomocí pořadového testu

Na závěr dotazníku byl zařazen hédonický pořadový test, kdy hodnotitelé seřadili osm hodnocených vzorků podle preferencí od nejpřijatelnějšího po nejhorší.

Na základě Friedmanova testu bylo vyhodnoceno, že mezi jednotlivými vzorky byly nalezeny statisticky významné rozdíly na statistické hladině významnosti  $P = 0,05$ . Pouze vzorky C a H byly vyhodnoceny jako shodné s ostatními (co se týče hodnocení pořadí).

Tabulka 78: Vyhodnocení Friedmanova testu ( $S = \text{shodné}$ ,  $R = \text{rozdílné}$ )

výrobky	A	B	C	D	E	F	G	H
A	-	S	S	R	R	R	S	S
B	S	-	S	R	S	R	S	S
C	S	S	-	S	S	S	S	S
D	R	R	S	-	S	S	R	S
E	R	S	S	S	-	S	S	S
F	R	R	S	S	S	-	R	S
G	S	S	S	R	S	R	-	S
H	S	S	S	S	S	S	S	-

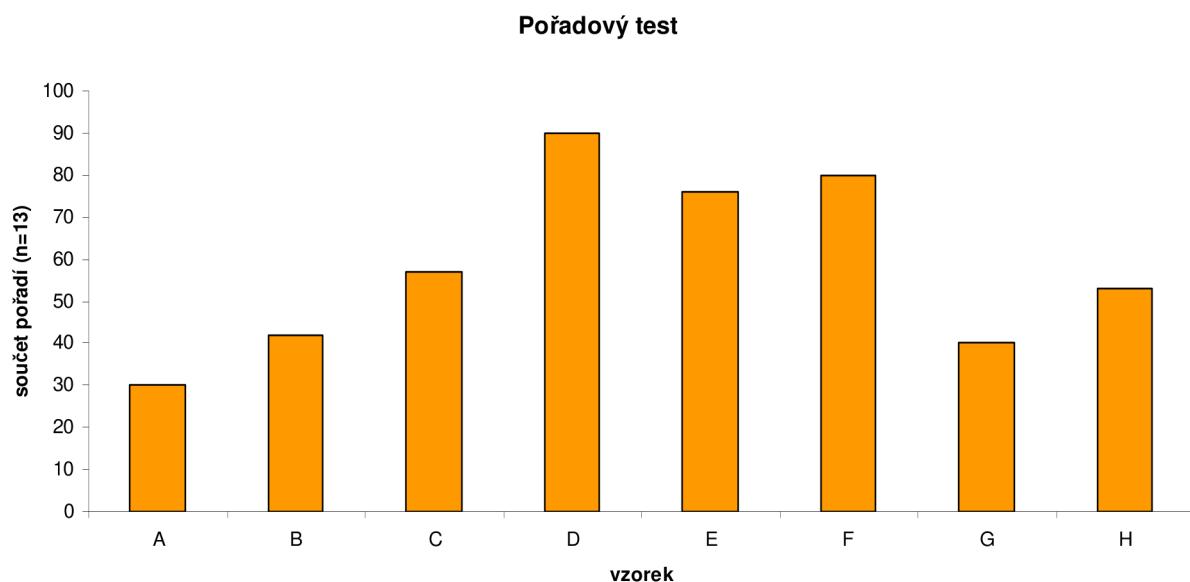


Obrázek 63: Vyhodnocení pořadí pomocí krabicového grafu se znázorněním 25–75% kvantilu – jako střední hodnota je použit medián.

Vyhodnocení pomocí Friedmanova testu (Tabulka 78) odpovídá krabicovému grafu na Obrázku 63, který znázorňuje jednotlivé pořadí pomocí mediánu a 25–75 % kvantilu. Jsou zde vyhodnoceny i odlehle a extrémní hodnoty.

V několika málo případech byly vzorky D, E a F hodnoceny v celkovém pořadí poměrně vysoko. Dokonce v jednom případě, nikoli však u stejného hodnotitele, byl vzorek E vyhodnocen jako první a vzorek F jako druhý nejlepší).

Graf na Obrázku 64 znázorňuje celkové pořadí jednotlivých vzorků pomocí součtu pořadí u všech třinácti hodnotitelů.



Obrázek 64: Vyhodnocení pořadového testu pomocí součtu pořadí jednotlivých vzorků

#### 5.4.5 Závěr

Všechny použité senzorické testy prokázaly, že nejlépe byly hodnoceny 100% ovocné šťávy – konkrétně vzorky A, B, C, G a H. Vzorky D, E, F s přídavkem vody (nektary) byly hodnoceny hůře.

Dle závěrečného vyhodnocení v dotazníku by si některý z uvedených nápojů koupilo osm ze třinácti hodnotitelů. Cena, za kterou by si hodnotitelé byli ochotni koupit tento nápoj se pohybovala od 25 do 80 Kč za litr. Pět hodnotitelů ze třinácti by si nekoupilo ani jedený nápoj.

Díky své charakteristické chuti nejsou bezové šťávy určeny pro popíjení ve větších objemech, např. jako pomerančové nebo jablečné 100% ovocné šťávy. Z hlediska uvedení produktu na trh se nepředpokládá, že nápoje budou určeny pro každodenní konzumaci, ale pouze jako nutričně hodnotný doplněk stravy. Proto je doporučeno tento produkt na trh uvést ve formě maloobjemových lahví o objemu 200–300 ml.

## 5.5 ETIKETA

Na základě užitných vzorů č. 23248 a č. 23809 (viz Příloha 8 a Příloha 9) podaných firmou Agrofrukt Hustopeče ve spolupráci s VUT v Brně mohou být připraveny dva typy nápojů „nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů“ a „Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné nebo zeleninové šťávy“.

Dle uvedených užitných vzorů je základním složením nápoje min. 1 % bezinkové šťávy a v případě „nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů“ také min. 5 % hroznové šťávy nebo mošt. Užitný vzor pro „nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné nebo zeleninové šťávy“ také definuje přesnější podíl jednotlivých složek směsi.

Dle užitných vzorů v Příloze 8 a 9 může být pro oba užitné vzory připraven produkt buď jako 100% ovocná šťáva nebo může být obsah ovocné složky vhodně snížen a nahrazen vodou. Do nápoje může být přidána i kyselina citronová a cukr tak, aby obsah rozpustné sušiny byl minimálně 5 % a obsah veškerých kyselin byl minimálně 0,2 % (2 g/l). Nápoj může být i obohacen o více než 10 mg/l kyseliny askorbové. Běžná pitná voda může být nahrazena přírodní minerální vodou, popř. lze nealkoholický nápoj sytit oxidem uhličitým. Nápoj lze ke snížení mikrobiální zátěže konzervovat termosterilací nebo pasterizací. Pro „nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů“ může být jako konzervační činidlo použito soli kyseliny sorbové a/nebo kyseliny benzoové a jako náhradní sladidlo lze použít směs dvou nebo více látek: aspartam, acesulfam K, kyselina cyklamová, sacharin a jejich soli, neotam, neohesperidin DC, thaumatin, sukralosa.

Tabulka 79 shrnuje vybrané typy řešení uvedené v obou užitných vzorech:

*Tabulka 79: Návrhy složení nealkoholického nápoje z bezinek a dalších ovocných nebo zeleninových šťáv (dle užitných vzorů v příloze 8 a 9)*

složka	užitný vzor 23509		užitný vzor 23248	
	1	5	1	9
bezová šťáva	10 %	20 %	12 %	30 %
hroznová šťáva	50 %	80 %	-	35 %
jablečná šťáva	-	-	50 %	35 %
pitná voda	40 %	-	38 %	-
minerální voda	-	-	-	-
kyselina citronová	na 4,5 g/l	-	na 4,5 g/l	-
cukr (% rozp. sušiny)	na 12 %	-	na 12 %	-
sladidlo	-	-	-	-
syceno	-	-	-	-
kyselina askorbová	-	100 mg/l	-	150 mg/l
konzervace	termosterilace nebo pasterizace	termosterilace nebo pasterizace	termosterilace nebo pasterizace	termosterilace nebo pasterizace

Byly vybrány V následující Tabulce 80 jsou uvedeny návrhy údajů na etiketě, které jsou pro uvedené výrobky (byly vybrány výrobky 1 a 5 dle Tabulky 79) povinné i nepovinné.

*Tabulka 80: Návrh údajů na etiketě vybraných nápojů*

údaj	typ 1 (užitný vzor 23509)	typ 5 (užitný vzor 23509)
název potraviny	Nealkoholický ovocný nápoj	100% ovocná šťáva. Pasterovaná.
seznam složek	Hroznová šťáva 50 %, pitná voda 40 %, bezinková šťáva 10 %, cukr, kyselina citronová	hroznová šťáva 80 %, bezinková šťáva 20 %, kyselina askorbová
množství potraviny	0,75 l	0,25 l
min. trvanlivost	dle data výroby	dle data výroby
podmínky úchovy	Po otevření skladujte v ledničce. Spotřebujte do tří dnů.	Po otevření skladujte v ledničce. Spotřebujte do tří dnů.
provozovatel	jméno a adresa výrobce	jméno a adresa výrobce
výživové údaje (jednotlivé hodnoty lze doplnit až na základě příslušných analýz)	průměrná energetická hodnota ve 100 ml: ml: kJ/ kcal tuky: g (kJ/ kcal) z toho - nasycené mastné kyseliny: g (kJ/ kcal) sacharidy: g (kJ/ kcal) z toho - cukry: g (kJ/ kcal) bílkoviny: g (kJ/ kcal) sůl: g doplňující informace: Sůl je v potravině obsažena výlučně v důsledku přirozeně se vyskytujícího sodíku.	průměrná energetická hodnota ve 100 ml: kJ/ kcal tuky: g (kJ/ kcal) z toho - nasycené mastné kyseliny: g (kJ/ kcal) sacharidy: g (kJ/ kcal) z toho - cukry: g (kJ/ kcal) bílkoviny: g (kJ/ kcal) vitamin C: g (% DDD) sůl: g doplňující informace: Sůl je v potravině obsažena výlučně v důsledku přirozeně se vyskytujícího sodíku.
výživová tvrzení	-	Obsahuje přirozeně se vyskytující cukry. Zdroj vitaminu C.
zdravotní tvrzení <sup>2</sup>	-	Vitamin C přispívá ke snížení míry únavy a vyčerpání. Vitamin C přispívá k ochraně buněk před oxidativním stremem. Vitamin C přispívá k normální funkci imunitního systému. Vitamin C přispívá k normální tvorbě kolagenu pro normální funkci krevních cév. Konzumace potraviny nenahrazuje pestrou a vyváženou stravu.

<sup>2</sup> Zdravotní tvrzení je vhodné doplnit údaji jako: množství potraviny a způsob konzumace potřebné k dosažení uvedeného příznivého účinku, případně sdělení určené osobám, které by se měly vyhnout konzumaci této potraviny a vhodné varování, pokud nadměrná konzumace daného produktu může ohrozit zdraví.

Finální přípravek (Tabulka 20) byl vytvořen na základě obou užitných vzorů jako 100% ovocná šťáva s 10% podílem šťávy z černého bezu a 90% obsahem jiné šťávy (hroznové nebo jablečné). Produkt byl konzervován pasterací bez přídavku cukru, sladiček, kyseliny citronové nebo kyseliny askorbové.

Tabulka 81 znázorňuje návrh povinných a doporučených údajů na etiketě výrobku.

*Tabulka 81: Návrh údajů pro etiketu finálních přípravků*

údaj	bezovo-hroznová šťáva	bezovo-jablečná šťáva
název potraviny	100% ovocná šťáva. Pasterovaná.	100% ovocná šťáva. Pasterovaná.
seznam složek	Hroznová šťáva 90 %, bezová šťáva 10 %	jablečná šťáva 90 %, bezová šťáva 10 %
čisté množství potraviny	v závislosti na obalu 0,75 l nebo 0,187 l	v závislosti na obalu 0,75 l nebo 0,187 l
datum minimální trvanlivosti	dle data výroby	dle data výroby
podmínky úchovy	Po otevření skladujte v ledničce. Spotřebujte do tří dnů.	Po otevření skladujte v ledničce. Spotřebujte do tří dnů.
jméno a adresa provozovatele	adresa výrobce	adresa výrobce
výživové údaje <sup>3</sup>	průměrná energetická hodnota ve 100 ml: 254,4 kJ/ 60,06 kcal tuky: 0,5 g (18,5 kJ/ 4,5 kcal), z toho: - nasycené mastné kyseliny: 0,05 g (1,8 kJ/ 0,5 kcal) sacharidy: 13,1 g (222,2 kJ/ 52,3 kcal), z toho: - cukry: 13,1 g (222,2 kJ/ 52,3 kcal) bílkoviny: 0,7 g (11,9 kJ/ 2,8 kcal) sůl: 0 g doplňující informace: Sůl je v potravině obsažena výlučně v důsledku přirozeně se vyskytujícího sodíku.	průměrná energetická hodnota ve 100 ml: 152,4 kJ/ 35,6 kcal tuky: 0,5 g (18,5 kJ/ 4,5 kcal) z toho - nasycené mastné kyseliny: 0,05 g (1,8 kJ/ 0,5 kcal) sacharidy: 7,1 g (120,2 kJ/ 28,3 kcal) z toho - cukry: 7,1 g (120,2 kJ/ 28,3 kcal) bílkoviny: 0,7 g (11,9 kJ/ 2,8 kcal) sůl: 0 g doplňující informace: Sůl je v potravině obsažena výlučně v důsledku přirozeně se vyskytujícího sodíku.
výživová tvrzení	Obsahuje přirozeně se vyskytující cukry.	Obsahuje přirozeně se vyskytující cukry.
další nepovinné údaje	Ovoce pochází z Jižní Moravy. (nebo jiný údaj o regionálním původu potraviny)	Ovoce pochází z Jižní Moravy. (nebo jiný údaj o regionálním původu potraviny)

<sup>3</sup> Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011, Přílohy V, odstavce 19 nemusí být výživové údaje uváděny pro potraviny dodávané výrobcem v malých množstvích přímo konečnému spotřebiteli nebo do místních maloobchodů přímo zásobujících konečného spotřebitele [146]. Hodnoty pro tuky a bílkoviny převzaty z [182]

## 5.6 ANALÝZA FINÁLNÍHO PRODUKTU

Na základě užitných vzorů (Příloha 8 a 9) byl firmou Réva Rakvice připraven produkt – 100% ovocná šťáva hroznová nebo jablečná s 10% podílem bezové složky (viz Tabulka 20).

Hlavní ovocná složka šťávy je připravována lisováním za studena pomocí šnekového lisu. Bezová šťáva je před mícháním výsledného nápoje rekonstituována z koncentrátu. Po pasteraci je výsledná šťáva pasterována a balena ve skleněných obalech o objemu 0,75 a 0,187 litru, se šroubovacím uzávěrem.

V obou finálních produktech byl stanoven obsah sacharidů, titrovatelných kyselin, refraktometrické sušiny, vitaminu C, celkových anthokyanů a celkových polyfenolů. Výsledky jsou shrnutý v Tabulce 82.

Tabulka 82: Výsledky analýz finálního přípravku

parametr	hroznovo-bezová šťáva	jablečno-bezová šťáva
refraktometrická sušina ( $^{\circ}$ Brix)	$19,7 \pm 0,3$	$11,2 \pm 0,1$
titrovatelné kyseliny ( $\text{g.l}^{-1}$ ) <sup>4</sup>	$6,83 \pm 0,03$	$5,19 \pm 0,03$
celkové sacharidy ( $\text{g.l}^{-1}$ )	$130,71 \pm 1,25$	$70,68 \pm 0,33$
- fruktosa ( $\text{g.l}^{-1}$ )	$77,89 \pm 0,50$	$57,85 \pm 0,33$
- glukosa ( $\text{g.l}^{-1}$ )	$52,82 \pm 0,81$	$9,45 \pm 0,54$
- sacharosa ( $\text{g.l}^{-1}$ )	nedetekováno	$3,38 \pm 0,27$
poměr sacharidy: kyseliny	19,1	13,6
vitamin C ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	$0,90 \pm 0,09$	$9,90 \pm 0,14$
celkové anthokyany ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	$38,14 \pm 1,63$	$20,31 \pm 0,14$
celkové polyfenoly ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	$250,6 \pm 9,4$	$143,5 \pm 5,3$

Obě šťávy obsahovaly pouze 10% bezové složky, proto je celková charakteristika šťávy ovlivněna především její majoritní částí.

Hroznová šťáva je oproti jablečné velmi sladká – obsahuje 130,71 g sacharidů, vyjádřených jako suma fruktosy a glukosy, v jednom litru. Díky poměrně nízkému obsahu titrovatelných kyselin ( $6,83 \text{ g.l}^{-1}$ ) je výsledný poměr sacharidů a kyselin velmi vysoký – 19,1. Jablečno-bezová šťáva obsahuje skoro poloviční množství sacharidů ( $70,68 \text{ g.l}^{-1}$ ), poměr sacharidů a kyselin je tedy nižší – 13,6. Tímto parametrem je tato šťáva podobná čerstvě připravené bezové šťávě, která dosahuje hodnotu poměru v rozmezí 9,1–12,9 (kapitola 5.3).

Vyšší obsah vitaminu C byl nalezen v jablečno-bezové šťávě. Čistá bezová šťáva obsahovala 85–121  $\text{mg.l}^{-1}$  vitaminu C (Tabulka 76), k jehož znehodnocení došlo nejspíše vlivem procesu výroby koncentrátu z bezové šťávy. Obsah vitaminu C ve finálním přípravku je tak ovlivněn především majoritní složkou šťávy – jablečnou šťávou.

Obsah anthokyanových barviv vztažený jen na bezovou složku je v obou finálních výrobcích podstatně nižší (až 10krát) než v případě čerstvé bezové šťávy. Nejpravděpodobnější příčinou ztrát je výroba koncentrátu bezové šťávy, který se nejčastěji připravuje odpařováním vody za zvýšených teplot, které výrazně napomáhají degradaci nebo polymerizaci anthokyanů a tím ztrátě zbarvení [2, 180, 183]. Z obou analyzovaných finálních přípravků byl vyšší obsah anthokyanů nalezen v hroznovo-bezové šťávě.

<sup>4</sup> Pro hroznovo-bezovou šťávu je obsah titrovatelných kyselin vyjádřen v ekvivalentech majoritní kyseliny vinné, pro jablečno-bezovou šťávu je obsah titrovatelných kyselin vyjádřen v ekvivalentech majoritní kyseliny jablečné.

Na základě celkového zhodnocení finálních produktů, analýz čerstvých bezových šťáv (kapitola 5.3) a v neposlední řadě s přihlédnutím k výsledkům senzorické analýzy nápojů (kapitola 5.3), se jako vhodnější jeví použití vyššího podílu bezové složky nebo použití méně sladkého ovoce jako majoritní složky.

Výhodou sladké majoritní složky v ovocné šťávě může být, že pro přípravu produktu s vhodným poměrem sacharidů a kyselin lze použít i méně sladké odrůdy bezu.

Nevýhodou přípravy ovocné šťávy připravované ze surovin pěstovaných v České republice (a klimatickém pásu Evropy) je jejich sezónnost. Ovoce dozrává většinou v průběhu srpna a září, a pokud není vhodným způsobem uskladněno, musí být po sklizni zpracováno. Ať již přímo na finální produkt – ovocnou šťávu, nebo koncentrát, který se použije po rekonstituci pro přípravu produktu v době výroby.

Výroba šťáv s delší dobou trvanlivosti až 12 měsíců vyžaduje nákladné výrobní procesy a jiné obalové materiály, jako je např. blesková pasterace v integrovaném aseptickém balicím systému do obalů z PET (popř. TetraPak) nebo ošetření vysokým tlakem ve flexibilních kontejnerech [2].

Na základě provedených analýz ovoce z různých sklizní (kapitola 5.2 Analýza plodů) bylo prokázáno, že obsah nutričních i biologicky aktivních látek může být variabilní. Nestálost kvalitativních parametrů taktéž ovlivňuje finální produkt, což může spotřebitel poznat především senzoricky a je vhodné tedy na obalu produktu zdůraznit, že jednotlivé šarže výrobků se od sebe mohou lišit v závislosti na druhu použitých surovin.

Analyzované finální produkty jsou díky nízkému obsahu bezové složky poměrně vhodnou formou, jak zprostředkovat novou surovinu a její aroma koncovému spotřebiteli. Celkovým zhodnocením analyzovaných finálních produktů a senzorickou analýzou různých hroznovo-bezových šťáv (kapitola 4.5) však lze vyslovit doporučení pro přípravu produktu s vyšším podílem bezové složky, popř. vhodnou kombinací s méně sladkou majoritní složkou.

## 6 ZÁVĚR

Vybrané druhy netradičního ovoce jsou vhodným zdrojem zdravotně prospěšných látek a bez obtíží je lze pěstovat i v klimatických podmínkách České republiky. V zahraničí jsou všechny uvedené druhy ovoce více pěstované, zpracovávané do rozmanitého sortimentu výrobků a tudíž i více konzumované.

Na českém trhu roste poptávka po obdobných výrobcích, i čeští spotřebitelé jsou náročnější a při výběru potravin hledají zboží s přidanou výživovou hodnotou a obsahem látek s možným pozitivním účinkem na lidský organismus. Taktéž kladou důraz na kvalitu a původ použitých surovin, jakožto i na způsob jejich pěstování.

Každý ze sledovaných druhů ovoce má trochu jiné vlastnosti a jeho využití v potravinářství se odvíjí od jeho fyzikálně-chemických vlastností. Ovoce obecně je považováno za významný zdroj vlákniny, vitaminů a dalších látek s pozitivními účinky na lidské zdraví jako jsou fenolické látky, anthokyany, třísloviny, minerální látky, atp. [2] Proto je preferován způsob přímé konzumace, aby nedošlo k znehodnocení těchto látek technologickým zpracováním. Ne všechny druhy ovoce jsou však k přímé spotřebě vhodné.

Ve spolupráci s šlechtitelskými subjekty (s Mendelovou univerzitou v Brně, Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousích byly sledovány různé odrůdy vybraných druhů ovoce (rakytník řešetlákový, dřín obecný, jeřáb ptačí, aronie černá a bez černý) z hlediska obsahu základních nutričních složek, sacharidů a organických kyselin, a látek, které mají pozitivní vliv na lidské zdraví vitaminu C, polyfenolických látek a anthokyanů.

Rakytník řešetlákový je v posledních letech mezi spotřebiteli v České republice stále známější. Je vyhledáván pro svou charakteristickou ovocnou chut' a vysoký obsah zdravotně prospěšných látek – především vitaminu C. Sortiment jeho výrobků, které jsou často českého původu od malopěstitele, je poměrně široký. Zahrnuje ovocné šťávy, sirupy nebo džemy, bonbony a další. Sušené plody se přidávají jako součást nejrůznějších čajových směsí.

Plody rakytníku jsou velmi kyselé, poměr obsahu sacharidů ku kyselinám se pohybuje kolem hodnoty 1, celkový vjem z kyselé chuti také podporuje vysoké procento obsahu kyseliny chinové. Nejvýznamnější látkou vyskytující se v plodech rakytníku je vitamin C, který dosahuje hodnot až  $281 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  plodů (nejvíce ze sledovaných druhů ovoce) a je velmi závislý na původu odrůdy.

Celkem bylo zkoumáno sedm odrůd rakytníku řešetlákového různého původu. Bylo prokázáno, že obsah zdravotně významných látek (nejen vitaminu C, ale i polyfenolů) je závislý na poddruhu rakytníku. Evropský poddruh *rhamnoides* (odrůda 'Leicora') dosahoval ve sledovaných parametrech nejvyšších hodnot. Taktéž poměrně dobře hodnoceny byly odrůdy poddruhu *mongolica* ('Aromat' a 'Vitamínová'). Na základě výsledků analýz, jejich statistického zpracování a pomologických a hospodářských charakteristik [150] lze pro použití v potravinářství doporučit odrůdy 'Leicora', 'Vitamínová' nebo českou odrůdu 'Buchlovický'.

Plody dřínu obecného se jako jediné ze sledovaných druhů ovoce hodí pro přímou konzumaci. Chutí se podobají třešním, jen mají více svíravou chut' způsobenou významným podílem kyseliny chinové na celkovém množství organických kyselin. Výrobky připravené z těchto plodů však na českém trhu chybí.

Plody dřínu obsahují podobné množství polyfenolických látek jako plody rakytníku, avšak množství vitaminu C je nižší (až  $40 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  plodů). Dřínky, jak bývají plody dřínu nazývány, obsahují více sacharidů, poměr obsahu sacharidů k obsahu kyselin je vyšší a tedy

plody jsou senzoricky přijatelnější, než plody rakytníku. Technologické zpracování, např. pro přípravu šťávy, může ztěžovat vyšší množství pektinu [3].

Na základě analýz deseti odrůd dřínu ukrajinského, rakouského, českého a slovenského původu a jejich pomologických a hospodářských charakteristik [150] byly vtipovány následující odrůdy, které lze doporučit pro pěstování z hlediska obsahu sledovaných látek: česká odrůda 'Ruzyňský' (pro vysoký obsah anthokyanů a vitaminu C), nebo rakouské odrůdy 'Fruchtal' (pro vysoký obsah vitaminu C a polyfenolických látek) a 'Jolico' (pro vysoký obsah vitaminu C a vysoký poměr sacharidů a kyselin – 5,4).

Jeřáb ptačí je v České republice původní druh, známý především jako okrasná dřevina. Výrobky z tohoto druhu ovoce chybí na českém trhu. Jeho většímu využití brání malé povědomí o nutričních i senzorických kvalitách šlechtěných odrůd. Taktéž vyšší obsah sušiny v plodech (až 30 %) může ztěžovat technologické zpracování, např. přípravu šťávy.

Byla studováno celkem dvanáct odrůd jeřábu ptačího, mezi kterými byly nalezeny významné rozdíly v obsahu sledovaných látek v závislosti na genetickém původu odrůdy (rostlinném druhu, s kterým byly kříženy původní odrůdy: hloh, aronie, hruška, mišpule a další). Hlavním rozlišovacím znakem byl obsah anthokyanů, který se pohyboval v rozmezí 0–29 mg.100 g<sup>-1</sup> ovoce. Ještě větší rozptyl byl nalezen u obsahu vitaminu C 6–85 mg.100 g<sup>-1</sup>). Odrůdy s vyšším obsahem anthokyanů zároveň vykazovaly nižší obsah vitaminu C.

Plody šlechtěných odrůd jeřábu ptačího obsahují vysoká množství sacharidů (nejen fruktosy a glukosy jako u jiných druhů sledovaného ovoce, ale také sacharosu a sorbitol [173]). Poměr obsahu sacharidů a kyselin se pohyboval mezi hodnotami 4,5–10,9; sorbitol do tohoto poměru zahrnut nebyl.

Na základě výsledků analýz a statistického zpracování dat lze k pěstování doporučit německou odrůdu 'Koncentra' pro vysoký obsah sacharidů a vitaminu C a vysoký efektivní výnos [150]). Vysoký obsah vitaminu C a polyfenolických látek má také odrůda 'Sorbinka', která je vyšlechtěna z české základní odrůdy *S. aucuparia moravica*, nebo 'Alaja Krupnaja'. Vysoký obsah anthokyanů a sacharidů má slovenská odrůda 'Granatina'.

Aronie černá, botanicky temnoplodec černoplodý, je dřevina velmi podobná jeřábu ptačímu. Přestože není původním druhem v České republice, na českém trhu lze nalézt několik výrobků, které opět pocházejí od drobných pěstitelů.

Aronie černá je vyhledávaná především pro svůj vysoký obsah anthokyanů. Ve dvou sledovaných odrůdách aronie se obsah anthokyanů pohyboval mezi 183 a 206 mg.100 g<sup>-1</sup> ovoce. Obsah polyfenolických látek byl 2–3krát vyšší než v plodech rakytníku, dřínu nebo jeřábu, avšak množství vitaminu C je v aroniích nejnižší, 5–6 mg.100 g<sup>-1</sup> ovoce. Plody jsou také poměrně sladké, poměr mezi sacharidy a kyselinami je 8,7–9,3.

Obě studované odrůdy aronie černé, česká 'Nero' a finská 'Viking' obsahují velmi podobná množství všech sledovaných látek a obě tak lze doporučit pro využití v potravinářském průmyslu.

Posledním studovaným druhem ovoce byl bez černý, jehož výrobky se na českém trhu omezují hlavně na využití aromatických květenství pro přípravu sirupů, různých nápojů nebo čajů).

Byla sledováno sedmnáct odrůd bezu černého původem především z Dánska, Rakouska a Slovenska. Plody bezu černého, bezinky, se vyznačují vysokým obsahem anthokyanových barviv, polyfenolických látek a rutinu. Obsah anthokyanových barviv dosahoval až

541 mg.100 g<sup>-1</sup> ovoce, obsah polyfenolů až 862 mg.100 g<sup>-1</sup>. Rutin se v plodech nachází v množství 20–128 mg.100 g<sup>-1</sup>.

Plody bezu černého obsahují i optimální poměr obsahu sacharidů a kyselin: 6,9–8,7, které přispívají k celkovému pozitivnímu senzorickému vjemu z ovoce.

Na základě celkového zhodnocení studovaných druhů plodů z hlediska obsahu zdravotně prospěšných látek, základního nutričního složení, možnostem technologického zpracování a využití v potravinářství byl ve spolupráci se zástupcem výrobního podniku zpracovávajícího ovoce vybrán bez černý jako perspektivní plodina pro využití v potravinářství.

Hlavní nevýhodou bezinek může být jejich charakteristická chuť, na kterou nemusí být český spotřebitel příliš zvyklý. Toto lze však vhodně řešit kombinací bezové šťávy s jinou, chuťově méně výraznou, neutrálnější šťávou, např. hroznovou nebo jablečnou, případně zeleninovou. Proto byly z bezové a hroznové šťávy byly připraveny vícedruhové džusy nebo nektary o různém složení, které byly podrobeny senzorickému hodnocení. Nejlépe byly hodnoceny 100% ovocné šťávy připravené s 30–50% podílem bezové šťávy.

Pro finální přípravek byl nakonec soukromým výrobním subjektem zvolen pouze 10% podíl bezové šťávy kombinovaný s hroznovou nebo jablečnou šťávou. Analyzované finální produkty jsou díky nízkému obsahu bezové složky poměrně vhodnou formou, jak zprostředkovat novou surovinu a její aroma koncovému spotřebiteli. Avšak pro lepší využití potenciálu plodů bezu černého je cílem připravit produkt s vyšším obsahem bezové složky.

Jako právní ochrana popsaného jedinečného nového výrobku byl získán „užitný vzor“. Ochráňuje kombinované džusy nebo nektary tvořené ovocnou nebo ovocno-zeleninovou šťávou a šťávou z plodů bezu černého.

V této práci bylo prokázáno, že nejen bez černý ale i ostatní druhy sledovaného ovoce mají velký potenciál stát se vhodnými surovinami pro přípravu nových potravinářských produktů, které mohou mít pozitivní účinky na lidský organismus a jsou připravovány šetrnými výrobními technologiemi s minimem přídavných látek a technologických operací a za použití surovin, vypěstovaných na našem území.

## 7 ZKRATKY

AA	(L-ascorbic acid) – kyselina L-askorbová
AIJN	(Association of the Indurstry of Juices and Nectars) – Evropská asociace výrobců ovocných šťáv
AU	Rakousko (mezinárodní kód)
CAD	(Corona Charged Aerosol Detector)
CLU	(Cluster Analysis) – shluková analýza
CTAB	centrimonium bromid
CZ	Česká Republika (mezinárodní kód)
CZE	(Capillary Zone Electrophoresis) – kapilární zónová elektroforéza
DAD	(Diode Array Detector) – detektor s diodovým polem
DHAA	(L-dehydroascorbic acid) – kyselina L-dehydroaskorbová
DPPH	2,2-di(4- <i>tert</i> -oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl
DTT	dithiothreitol
EDTA	(ethylenediaminetetraacetic acid) – kyselina ethylenediamintetraoctová
EP	Evropský parlament
ES	Evropské společenství
ESI	(Electrospray Ionization) – elektrosprejová ionizace
F-C	Folin-Ciocalteuovo (činidlo)
FRAP	(Ferric Reducting Antioxidant Potential)
HPLC	(High Performance Liquid Chromatography) – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IS	interval spolehlivosti
LDL	(Low Density Lipoprotein) – lipoproteiny s nízkou hustotou
LOD	(Limit of detection) – Mez stanovitelnosti
LOQ	(Limit of quantification) – Mez kvantifikace
MPA	(metaphosphoric acid) – metafosforečná (monohydrogenfosforečná) kyselina
MS	(Mass Spectrometry) – hmotnostní spektrometrie
NMR	(Nuclear Magnetic Resonance) – nukleární magnetická rezonance
ORAC	(Oxygen Radical Absorbance Capacity)
PCA	(Pricipal Component Analysis) – Analýza hlavních komponent
PET	(Polyethylene terephthalate) – polyethylentereftalát
PHWE	(Presurized Hot Water Extraction) – extrakce stlačenou horkou vodou
RID	(Refractive index detector) – refraktometrický detektor
RSD	(Relative Standard Deviation) – relativní směrodatná odchylka

SPE	(Solid-Phase Extraction) – extrakce na pevnou fázi
TCEP	tris-2-karboxyethylfosfin
TEAC	(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TRAP	(Total Reactive Antioxidant Potential)
UA	Ukrajina (mezinárodní kód)
USDA	(United States Department of Agriculture)
USP	(Pharmacopoeia of United States) – Farmakopea Spojených států amerických
UV-VIS	(Ultraviolet-Visible) – ultrafialová a viditelná část světelného spektra

## 8 LITERATURA

- [1] ASHURST, P.R. *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. 2. vyd. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 2005. 374 s. ISBN 1-4051-2286-2.
- [2] PAQUIN, P. *Functional and speciality beverage technology*. New Delhi: Woodhead Publishing, 2009. 554 s. ISBN 978-1-84569-556-9.
- [3] DOLEJŠÍ, A., V. KOTT a L. ŠENK. *Méně známé ovoce*. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1991. 152 s. ISBN 80-209-0188-4.
- [4] PAPRŠTEIN, František. *Technologie pěstování a množení rakytníku řešetlákového (Hippophae rhamnoides, L.)*. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2009. 30 s. ISBN 978-80-87030-07-3.
- [5] KEUCK, G. Carl Axel Magnus Lindman: Bilder ur Nordens Flora (1901-1905): Hippophaë rhamnoides 243.jpg Elaeagnaceae. In: *Max-Planck-Gesellschaft* [online]. München: Max-Planck-Gesellschaft, © 2003-2012, 28. April 1999 [cit. 2012-06-21]. Dostupné z: <http://caliban.mpiwp.mpg.de/lindman/243.jpg>
- [6] LI, T.S.C. a T.H.J. BEVERIDGE. *Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.): Production and Utilization*. Ottawa: NRC Research Press, 2003. 133 s. ISBN 0-660-19265-9.
- [7] BARTISH, G.I., N. JEPPESSON, J.V. BARTISH a H. NYBRON. Assessment of genetic diversity using RAPD analysis in a germplasm collection of sea buckthorn. *Agricultural and Food Science in Finland*. 2000, **9**(4), 279–289. ISSN 1239-0992.
- [8] BEVERIDGE, T., T.S.C. LI, B.D. OOMAH a A. SMITH. Sea Buckthorn Products: Manufacture and Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, **47**(9), 3480–3488. ISSN 0021-8561.
- [9] ZEB, A. Chemical and Nutritional Constituents of Sea Buckthorn Juice. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2004, **3**(2), 99–106. ISSN 1994-7984.
- [10] KALLIO, H., B. YANG a P. PEIPPO. Effects of Different Origins and Harvesting Time on Vitamin C, Tocopherols, and Tocotrienols in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, **50** (21), 6136–6142. ISSN 0021-8561.
- [11] TELESZKO, Miroslawa, Aneta WOJDYŁO, Magdalena RUDZIŃSKA, Jan OSZMIAŃSKI a Tomasz GOLIS. Analysis of Lipophilic and Hydrophilic Bioactive Compounds Content in Sea Buckthorn ( *Hippophaë rhamnoides* L.) Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2015, 63(16), 4120-4129 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b00564. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.5b00564>
- [12] RAFFO, A., F. PAOLETTI a M. ANTONELLI. Changes in sugar, organic acid, flavonol and carotenoid composition during ripening of berries of three seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *European Food Research and Technology*. 2004, **219** (4), 360–368. ISSN 1438-2385.
- [13] TANG., X. a P.M.A. TIGERSTEDT. Variation of physical and chemical characters within an elite sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) breeding population. *Scientia Horticulturae*. 2001, **88**(3), s. 203–214. ISSN 0304-428.

- [14] SABIR, S.M., H. MAQSOOD, I. HAYAT, M.Q. KHAN a A. KHALIQ. Elemental and Nutritional Analysis of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *turcestanica*) Berries of Pakistani Origin. *Journal of Medicinal Food.* 2005, **8**(4), 518–522. ISSN 1096-620X.
- [15] OHKAWA, W., Y. KANAYAMA, E. CHIBA, K. TIITINEN a K. KANAHAMMA. Changes in Sugar, Titratable Acidity, and Ascorbic Acid Content during Fruit Development in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.* 2009, **78**(3), 288–293. ISSN 0013-7626.
- [16] GULIYEV, V.B., M. GUL a A. YILDIRIM. *Hippophae rhamnoides* L.: chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences.* 2004, **812**(1-2 SPEC. ISS.), 291–307, ISSN 1570-0232.
- [17] PAPUC, C., C. DIACONESCU, V. NICORESCU a C. CRIVINEANU. Antioxidant activity of polyphenols from sea buckthorn fruits (*Hippophae rhmanoides*). *Revista de Chimie.* 2008, **59**(4), 392–394. ISSN 0034-7752.
- [18] ROP, Otakar, Sezai ERCİSLİ, Jiri MLCEK, Tunde JURIKOVA a Ignac HOZA. Antioxidant and radical scavenging activities in fruits of 6 sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY* [online]. 2014, **38**, 224-232 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.3906/tar-1304-86. ISSN 1300-011x. Dostupné z: <http://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/issues/tar-14-38-2/tar-38-2-8-1304-86.pdf>
- [19] GUTZEIT, D., G. BALEANU, P. WINERHALTER a G. JERZ. Vitamin C Content in Sea Buckthorn Berries (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and Related Products: A Kinetic Study on Storage Stability and the Determination of Processing Effects. *Journal of Food Science.* 2008, **73**(9), C615–C620. ISSN 1750-3841.
- [20] PAPRŠTEIN, František: *Technologie pěstování dřínu obecného (Cornus mas L.).* Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2009. 30 s. ISBN 978-80-87030-06-6.
- [21] KLIMENKO, S.: The Cornelian cherry (*Cornus mas* L.): Collection, preservation, and utilization of genetic resources. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research Spec. Ed..* 2004, **12**, 93–98. ISSN 1231-0948.
- [22] Www.biolib.de: A collection of historic and modern biology books. In: *Max-Planck-Gesellschaft* [online]. München: Max-Planck-Gesellschaft, © 2003-2012, [cit. 2012-06-21]. Dostupné z: <http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/sturm/flora/screen/Sturm12040.jpg>.
- [23] PAWLOWSKA, A.M., F. CAMANGI a A. BRACA. Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Conaceae) fruits. *Food Chemistry.* 2010, **119** (3), 1257–1261. ISSN 0308-8146.
- [24] SEERAM, N.P., R. SCHUTZKI, A. CHANDRA a M.G. NAIR. Characterization, Quantification, and Bioactivities of Anthocyanins in *Cornus* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002, **50**(9), 2519–2523. ISSN 0021-8561.
- [25] TURAL, S. a I. KOCA. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae.* 2008, **116**(4), 362–366. ISSN 0304-4238.

- [26] NAWIRSKA-OLSZANSKA, A., A.Z. KUCHARSKA a A. SOKÓL-LETOWSKA. Dietary fibre fractions in Cornelian cherry fruit (*Cornus mas* L.) *Food. Science Technology. Quality.* 2010, **17**(2), 95–103. ISSN 1425-6959.
- [27] PEROVA, I.B., A.A. ZHOGOVA, A.V. POLYAKOVA, K.L. ELLER a I.A. SAMYLINA. Biologically active substances of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.). *Voprosy Pitaniia.* 2014, **83**(5), 86–94. ISSN 0042-8833.
- [28] GÜLERYÜZ, M., I. BOLAT a I. PIRLAK. Selection of Table Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Types in Coruh Valley. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry.* 1998, **22**(4), 357–364. ISSN 1303-6173.
- [29] BRINDZA, P., J. BRINDZA, D. TÓTH, S.V. KLIMENKO a O. GRIGORIEVA. Slovakian cornelian cherry (*Cornus mas* L.): Potential for cultivation. *Acta Horticulturae.* 2007, **760**, 433–438. ISSN 0567-7572.
- [30] PANTELIDIS, G.E., M. VASILAKAKIS, G.A. MANGANARIS a G. DIAMANTIDIS. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry.* 2007, **102**(3), 777–783. ISSN 0308-8146.
- [31] BIJELIĆ, Sandra M., Branislava R. GOLOŠIN, Jelena I. NINIĆ TODOROVIĆ, Slobodan B. CEROVIĆ a Boris M. POPOVIĆ. Physicochemical Fruit Characteristics of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Genotypes from Serbia. *HortScience.* 2011, **46**(6), 849–853. ISSN 0018-5345.
- [32] YILMAZ, K.U., S. ERCISLI, Y. ZENGİN, M. SENGUL a E.Y. KAFKAS. Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chemistry.* 2009, **114**(2), 408–412. ISSN 0308-8146.
- [33] ROP, O., J. MLCEK, D. KRAMAROVA a T. JURIKOVA. Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as a new food source for human nutrition. *African Journal of Biotechnology.* 2010, **9**(8), 1205–1210. ISSN 1684-5315.
- [34] KUCHARSKA, A.Z., A. SOKÓL-LETOWSKA a N. PIÓRECKI. Morphological, physical and chemical, and antioxidant profiles of Polish varieties of Cornelian cherry fruit (*Cornus mas* L.). *Food. Science Technology. Quality.* 2011, **18**(3), 78–89. ISSN 1425-6959.
- [35] ERCISLI, S., S. O. YILMAZ, J. GADZE, A. DZUBUR, S. HADZIABULIC a J. ALIMAN. Some fruit characteristics of cornelian cherries (*Cornus mas* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.* 2011, **39**(1), 255–259. ISSN 1842-4309.
- [36] ERSOY, N., Y. BAGCI a V. GOK. Antioxidant properties of 12 cornelian cherry fruit types (*Cornus mas* L.) selected from Turkey. *Scientific Research and Essays.* 2011, **6**(1), 98–102. ISSN 1992-2248.
- [37] KARADENIZ, T., H. DELİGÖZ, M.S. CORUMLU, M. SENYURT a T. BAK. Selection of native cornelian cherries grown in corum (Turkey). *Acta Horticulturae.* 2009, **825**, 83–88. ISSN 0567-7572.
- [38] KALYONCU, I.H., N. ERSOY, M. YILMAZ. Physico-chemical and nutritional properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Asian Journal of Chemistry.* 2009, **21**(8), 6555–6561. ISSN 0970-7077.
- [39] YALCINKAYA, E.: Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) research activities in Turkey. *Acta Horticulturae.* 2009, **818**, 61–64. ISSN 0567-7572.

- [40] ASLANTAS, R., L. PIRLAK a M. GÜLERYÜZ. The nutritional value of wild fruits from the North eastern Anatolia Region of Turkey. *Asian Journal of Chemistry*. 2007, **19**(4), 3072–3078. ISSN 0970-7077.
- [41] ERCISLI, S., E. ORHAN a A. ESITKEN. Genetic diversity in fruit quality traits in cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Asian Journal of Chemistry*. 2006, **18**(1), 650–654. ISSN 0970-7077.
- [42] GÜLCİN, I., S. BEYDEMİR, I.G. SAT a Ö. I. KUFREVIOĞLU. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria*. 2005, **34**(2), 193–202. ISSN 1588-2635.
- [43] DEMİR, F. a İ.H. KALYONCU. Some nutritional, pomological and physical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Food Engineering*. 2003, **60**(3), 335–341. ISSN 0260-8774.
- [44] COPUR, U., A. SOYLU, O. GÜRBÜZ, N. DEGIRMENCIÖGLU a Ü. ERTÜRK. Suitability of *cornus mas* (Cornelian cherry) genotypes and cultivars for fruit juice. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2003, **17**(1), 176–182. ISSN 1310-2818.
- [45] BIJELIĆ, S., B. GOLOŠIN, J.N. TODOROVIĆ a S. CEROVIĆ. Morphological characteristics of best Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes selected in Serbia. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2011, **58**(5), 689–695. ISSN 1573-5109.
- [46] BIJELIĆ, S.M., B.R. GOLOŠIN, J.I. NINIĆ TODOROVIĆ, S.B. CEROVIĆ a B. M. POPOVIĆ. Physicochemical fruit characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes from Serbia. *HortScience*. 2011, **46**(6), 849–853. ISSN 0018-5345.
- [47] OGNJANOV, V., S. CEROVIĆ, J. NINIĆ-TODOROVIĆ, V. JAĆIMOVIC, B. GOLOŠIN, S. BIJELIĆ a B. VRAEEVIĆ: Selection and utilization of table cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Horticulturae*. 2009, **814**, 121–124. ISSN 0567-7572.
- [48] PETRIDIS, A., M. KOUKOURIKOU, T. SOTIROPOULOS a D. STYLIANIDIS: Antioxidant activity of fruits produced in Northern Greece. *HortScience*. 2010, **45**(9), 1341–1344. ISSN 0018-5345.
- [49] DRAGOVIĆ-UZELAC, V., B. LEVAJ, D. BURSAĆ, S. PEDISIĆ, I. RADOJČIĆ a A. BIŠKO. Total phenolics and antioxidant capacity assays of selected fruits. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2007, **72**(4), 279–284. ISSN 1331-7776.
- [50] KROŚNIAK, M., M. GASTO, M. SZALKOWSKI, P. ZAGRODZKI a M. DERWISZ. Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juices as a source of minerals in human diet. *Journal of Toxicology and Environmental Health – Part A: Current Issues*. 2010, **73**(17–18), 1155–1158. ISSN 1087-2620.
- [51] BRINDZA, P., S.V. KLIMENKO, O. GRIGORIEVA, J. BRINDZA, D. TÓTH. Biological and commercial characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) population in the gemer region of Slovakia. *Acta Horiculturae*. 2009, **818**, 85–94. ISSN 0567-7572.
- [52] HASSANPOUR, H., H. YOUSEF, H. JAFAR a A. MOHAMMAD. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*. 2011, **129**(3), 459–463. ISSN 0304-4238.
- [53] CELEP, Engin, Ahmet AYDIN a Erdem YESILADA. A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2012, **50**(9),

3329-3335 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.fct.2012.06.010. ISSN 02786915. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691512004243>

- [54] TARKO, Tomasz, Aleksandra DUDA-CHODAK, Paweł SATORA, Paweł SROKA, Piotr POGON a Justyna MACHALICA. Chaenomeles japonica, Cornus mas, Morus nigra fruits characteristics and their processing potential. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2014, **51**(12), 3934-3941 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1007/s13197-013-0963-5. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-013-0963-5>
- [55] JAYAPRAKASAM, B., L.K. OLSON, R.E. SCHUTZKI, M.H. TAI a M.G. NAIR. Amelioration of Obesity and Glucose Intolerance in High-Fat-Fed C57BL/6 Mice by Anthocyanins and Ursolic Acid in Cornelian Cherry (Cornus mas). *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 2006, **54**(1), 243–248. ISSN 0021-8561.
- [56] SHAMSI, F., S. ASGARI, M. RAFIEIAN, S. KAZEMI a A. ADELNIA. Effects of cornus mas L. on blood glucose, insulin and histopathology of pancreas in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Isfahan Medical School*. 2011, **29**(147), 929–938. ISSN 1027-7595.
- [57] RAFIEIAN-KOPAEI, M., S. ASGARY, A. ADELNIA, M. SETORKI, M. KHAZAEI, S. KAZEMI a F. SHAMSI. The effects of cornelian cherry on atherosclerosis and atherogenic factors in hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Medicinal Plant Research*. 2011, **5**(13), 2670–2676. ISSN 1996-0875.
- [58] NAWIRSKA-OLSZANSKA, A., A. BIESIADA, A. SOKÓŁ-LETOWSKA a A.Z. KUCHARSKA. Content of bioactive compounds and antioxidant capacity of pumpkin puree enriched with Japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apples. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 2011, **10**(1), 51–60. ISSN 1898-9594.
- [59] CAKMAKCI, S. a M. TOSUN. Characteristics of mulberry pekmez with Cornelian cherry. *International Journal of Food Properties*. 2010, **13**(4), 713–722. ISSN 1532-2386.
- [60] CELIK, S., I. BAKRC, I. a I.G. SAT. Physicochemical and organoleptic properties of yogurt with cornelian cherry paste. *International Journal of Food Properties*. 2006, **9**(3), 401–408. ISSN 1532-2386.
- [61] KAYA, A. a O. AYDIN. Drying kinetics and sorption isotherms of cornelian cherry fruits. *Desalination and Water Treatment*. 2010, **22**(1–3), 30–39. ISSN 1944-3986.
- [62] HARICHOVÁ, J., E. KARELOVÁ, K. CHOVCOVÁ, T. STOJNEV, M. PROKŠOVÁ, J. BRINDZA, P. BRINDZA, D. TÓTH, D. PANGALLO a P. FERIANC. Comparison of culturable Gram-negative bacterial community structures in the rhizosphere of three fruit plants. *Biologia*. 2006, **61**(6), 663–670. ISSN 1336-9563.
- [63] KUCHARSKA, A.Z., K. KOWALCZYK, A. NAWIRSKA-OLSZANSKA a A. SOKÓŁ-LETOWSKA. Effect of chokeberry, strawberry, and raspberry added to cornelian cherry purée on its physical and chemical composition. *Food. Science Technology. Quality*. 2010, **17**(4), 95–106. ISSN 1425-6959.
- [64] RASPÉ, O., C. FINDLAY a A.-L. JACQUEMART. Sorbus aucuparia L. *Journal of Ecology*. 2000, **88**(5), 910–930. ISSN 1365-2745.
- [65] MIČURIN, I.V a V.N. STOLETOV. *Výsledky šedesáti leté práce*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Brázda, 1952. 392 s.

- [66] HUKKANEN, A.T., S.S. PÖLÖNEN, S.O. KÄRENLAMPI, H.I. KOKKO. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Sweet Rowanberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(1), 112–119, ISSN 0021-8561.
- [67] JEPSSON, N.: The Effect of Cultivar and cracking on Fruit quality in Black Chokeberry (Aronia melanocarpa) and Hybrids between Chokeberry and Rowan (Sorbus). *Gartenbauwissenschaft*. 2000, **65**(2), 93–98. ISSN 0016-478X.
- [68] Smart Garden Information System [online]. Litva: National Botanic Garden of Latvia, 2016 [cit. 2016-07-23]. Dostupné z: <http://database.smartgardens.eu/>
- [69] MLCEK, Jiri, Otakar ROP, Tünde JURIKOVA, Jiri SOCHOR, Miroslav FISERA, Stefan BALLA, Mojmir BARON a Jan HRABE. Bioactive compounds in sweet rowanberry fruits of interspecific Rowan crosses. *Open Life Sciences* [online]. 2014-01-1, **9**(11), - [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.2478/s11535-014-0336-8. ISSN 2391-5412. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/biol.2014.9.issue-11/s11535-014-0336-8/s11535-014-0336-8.xml>
- [70] KEUCK, G.: Carl Axel Magnus Lindman: Bilder ur Nordens Flora (1901-1905): Sorbus aucuparia 284.jpg Rosaceae. In: *Max-Planck-Gesellschaft* [online]. München: Max-Planck-Gesellschaft, © 2003-2012, 28. April 1999 [cit. 2012-06-21]. Dostupné z: <http://caliban.mpiipz.mpg.de/lindman/284.jpg>
- [71] GIL-IZQUIERDO, A. a A. MELLENTHIN. Identification and quantitation of flavonols in rowanberry (Sorbus aucuparia L.) juice. *European and Food Research Technology*, 2001, **213**(1), 12–17, ISSN 1438-2385.
- [72] HALLMANN, Ewelina, Emilia ORPEL a Ewa REMBIAŁKOWSKA. The Content of Biologically Active Compounds in Some Fruits from Natural State. *Vegetable Crops Research Bulletin* [online]. 2011-01-1, **75**(-1), - [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.2478/v10032-011-0020-8. ISSN 1898-7761.
- [73] DENEV, Petko, Maria KRATCHANOVA, Milan CIZ, et al. Biological activities of selected polyphenol-rich fruits related to immunity and gastrointestinal health. *Food Chemistry* [online]. 2014, **157**, 37-44 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.02.022. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614001964>
- [74] KULLING, S.E. a H.M. RAWEL. Chokeberry (Aronia melanocarpa) – A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects. *Planta Medica*. 2008, **74**(13), 1625–1634. ISSN 0032-0943.
- [75] WU, X., L. GU, R.L. PRIOR a S. MCKAY. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, **52**(26), 7846–7856. ISSN 0021-8561.
- [76] ESATBEYOGLU, T., S. HILLEBRAND a P. WINTERHALTER. Analysis of phenolic substances in chokeberry juices (Aronia melanocarpa) [Analytik von phenolischen Inhaltsstoffen in Aronia-säften (Aronia melanocarpa)]. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 2010, **106**(7), 374–382. ISSN 0343-6632
- [77] BIJAK, M., M. BOBROWSKI, M. BOROWIECKA, A. PODSEDEK, J. GOLAŃSKI, P. NOWAK. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds. *Fitoterapia*. 2011, **82**(6), 811–817. ISSN 0367-326X.

- [78] KAMPUSE, S., Z. KRUMA, K. KAMPUSS a I. KRASNOVA. Nutritional value of minor fruits in Latvia. *Acta Horticulturae*. 2010, **877**, 1221–1228. ISSN 0567-7572.
- [79] VISKELIS, P., M. RUBINSKIENE, R. BOBINAITE a E. DAMBRAUSKIENE. Bioactive compounds and antioxidant activity of small fruits in Lithuania. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2010, **8**(3–4), 259–263. ISSN 1459-0263.
- [80] JAKOBEK, L., M. SERUGA a P. KRIVAK. The influence of interactions among phenolic compounds on the antiradical activity of chokeberries (Aronia melanocarpa). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2011, **62**(4), 345–352. ISSN 1465-3478.
- [81] JEONG, J.-M.: Antioxidative and antiallergic effects of aronia (Aronia melanocarpa) extract. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2008, **37**(9), 1109–1113. ISSN 1226-3311.
- [82] VALCHEVA-KUZMANOVA, S., V. GADJEVA, D. IVANOVA a A. BELCHEVA. Antioxidant activity of Aronia melanocarpa fruit juice in vitro. *Acta Alimentaria*. 2007, **36**(4), 425–428. ISSN 1588-2535.
- [83] KOKOTKIEWICZ, A., Z. JAREMICZ, M. LUCZKIEWICZ. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*. 2010, **13**(2), 255–269. ISSN 1096-620X.
- [84] GEORGIEV, D. a D. LUDNEVA. Possibilities for production of nectars and purees from fruits of black chokeberry (Aronia Melanocarpa). *Acta Horticulturae*. 2009, **825**, 595–598. ISSN 0567-7572.
- [85] VEBERIC, R., J. JAKOPIC, F. STAMPAR a V. SCHMITZER. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*. 2009, **114**(2), 511–515. ISSN 0308-8146.
- [86] FINN, CH, E., A.L. THOMAS, P.L. BYERS a S. SERCE. Evaluation of American (*Sambucus canadensis*) and European (*S. nigra*) Elderberry Genotypes Grown in Diverse Environments and Implications for Cultivar Development. *HortScience*. 2008, **43**(5), 1385–1391. ISSN 0018-5345.
- [87] Www.biolib.de: A collection of historic and modern biology books. In: *Max-Planck-Gesellschaft* [online]. München: Max-Planck-Gesellschaft, © 2003-2012, [cit. 2012-06-21]. Dostupné z: [http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/losch/screen/IMG\\_3696.jpg](http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/losch/screen/IMG_3696.jpg)
- [88] KAACK, K., X.C. FRETTE, L.P. CHRISTENSEN, A.K. LANDBO a A.S. MEYER. Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for the preparation of juice. *European Food Research and Technology*. 2008, **226**(4), 843–855. ISSN 1438-2385.
- [89] VLACHOJANNIS, J.E., M. CAMERON a S. CHRUBASIK. A Systematic Review on the Sambuci fructus Effect and Efficacy Profiles. *Phytotherapy Research*. 2010, **24**(1), 1–8. ISSN 1099-1573.
- [90] DAVID A. BENDER. *Bender's dictionary of nutrition and food technology*. 8th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006. ISBN 0849376017.
- [91] VULIC, Jelena, Ljubo VRACAR a Zdravko SUMIC. Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit. *Acta Periodica Technologica*. 2008, **39**, 85–90. DOI: 10.2298/APT0839085V. ISSN 2406-095X. Dostupné také z: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=1450-71880839085V>

- [92] AKBULUT, M., S. ERCISLI a M. TOSUN. Physico-chemical characteristics of some wild grown European elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes. *Pharmacognosy Magazine*. 2009, **5**(20), 320–323. ISSN 0976-4062.
- [93] SENICA, Mateja, Franci STAMPAR, Robert VEBERIC a Maja MIKULIC-PETKOVSEK. Processed elderberry (*Sambucus nigra* L.) products: A beneficial or harmful food alternative? *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2016, **72**, 182-188 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.04.056. ISSN 00236438. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002364381630247X>
- [94] SIDOR, Andrzej a Anna GRAMZA-MICHAŁOWSKA. Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food – a review. *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, **18**, 941-958 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.jff.2014.07.012. ISSN 17564646. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464614002400>
- [95] DUYMUŞ, Hale Gamze, Fatih GÖGER a K. Hüsnü Can BAŞER. In vitro antioxidant properties and anthocyanin compositions of elderberry extracts. *Food Chemistry* [online]. 2014, **155**, 112-119 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.028. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614000491>
- [96] ROSCHEK, Bill, Ryan C. FINK, Matthew D. MCMICHAEL, Dan LI a Randall S. ALBERTE. Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection in vitro. *Phytochemistry* [online]. 2009, **70**(10), 1255-1261 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.06.003. ISSN 00319422. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942209002386>
- [97] OLEJNIK, Anna, Mariola OLKOWICZ, Katarzyna KOWALSKA, et al. Gastrointestinal digested *Sambucus nigra* L. fruit extract protects in vitro cultured human colon cells against oxidative stress. *Food Chemistry* [online]. 2016, **197**, 648-657 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.017. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461530162X>
- [98] EMA/HMPC/44208/2012. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Sambucus nigra* L., fructus. Based on Article 16d (1), Article 16f and Article 16h of Directive 2001/83/EC as amended (traditional use). Draft. [online] European Medicines Agency, 2013. [cit. 2016-07-23] Dostupné z: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_HMPC\\_assessment\\_report/2013/04/WC500142245.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2013/04/WC500142245.pdf)
- [99] KAACK, K. a T. AUSTED. Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods for Human Nutrition*. 1998, **52**(3), 187–198. ISSN 1573-9104.
- [100] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin* 2. 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5
- [101] DE LA ROSA, L.A., E. ALVAREZ-PARRILLA a G.A. GONZÁLEZ-AGUILAR. *Fruit and Vegetable Phytochemicals. Chemistry, Nutritional Value and Stability*. Ames: Blackwell Publishing, 2010. 367 s. ISBN 978-0-8138-0320-3.
- [102] BALL, G.F.M. *VITAMINS IN FOODS: Analysis, Bioavailability and Stability*. New York: CRC, Taylor & Francis, 2006. 785 s. ISBN 1-57444-804-8.

- [103] DEUTSCH, J. C. Dehydroascorbic acid. *Journal of chromatography A*. 2000, **881**(1–2), 299–307, ISSN 0021-9673.
- [104] COULTRATE, T.P. *Food. The Chemistry of its components*, 4th ed., Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2002, 448 s., ISBN 0-85404-615-1.
- [105] FENNEMA, O. R. *Food chemistry*. 3. vyd. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. 1069 s. ISBN 0-8247-9691-8.
- [106] EITENMILLER, R. R. a W.O. LANDEN. *Vitamin analysis for the health and food sciences*. New York: CRC Press, 1998, s. 505. ISBN 978-1-4200-5016-5.
- [107] HENRY, C. J. K. a C. CHAPMAN. *Nutrition Handbook for Food Processors*. Woodhead Publishing, 2002. 416 p. ISBN 1-59124-430-7. [cit. 26. 5. 2012] Dostupný z: <http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=651&VerticalID=0>
- [108] NOVÁKOVÁ, L., P. SOLICH a D. SOLICOVÁ. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry*. 2008, **27**(10), 942–958. ISSN 0165-9936.
- [109] TSUHAKO, M., CH. OYAMA, T. MATSUO, I. MOTOOKA a M. KOBAYASHI. Analysis of Metaphosphoric Acid for Ascorbic Acid Stabilizer and Its Hydrolytic Degradation. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 1978, **98**(10), 1349–1355. ISSN 1347-5231.
- [110] LYMAN, C.M., M.O. SCHULTZE, C.G. KING. The effect of metaphosphoric acid and some other inorganic acids on the catalytic oxidation of ascorbic acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1937, **118**, 757–764. ISSN 1083-351X.
- [111] TIITINEN, K.M., B. YANG, G.G. HARALDSSON, S. JONSDOTTIR a H. KALLIO. Fast Analysis of Sugars, Fruit Acids, and Vitamin C in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(7), 2508–2513. ISSN 0021-8561.
- [112] WALKER, P.G., S.L. GORDON, R.M. BRENNAN a R.D. HANCOCK. A High-throughput Monolithic HPLC Method for Rapid Vitamin C Phenotyping of Berry Fruit. *Phytochemical Analysis*. 2006, **17**(5), 284–290. ISSN 1099-1565.
- [113] HERNÁNDEZ, Y., M.G. LOBO a M. GONZÁLEZ. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*. 2006, **96**(4), 654–664, ISSN 0308-8146.
- [114] NOJAVAN, S., F. KHALILIAN, F.M. KIAIE, A. RAHIMI, A. ARABANIAN a S. CHALAVI. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008, **21**(4), 300–305. ISSN 0889-1575.
- [115] ODRIozOLA-SERRANO, I., T. HERNÁNDEZ-JOVER a O. MARTÍN-BELLOSO. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*. 2007, **105**(3), 1151–1158. ISSN 0308-8146.
- [116] WECHTERSBAKH, L. a B. CIGIĆ. Reduction of dehydroascorbic acid at low pH. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2007, **70**(5), 767–772. ISSN 0165-022X.
- [117] LYKKESFELDT, J.: Determination of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid in Biological Samples by High-Performance Liquid Chromatography Using Subtraction

Methods: Reliable Reduction with Tris[2-carboxyethyl]phosphine Hydrochloride. *Analytical Biochemistry*. 2000, **282**(1), 89–93. ISSN 0003-2697.

- [118] ČSN ISO 6557/2. *Ovoce, zelenina a výrobky z nich - Stanovení obsahu kyseliny askorbové: Část 2: Běžné metody*. Praha: Český normalizační institut, 1995.
- [119] NOVÁKOVÁ, L., D. SOLICHOVÁ a P. SOLICH. Hydrophilic interaction liquid chromatography – charged aerosol detection as a straightforward solution for simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid. *Journal of Chromatography A*. 2009, **1216**(21), 4574–4581. ISSN 0021-9673.
- [120] HARRIS, L.J., L.W. MAPSON, Y.L. WANG. Vitamin Methods: A Simple Potentiometric Method for Determining Ascorbic Acid, suitable for use with Coloured Extracts. *Biochemical Journal*. 1942, **36**(1–2), 183–195. ISSN 0264-6021.
- [121] ROBARDS, K. a M. ANTOLOVICH. Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids. A Review. *Analyst*. 1997, **122**(2), 11R–34R. ISSN 0003-2654.
- [122] IGNAT, I., I. VOLF a V.I. POPA. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 2011, **126**(4), 1821–1835. ISSN 0308-8146.
- [123] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin 2, 3.* vyd., Tábor: Ossis, 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [124] TOMKO, J. a kol.: *Farmakognózia*. 2. vyd. Martin: Vydavateľstvo Osveta, 1999. 424 s. ISBN 80-8063-014-3.
- [125] LA CASA, C., I. VILLEGAS, C. ALARCÓN DE LA LASTRA, V. MOTILVA a M.J. MARTÍN CALERO. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000, **71**(1–2), 45–53. ISSN 0378-8741.
- [126] SINGLETON, V.L., R. ORTHOFER a R.M. LAMUELA-RAVENTÓS. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 1999, **299**, 152–178. ISSN 0076-6879.
- [127] AINSWORTH, E.A. a K.M. GILLESPIE. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Golin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*. 2007, **2**(4), 875–877. ISSN 1754-2189.
- [128] BENVENUTI, S., F. PELLATI, M. MELEGARI a D. BERTELLI. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*. 2004, **69**(3), FCT164–FCT169. ISSN 1750-3841.
- [129] WROLSTAD, R.E., R.W. DURST a J. LEE. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology*. 2005, **16**(9), 423–428. ISSN 0924-2244.
- [130] WELCHA, C.R., Q. WUB a J.E. SIMONB. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. *Current Analytical Chemistry*. 2008, **4**(2), 74–101. ISSN 1573-4110.
- [131] JAKOBEK, L., M. SERUGA, M. MEDVIDOVIC-KOSANOVIC a I. NOVAK. Antioxidant activity and Polyphenols of Aronia in comparison to other Berry Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2007, **72**(4), 301–306. ISSN 1331-7776.

- [132] ZENG, H., Y. WANG, X. LIU, J. KONG a C. NIE. Preparation of molecular imprinted polymers using bi-functional monomer and bi-crosslinker for solid-phase extraction of rutin. *Talanta*. 2012, **93**, 172–181. ISSN 0039-9140.
- [133] MOLNÁR-PERL, I. a ZS. FÜZFAI. Chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. *Journal of Chromatography A*. 2005, **1073**(1–2), 201–227. ISSN 0021-9673.
- [134] OSZMIAŃSKI, J. a A. WOJDYŁO. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. 2005, **221**(6), 809–813. ISSN 1438-2385.
- [135] GONZÁLEZ-MOLINA, E., D.A. MORENO a C. GARCÍA-VIGUERA. Aronia-Enriched Lemon Juice: A New Highly Antioxidant Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, **56**(23), 11327–11333. ISSN 0021-8561.
- [136] LAWLESS, H. T. a H. HEYMANN. *Sensory Evaluation of Food*. Berlin: Springer-Verlag, 2010. 596 s. ISBN 978-1-4419-6488-5.
- [137] STONE, H., R. BLEIBAUM a H. THOMAS. *Sensory Evaluation Practices, 4th Edition*. Academic Press, 2012. 448 s. ISBN 978-0-12-382086-0.
- [138] KAACK, K., L. P. CHRISTENSEN, M. HUGHES a R. EDER. The relationship between sensory quality and volatile compounds in raw juice processed from elderberries (*Sambucus nigra* L.). *European Food Research and Technology* [online]. 2005, **221**(3-4), 244-254 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1007/s00217-005-1141-4. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-005-1141-4>
- [139] KAACK, K. Aroma composition and sensory quality of fruit juices processed from cultivars of elderberry (*Sambucus nigra* L.). *European Food Research and Technology* [online]. 2008, **227**(1), 45-56 [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1007/s00217-007-0691-z. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-007-0691-z>
- [140] AIJN – EUROPEAN FRUIT JUICE ASSOCIATION. *A.I.J.N.* [online]. Brussels, June 2012 [cit. 2012-07-11]. Dostupné z: <http://www.aijn.org/>
- [141] Česká Republika. Zákon č. 139/2014 Sb., kterým se mění zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů. [online] In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 2014, č. 59, [cit. 2016-08-19]. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/ws\\_content?contentKind=regulation&section=1&id=82359&name=139/2014](http://eagri.cz/public/web/ws_content?contentKind=regulation&section=1&id=82359&name=139/2014).
- [142] Česká Republika. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 45/2000 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí. [online] In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 2000, č. 16. [cit. 2016-08-19]. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe\\_puvodni-zneni\\_vyhlaska-2000-45-potraviny.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2000-45-potraviny.html)
- [143] DRDÁK, M.: *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. Bratislava: Alfa, 1989. 304 s. ISBN 80-05-00121-5

- [144] DRDÁK, M., J. STUDNICKÝ, E. MÓROVÁ a J. KAROVIČOVÁ. *Základy potravinářských technológií*. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 1996. 512 s. ISBN 80-967064-1-1.
- [145] DE BAETS, S., E.J. VANDAMME a A. STEINBÜCHEL. *Biopolymers: Polysaccharides II*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. 638 s. ISBN 3-527-30227-1.
- [146] Evropská Unie. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004 Text s významem pro EHP. In: *EUR-Lex* [právní informační systém]. Úřad pro publikace Evropské unie [cit. 23. 7. 2016]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=CS>
- [147] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin. In: *EUR-Lex* [právní informační systém]. Úřad pro publikace Evropské unie [cit. 23. 7. 2016]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1924&qid=1469300936830&from=CS>
- [148] BROTAN J., M. TRNKA, P. HLAVINKA, D. SEMERÁDOVÁ a Z. ŽALUD. *Klimatické a agroklimatické podmínky Žabčic v období 1961-2010: Climatic and agroclimatic conditions of Žabčice experimental field in the period 1961-2010*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. ISBN 978-80-7375-907-0.
- [149] Medelova univerzita v Brně: *Školní zemědělský podnik Žabčice: Lokalizace a přírodně-výrobní podmínky podniku*. [online] Mendelova univerzita v Brně, 2016 [cit. 2016-07-23] Dostupné z: <http://szp.mendelu.cz/o-nas/26430-poloha>
- [150] ŘEZNÍČEK, Vojtěch, L. DOKOUPIL. Druhové a odrůdové využití netradičních ovocných druhů. In: PAPOUŠKOVÁ, Ludmila (ed.). *Nové poznatky z výzkumu a využívání genetických zdrojů rostlin: sborník referátů ze semináře pořádaného 28. listopadu 2012 v Tetčicích*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2013, s. 40–53. ISBN 978-80-7427-135-9
- [151] BLAŽEK, J., R. VÁVRA. a I. PIŠTĚKOVÁ. Orchard performance of new plum cultivars on two rootstocks in a trial at Holovousy in 1998–2003. *Hort. Sci. (Prague)* [online]. 2004, 31(2): 37–43 [cit. 2016-07-20]. ISSN 1805-9333. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/51528.pdf>
- [152] Znovín Znojmo: *Pecet' Terroir Club – Hustopeče*. [online] Šatov: Znovín Znojmo, a.s. se sídlem v Šatově, 2016. [cit. 2016-07-23]. Dostupné z: <http://www.znovin.cz/pecet-terroir-club--hustopece>
- [153] ŘEZNÍČEK, Vojtěch (ed.). MOŽNOSTI PĚSTOVÁNÍ NETRADITIONÁLNÍCH DRUHŮ OVOCE V RŮZNÝCH KLIMATICKÝCH PODMÍNKÁCH ČR. In: SALAŠ, Petr. *Rostliny v podmírkách měnícího se klimatu: Lednice 20.- 21. 10. 2011, Úroda, vědecká příloha*. 2011, s. 519–527. ISSN 0139-6013.
- [154] SOCHOR, Jiří, Tunde JURIKOVA, Sezai ERCISLI, Jiří MLČEK, Mojmír BARON, Štefan BALLA, Suzan Ozturk YILMAZ a Thomas NECAS. Characterization of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) genotypes - genetic resources for food production in

Czech Republic. *Genetika*. 2014, **46**(3), 915–924. DOI: 10.2298/GENS1403915S.  
ISSN 0534-0012.

- [155] CETKOVSKÁ, J.: *Stanovení vitaminu C kapalinovou chromatografií v polodech jednotlivých odrůd méně známých druhů ovoce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 87 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
- [156] DONG, M.W.: *Modern HPLC for practicing scientists*. New Jersey: John Wiley and Son, 2006. 304 s. ISBN 978-0-471-72789-7.
- [157] SUCHÁNEK, M. a kol. *Kvalimetrie: 7. Validace analytických metod*. Praha: EURACHEM-ČR, 1997. 137 s. ISBN 80-901868-2-3
- [158] REICHENBÄCHER; M. a J.W. EINAX. *Challenges in Analytical Quality Assurance*. Berlin: Springer-Verlag, 2011. 356 s. ISBN 978-3-642-16594-8.
- [159] DEWANTO, V., X. WU, K.K. ADOM a R.H. LIU. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, **50**(10), 3010–3014. ISSN 0021-8561.
- [160] FRIEDRICH, J.E.: Titratable Activity of Acid Tastants. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley and Son, 2001. s. G2.1.1–G2.1.7. ISBN 0471142913.
- [161] GIUSTI, M.M. a R.E. WROLSTAD. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley and Son, 2001. s. F1.2.1–F1.2.13. ISBN 0471142913.
- [162] KAZAKEVICH, Y. a R. LOBRUTTO. *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. New Jersey: John Wiley and Son, 2007. 1140 s. ISBN 978-0-471-68162-5.
- [163] TIITINEN, Katja M., Baoru YANG, Gudmundur G. HARALDSSON, Sigríður JONSDOTTIR a Heikki P. KALLIO. Fast Analysis of Sugars, Fruit Acids, and Vitamin C in Sea Buckthorn ( Hippophaë rhamnoides L.) Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(7), 2508-2513. DOI: 10.1021/jf053177r. ISSN 0021-8561.
- [164] APAK, Reşat, Kubilay GÜCLÜ, Birsen DEMIRATA, Mustafa ÖZYÜREK, Saliha Esin ÇELİK, Burcu BEKTAŞOĞLU, K. Işıl BERKER a Dilek ÖZYURT. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules* [online]. 2007, **12**(7), 1496-1547 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.3390/12071496. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/12/7/1496/>
- [165] MENDELOVÁ, Andrea, Ľubomír MENDEL, Peter CZAKO a Ján MAREČEK. Evaluation of carotenoids, polyphenols content and antioxidant activity in the sea buckthorn fruit. *Potravinarstvo* [online]. 2016, 10(1), - [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.5219/551. ISSN 1337-0960. Dostupné z: <http://www.potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/551>
- [166] TANG, Xurong, Niina KÄLVIÄINEN a Hely TUORILA. Sensory and Hedonic Characteristics of Juice of Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) Origins and Hybrids. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2001, **34**(2), 102-110 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1006/fstl.2000.0751. ISSN 00236438. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643800907515>

- [167] MELOUN, M. a J. MILITKÝ. *Kompendium statistického zpracování dat: metody a řešené úlohy*. Vyd. 2., Praha: Academia, 2006. 984 s. ISBN 80-200-1396-2.
- [168] Český hydrometeorologický ústav: *Mapy charakteristik klimatu*. [online] Český hydrometeorologický ústav, 2016. [cit. 2016-07-31]. Dostupné z: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/mapy-charakteristik-klimatu>.
- [169] POLÁŠKOVÁ, A., J. SPILKOVÁ, A. MATĚJÍČEK a H. STUDENÁ. Factors affecting the actual yield of active substances from anthocyanin-rich berries / Faktory ovlivňující skutečný výtěžek aktivních látek z plodů bohatých na anthokyany. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae* [online]. 2015-01-1, **62**(s9), - [cit. 2016-07-20]. DOI: 10.1515/afpuc-2015-0006. ISSN 1338-6786. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/afpuc.2015.62.issue-s9/afpuc-2015-0006/afpuc-2015-0006.xml>
- [170] HASSANPOUR, H., Y. HAMIDOGHЛИ a H. SAMIZADEH. Some fruit characteristics of Iranian Cornelian cherries (*Cornus mas* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2012, **40**(1), 247–252. ISSN 0255-965X.
- [171] POPOVIĆ, Boris M., Dubravka ŠTAJNER, Kevrešan SLAVKO a Bijelić SANDRA. Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) – Comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chemistry* [online]. 2012, **134**(2), 734-741 [cit. 2016-08-19]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.170. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612003858>
- [172] ASLANTAS, Rafet, Lüfti PIRLAK a Muharrem GÜLERYÜZ. The Nutritional Value of Wild Fruits from the North Eastern Anatolia Region of Turkey. *Asian Journal of Chemistry*. 2007, **19**(4), 3072–3078. ISSN 0970-7077.
- [173] MIKULIC-PETKOVSEK, Maja, Valentina SCHMITZER, Ana SLATNAR, Franci STAMPAR a Robert VEBERIC. Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *Journal of Food Science* [online]. 2012, **77**(10), C1064-C1070 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x. ISSN 00221147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x>
- [174] KOLNIAK-OSTEK, Joanna. Chemical composition and antioxidant capacity of different anatomical parts of pear (*Pyrus communis* L.). *Food Chemistry* [online]. 2016, **203**, 491-497 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.02.103. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616302734>
- [175] GUNDOGDU, Muttalip, Koray OZRENK, Sezai ERCISLI, Tuncay KAN, Ossama KODAD a Attila HEGEDUS. Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (*Crataegus* spp.) from Turkey. *Biological Research* [online]. 2014, **47**(1), 21- [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1186/0717-6287-47-21. ISSN 0717-6287. Dostupné z: <http://www.biolres.com/content/47/1/21>
- [176] ZHENG, Wei a Shio Y. WANG. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2003, **51**(2), 502-509 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1021/jf020728u. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020728u>
- [177] BOLLING, Bradley W., Rod TAHERI, Ruisong PEI, Sarah KRANZ, Mo YU, Shelley N. DUROCHER a Mark H. BRAND. Harvest date affects aronia juice polyphenols,

- sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chemistry* [online]. 2015, **187**, 189-196 [cit. 2016-07-10]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.106. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615006524>
- [178] JAKOBEK, L., M. ŠERUGA, M. MEDVIDOVIĆ-KOSANOVIĆ a I. NOVAK. Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 2007, **103**(2), 58–64. ISSN 0012-0413.
- [179] SLATNAR A., J. JAKOPIC, F. STAMPAR, R. VEBERIC a P. JAMNIK. The Effect of Bioactive Compounds on In Vitro and In Vivo Antioxidant Activity of Different Berry Juices. *PLoS ONE*. 2012, **7**(10): e47880. DOI:10.1371/journal.pone.0047880.
- [180] BUSSO CASATI, C., R. BAEZA, A. CATALANO, P. LÓPEZ a M. C. ZAMORA. Thermal degradation kinetics of monomeric anthocyanins, colour changes and storage effect in elderberry juices. *Journal of Berry Research*. 2015, **5**(1), 29–39. DOI: 10.3233/JBR-150088. ISSN 1878-5123.
- [181] MATĚJÍČEK, Aleš. *Metodika pěstování kulturních odrůd bezu černého*. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2013. 50 s. ISBN 978-80-87030-27-1.
- [182] USDA: *National Nutrient Database for Standard Reference*. [online] United States Department of Agriculture, Agricultural Research Sevice, The National Agricultural Library, Release 28 slightly revised May, 2016, Software v.2.6.1 [cit 2016-08-01]. Dostupné z: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search>.
- [183] KAMMERER, D.R. Anthocyanins. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* [online]. Elsevier, 2016, s. 61 [cit. 2016-08-25]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100371-8.00003-8. ISBN 9780081003718. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081003718000038>

## **9 SEZNAM PŘÍLOH**

- Příloha 1 Dotazník pro senzorické hodnocení
- Příloha 2 Vzorové chromatogramy
- Příloha 3 Dílčí výsledky pro rakytník řešetlákový
- Příloha 4 Dílčí výsledky pro dřín obecný
- Příloha 5 Dílčí výsledky pro jeřáb ptačí
- Příloha 6 Dílčí výsledky pro aronii obecnou
- Příloha 7 Dílčí výsledky pro bez černý
- Příloha 8 Užitný vzor č. 23248
- Příloha 9 Užitný vzor č. 23809
- Příloha 10 Životopis
- Příloha 11 Publikace

## **10 PŘÍLOHY**

### **10.1 PŘÍLOHA 1 – DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ**

#### **DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ**

#### **KOMBINOVANÉ OVOCNÉ ŠTÁVY**

#### **(KOMBINACE BEZOVA ŠTÁVA – HROZNOVÁ ŠTÁVA)**

Vážení hodnotitelé,  
Zhodnoťte, prosím, předložené vzorky ovocné šťávy.  
Děkujeme vám za spolupráci.

Hodnotitel:

Datum:

Kouříte

Ano – Ne

Jak často pijete ovocné šťávy?

Denně	x
Více než 3x týdně	x
1x týdně	x
1x měsíčně	x
Občas	x
Nepiji	x

Ochutnali jste někdy hroznovou šťávu? Ano – Ne

Ochutnali jste někdy bezovou šťávu?

Z květů	Ano – Ne
Z plodů bezu	Ano – Ne

Domácí výrobky	Ano – Ne
Kupované výrobky	Ano – Ne

Znáte (a kupujete) nějaké výrobky z černého bezu, které se nacházejí na českém trhu?  
Jaké? (popř. kde jste na ně narazili):

## Senzorické hodnocení pomocí stupnice

(do tabulky zapište zvolený stupeň)

vzorek	Vzhled a barva	Konzistence	Chuť a vůně	Celkové hodnocení
A28				
B94				
C36				
D17				
E72				
F61				
G43				
H59				

### Vzhled a barva:

1. *Vynikající* – výrazná temně červená barva s tónem dohněda, charakteristická pro ovocnou šťávu z plodů černého bezu  
2. *Velmi dobrá* – sytě červená barva, méně výrazná než u stupně 1, mírně světlejší  
3. *Dobrá* – červená barva, více hnědavý nádech, světlejší,  
4. *Uspokojivá* – světle červenohnědá barva, méně výrazná, zředěnější  
5. *Neuspokojující* – značná odchylka od požadovaného zbarvení, barva světlá, málo výrazná, lehce zakalená  
6. *Nevyhovující* – barva je světle červenohnědá, nevýrazná, vodová, netypická, mírný zákal  
7. *Nepřijatelná* – barva netypická, silně zředěná, bez barvy, zakalená

### Konzistence

1. *Vynikající* – hustší (viskóznější), homogenní, mírná usazenina není na závadu  
2. *Velmi dobrá* – nepatrnná odchylka od stupně 1, hustota je menší, homogenní  
3. *Dobrá* – řídší, homogenní  
4. *Uspokojivá* – řídká  
5. *Neuspokojující* – řídká, příp. mírný výskyt sraženiny  
6. *Nevyhovující* – řídká, vodnatá, příp. patrná sraženina  
7. *Nepřijatelná* – řídká, vodnatá, nebo naopak příliš hustá, viskózní slizovitá s kousky sraženiny

### Chuť a vůně

1. *Vynikající* – harmonická, vyvážená, lahodná, mírně natrpklá, chut' a vůně po bezu i hroznové šťávě  
2. *Velmi dobrá* – nepatrnná odchylka od stupně 1, příjemná, harmonická chut' po obou složkách  
3. *Dobrá* – převládá chut' i vůně hroznové šťávy, avšak není nepříjemná  
4. *Uspokojivá* – jedna ze složek výrazněji zastiňuje chut' a vůni druhé  
5. *Neuspokojující* – chut' i vůně méně výrazná, příp. chut' kyselá, natrpklá, svíravá,  
6. *Nevyhovující* – nevyvážená chut', mírná pachut', příliš zředěná, vodnatá  
7. *Nepřijatelná* – nepřijatelná chut', nepříjemná pachut', chut' zkyslé ovocné šťávy

### **Celkové hodnocení - přijatelnost**

- |                          |   |
|--------------------------|---|
| 1. <i>Vynikající</i>     | – chuť a vůně musí mít hodnocení vynikající, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než velmi dobrá                  |
| 2. <i>Velmi dobrá</i>    | – chuť a vůně musí mít hodnocení ne horší než velmi dobrá, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než dobrá          |
| 3. <i>Dobrá</i>          | – chuť a vůně musí mít hodnocení ne horší než dobrá, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než uspokojivá           |
| 4. <i>Uspokojivá</i>     | – chut' a vůně musí mít hodnocení ne horší než uspokojivá, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než neuspokojující |
| 5. <i>Neuspokojující</i> | – ovocná šťáva hodnocená ve všech ukazatelích ne hůře než neuspokojující  |
| 6. <i>Nevyhovující</i>   | – ovocná šťáva hodnocená ve všech ukazatelích ne hůře než nevhovující   |
| 7. <i>Nepřijatelná</i>   | – ovocná šťáva, která je u jakéhokoliv ukazatele hodnocena jako naprosto nepřijatelná   |

### **Profilový test vybraných chutí**

Posuďte, do jaké míry uvedené dílčí chutě vytvářejí celkový dojem chutě.  
Harmonická (jsou cítit obě ovocné složky, žádná z nich výrazně nepřevládá).

Použijte stupnice	1 – neznatelná
	2 – velmi slabá
	3 – silnější
	4 – dosti silná
	5 – velmi silná

Označení vzorku	A28
-----------------	-----

Harmonická	1	2	3	4	5
Ovocná	1	2	3	4	5
Trpká	1	2	3	4	5
Kyselá	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Bezová	1	2	3	4	5
Hroznová	1	2	3	4	5
Jiná (uveďte jaká)	1	2	3	4	5

<i>Označení vzorku</i>	<i>B94</i>
Harmonická	1    2    3    4    5
Ovocná	1    2    3    4    5
Trpká	1    2    3    4    5
Kyselá	1    2    3    4    5
Sladká	1    2    3    4    5
Bezová	1    2    3    4    5
Hroznová	1    2    3    4    5
Jiná (uveďte jaká)	1    2    3    4    5
<i>Označení vzorku</i>	<i>C36</i>
Harmonická	1    2    3    4    5
Ovocná	1    2    3    4    5
Trpká	1    2    3    4    5
Kyselá	1    2    3    4    5
Sladká	1    2    3    4    5
Bezová	1    2    3    4    5
Hroznová	1    2    3    4    5
Jiná (uveďte jaká)	1    2    3    4    5
<i>Označení vzorku</i>	<i>D17</i>
Harmonická	1    2    3    4    5
Ovocná	1    2    3    4    5
Trpká	1    2    3    4    5
Kyselá	1    2    3    4    5
Sladká	1    2    3    4    5
Bezová	1    2    3    4    5
Hroznová	1    2    3    4    5
Jiná (uveďte jaká)	1    2    3    4    5

<i>Označení vzorku</i>	<i>E72</i>				
Harmonická	1	2	3	4	5
Ovocná	1	2	3	4	5
Trpká	1	2	3	4	5
Kyselá	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Bezová	1	2	3	4	5
Hroznová	1	2	3	4	5
Jiná (uveďte jaká)	1	2	3	4	5

<i>Označení vzorku</i>	<i>F61</i>				
Harmonická	1	2	3	4	5
Ovocná	1	2	3	4	5
Trpká	1	2	3	4	5
Kyselá	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Bezová	1	2	3	4	5
Hroznová	1	2	3	4	5
Jiná (uveďte jaká)	1	2	3	4	5

<i>Označení vzorku</i>	<i>G43</i>				
Harmonická	1	2	3	4	5
Ovocná	1	2	3	4	5
Trpká	1	2	3	4	5
Kyselá	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Bezová	1	2	3	4	5
Hroznová	1	2	3	4	5
Jiná (uveďte jaká)	1	2	3	4	5

*Označení vzorku*

*H59*

Harmonická	1	2	3	4	5
Ovocná	1	2	3	4	5
Trpká	1	2	3	4	5
Kyselá	1	2	3	4	5
Sladká	1	2	3	4	5
Bezová	1	2	3	4	5
Hroznová	1	2	3	4	5
Jiná (uveďte jaká)	1	2	3	4	5

**Pořadový test**

Sřaďte vzorky podle Vašich preferencí (1 – vzorek nejlepší, nejpřijatelnější → 8 – vzorek nejhorší, nepřijatelný). Dva a více vzorků nesmí mít stejně pořadí.

Číslo pořadí	Označení vzorku
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	

Mezi sousedními vzorky jsou rozdíly:

1. Žádné
2. Nepatrné
3. Velmi malé
4. Malé
5. Střední
6. Dosti zřetelné
7. Velmi nápadné

Mezi prvním a posledním vzorkem je rozdíl:

1. Žádný
2. Nepatrý
3. Velmi malý
4. Malý
5. Střední
6. Dosti zřetelný
7. Velmi nápadný

Vzorek, který jste označili jako nejlepší:

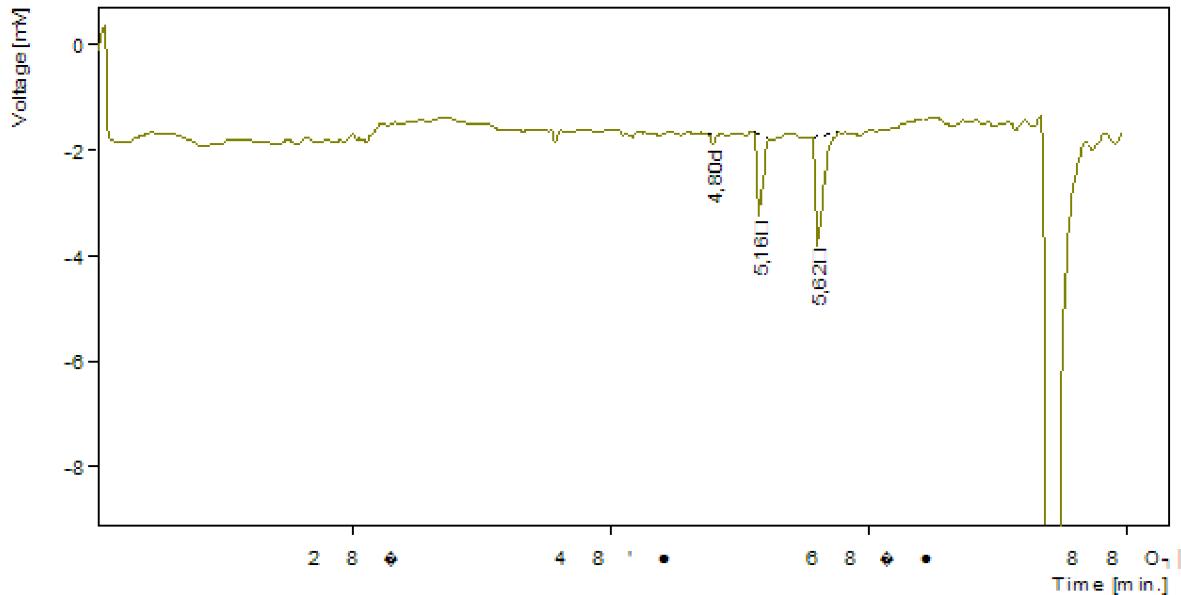
Byli byste ochotni si ho kupit? .....

Za jakou cenu? .....

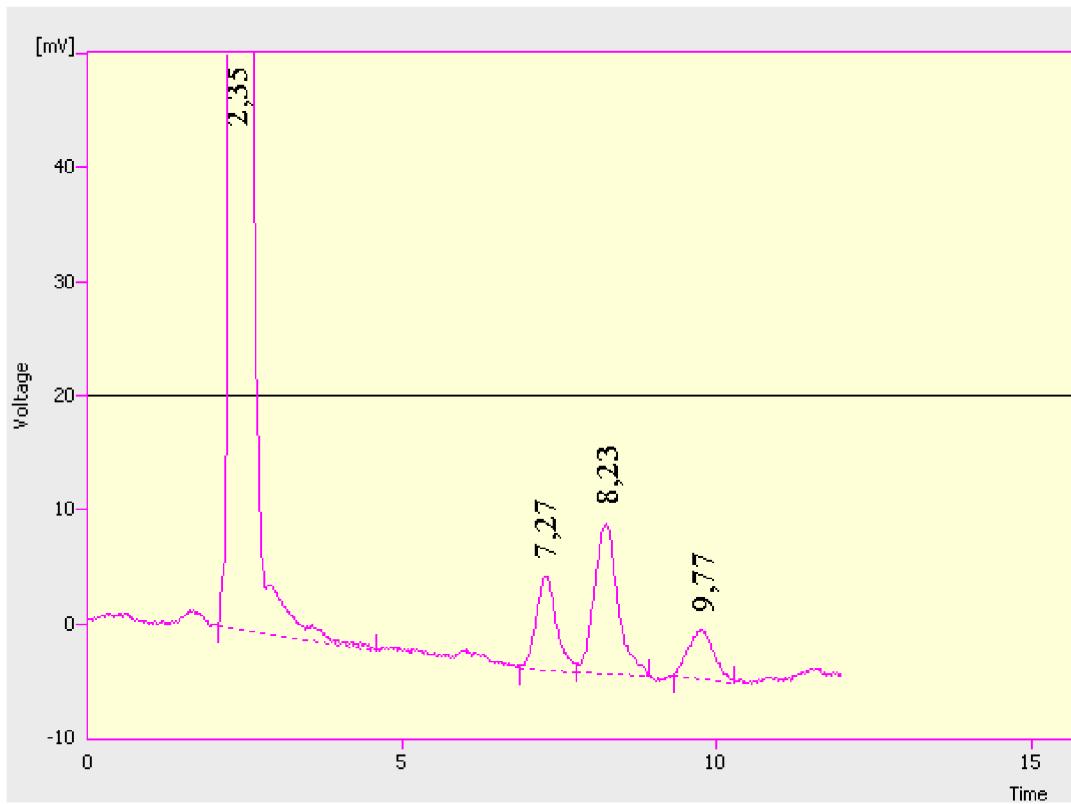
Pokud ne, tak proč?

Příp. návrhy na zlepšení: ...

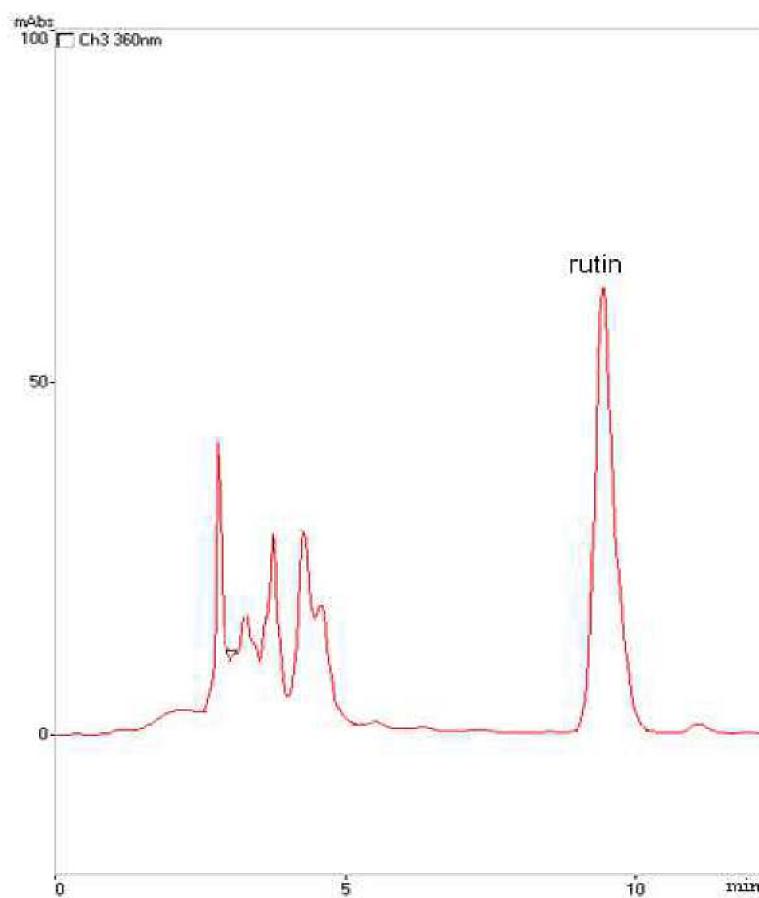
## 10.2 PŘÍLOHA 2 – VZOROVÉ CHROMATOGRAMY



Obrázek 65: Vzorových elektroforeogram analýzy organických kyselin v plodech rakytníku řešetlákového (kyselina citronová  $t_R = 4,8$  min, kyselina jablečná  $t_R = 5,2$  min, kyselina chinová  $t_R = 5,6$  min)



Obrázek 66: Vzorový chromatogram analýzy sacharidů (fruktosa –  $t_R = 7,27$ , glukosa –  $t_R = 8,23$ , sacharosa –  $t_R = 9,77$ ) v plodech jeřábu obecného, odrůda Titan



Obrázek 67: Vzorový chromatogram analýzy rutinu v odrůdě bezu černého Weihenstephan

### 10.3 PŘÍLOHA 3 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – RAKYTNÍK ŘEŠETLÁKOVÝ

Tabulka 83: Obsah sušiny v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového

Odrůda rakytníku	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 3)		
	sklizeň 2010	sklizeň 2011	sklizeň 2012
Aromat	17,20 ± 0,17	18,59 ± 0,32	-
Botanický	15,56 ± 0,32	18,99 ± 0,03	-
Buchlovický	17,27 ± 0,10	17,60 ± 0,30	21,01 ± 0,49
Leicora	16,98 ± 0,34	16,41 ± 0,22	20,05 ± 0,23
Ljubitelna	14,47 ± 0,74	16,40 ± 0,12	-
Trofimovský	15,17 ± 0,33	15,27 ± 0,17	-
Vitamínová	16,88 ± 0,32	17,56 ± 0,38	22,61 ± 0,39

Tabulka 84: Obsah titrovatelných kyselin v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového

Odrůda rakytníku	obsah titrovatelných kyselin (g·kg <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 3)		
	sklizeň 2010	sklizeň 2011	sklizeň 2012
Aromat	18,37 ± 0,05	13,16 ± 0,08	-
Botanický	20,53 ± 0,11	12,99 ± 0,15	-
Buchlovický	26,29 ± 0,03	18,47 ± 0,08	21,70 ± 0,11
Leicora	31,85 ± 0,11	24,89 ± 0,14	24,04 ± 0,11
Ljubitelna	23,52 ± 0,06	18,89 ± 0,07	-
Trofimovský	19,08 ± 0,05	16,37 ± 0,13	-
Vitamínová	26,61 ± 0,05	18,73 ± 0,75	14,20 ± 0,28

Tabulka 85: Obsah vitaminu C v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového

Odrůda rakytníku	obsah vitaminu C (mg·100g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 3)		
	sklizeň 2010	sklizeň 2011	sklizeň 2012
Aromat	133,67 ± 6,56	67,61 ± 12,12	-
Botanický	76,34 ± 0,82	57,07 ± 10,69	-
Buchlovický	185,23 ± 4,63	108,96 ± 10,99	112,43 ± 3,33
Leicora	310,15 ± 26,41	274,99 ± 4,13	279,37 ± 14,75
Ljubitelna	71,56 ± 3,91	39,39 ± 2,22	-
Trofimovský	74,76 ± 1,52	44,31 ± 8,17	-
Vitamínová	220,23 ± 10,59	110,88 ± 14,78	249,50 ± 6,40

Tabulka 86: Obsah celkových polyfenolů v plodech jednotlivých odrůd rakytníku řešetlákového

Odrůda rakytníku	obsah celkových polyfenolů (mg·100g <sup>-1</sup> ) ± IS (95%, n = 3)		
	sklizeň 2010	sklizeň 2011	sklizeň 2012
Aromat	220,75 ± 5,72	177,80 ± 6,16	-
Botanický	126,15 ± 3,16	155,54 ± 3,30	-
Buchlovický	217,28 ± 4,93	254,65 ± 1,69	254,05 ± 6,15
Leicora	253,37 ± 4,67	298,29 ± 4,88	341,96 ± 16,75
Ljubitelna	106,09 ± 3,84	105,72 ± 1,10	-
Trofimovský	102,71 ± 2,17	105,94 ± 1,11	-
Vitamínová	253,37 ± 4,67	197,27 ± 4,91	298,65 ± 2,89

## 10.4 PŘÍLOHA 4 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – DŘÍN OBECNÝ

Tabulka 87: Obsah sušiny v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného

Odrůda dřínu	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Elegantní	-	29,70 ± 0,85	20,42 ± 2,51
Fruchtal	17,78 ± 1,08	19,01 ± 2,22	19,86 ± 1,02
Jolico	15,24 ± 0,69	25,15 ± 0,41	23,50 ± 1,50
Lukjanovský	19,53 ± 0,46	27,29 ± 0,68	23,09 ± 1,72
Olomoucký	18,37 ± 0,90	-	23,64 ± 0,96
Ruzyňský	16,02 ± 1,06	19,12 ± 0,57	-
Sokolnický	18,86 ± 0,01*	21,71 ± 0,71	25,79 ± 1,48
Tišnovský	19,77 ± 0,92	22,69 ± 0,94	-
Vydubecký	21,09 ± 0,91*	27,07 ± 0,54	24,71 ± 1,75
Vyšegorodský	-	28,07 ± 0,78	26,43 ± 0,91

Tabulka 88: Obsah titrovatelných kyselin v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného

Odrůda dřínu	obsah titrovatelných kyselin (g.kg⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Elegantní	-	10,29 ± 0,00	20,29 ± 0,20
Fruchtal	28,78 ± 0,09	17,30 ± 0,00	19,47 ± 0,12
Jolico	23,60 ± 0,00	14,32 ± 0,06	20,93 ± 0,31
Lukjanovský	21,58 ± 0,10	15,27 ± 0,06	22,64 ± 0,04
Olomoucký	26,53 ± 0,09	-	17,87 ± 0,04
Ruzyňský	23,11 ± 0,01	18,45 ± 0,08	-
Sokolnický	22,38 ± 0,05	10,61 ± 0,05	17,93 ± 0,06
Tišnovský	24,61 ± 0,03	15,67 ± 0,15	-
Vydubecký	24,84 ± 0,05	12,23 ± 0,13	19,38 ± 0,12
Vyšegorodský	-	11,78 ± 0,06	25,83 ± 0,02

Tabulka 89: Obsah vitaminu C v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného

Odrůda dřínu	obsah vitaminu C (mg.100g⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Elegantní	-	7,95 ± 2,31	23,35 ± 2,99
Fruchtal	36,48 ± 2,74	31,97 ± 6,68	35,04 ± 2,71
Jolico	23,26 ± 1,53	34,81 ± 2,70	48,69 ± 3,09
Lukjanovský	21,35 ± 4,83	15,68 ± 1,20	20,48 ± 2,50
Olomoucký	33,52 ± 3,34	-	30,09 ± 6,88
Ruzyňský	34,80 ± 1,41	45,21 ± 1,21	-
Sokolnický	38,99 ± 2,01	38,69 ± 1,79	24,75 ± 0,59*
Tišnovský	24,89 ± 2,11	29,64 ± 0,18*	-
Vydubecký	19,86 ± 1,96	18,58 ± 1,41	24,85 ± 2,41
Vyšegorodský	-	4,74 ± 1,21	20,96 ± 3,92

*Tabulka 90: Obsah celkových polyfenolů v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného*

Odrůda dřínu	obsah celkových polyfenolů ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Elegantní	-	99,76 $\pm$ 2,28	143,54 $\pm$ 0,28
Fruchtal	203,81 $\pm$ 5,11	171,31 $\pm$ 4,33	178,57 $\pm$ 3,99
Jolico	163,62 $\pm$ 1,96	187,07 $\pm$ 2,52	166,97 $\pm$ 1,65
Lukjanovský	189,50 $\pm$ 3,52	149,24 $\pm$ 1,87	136,50 $\pm$ 1,21
Olomoucký	118,24 $\pm$ 4,29	-	141,20 $\pm$ 2,80
Ruzyňský	192,21 $\pm$ 7,32	191,39 $\pm$ 4,18	-
Sokolnický	128,22 $\pm$ 8,10	81,96 $\pm$ 1,88	172,07 $\pm$ 8,72
Tišnovský	168,00 $\pm$ 6,47	127,24 $\pm$ 2,35	-
Vydubecký	225,13 $\pm$ 2,94	110,11 $\pm$ 2,58	152,81 $\pm$ 6,21
Vyšegorodský	-	136,92 $\pm$ 5,67	163,50 $\pm$ 1,72

*Tabulka 91: Obsah celkových anthokyanů v plodech jednotlivých odrůd dřínu obecného*

Odrůda dřínu	obsah celkových anthokyanů ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) $\pm$ IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Elegantní	-	7,899 $\pm$ 1,278	6,726 $\pm$ 0,088
Fruchtal	11,556 $\pm$ 0,150	5,528 $\pm$ 0,426	9,302 $\pm$ 0,143
Jolico	5,524 $\pm$ 0,338	8,014 $\pm$ 0,099	11,221 $\pm$ 0,052
Lukjanovský	17,850 $\pm$ 0,372	7,090 $\pm$ 0,162	12,392 $\pm$ 0,160
Olomoucký	4,811 $\pm$ 0,077	-	11,267 $\pm$ 0,183
Ruzyňský	10,077 $\pm$ 0,045	16,573 $\pm$ 0,211	-
Sokolnický	6,335 $\pm$ 0,231	6,546 $\pm$ 1,068	10,050 $\pm$ 0,053
Tišnovský	8,247 $\pm$ 0,087	10,185 $\pm$ 0,201*	-
Vydubecký	4,646 $\pm$ 0,043	7,008 $\pm$ 1,215	9,288 $\pm$ 0,456
Vyšegorodský	-	6,749 $\pm$ 0,604	8,141 $\pm$ 0,195

## 10.5 PŘÍLOHA 5 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – JEŘÁB PTAČÍ

Tabulka 92: Obsah sušiny v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího

Odrůda jeřábu	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Alaja Krupnaja	-	23,76 ± 0,79	29,04 ± 1,21
Burka	20,64 ± 0,79	22,03 ± 0,82	27,47 ± 0,66
Businka	-	21,00 ± 0,52	24,90 ± 0,31
Discolor	17,14 ± 0,80	26,52 ± 0,86	27,49 ± 1,02
Granatina	18,17 ± 1,24	19,55 ± 0,30	24,02 ± 0,32
Granatnaja	-	26,00 ± 0,43	26,65 ± 2,05
Koncentra	25,79 ± 1,63	29,05 ± 0,45	35,57 ± 0,67
Krasavice	28,13 ± 0,84	26,81 ± 1,76	51,13 ± 2,59
Lionora Springer	25,09 ± 0,45	-	24,90 ± 0,78
Sorbinka	-	23,84 ± 0,86	29,13 ± 1,70
Titan	20,81 ± 0,86	23,63 ± 1,04	27,49 ± 0,43
Velfed	18,21 ± 1,82	23,99 ± 0,92	26,88 ± 1,03

Tabulka 93: Obsah titrovatelných kyselin v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího

Odrůda jeřábu	obsah titrovatelných kyselin (g.kg-1) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Alaja Krupnaja	-	12,68 ± 0,04	16,79 ± 0,11
Burka	11,71 ± 0,10	8,27 ± 0,04	10,77 ± 0,00
Businka	-	9,47 ± 0,06	10,72 ± 0,06
Discolor	17,16 ± 0,09	15,49 ± 0,08	14,15 ± 0,11
Granatina	9,00 ± 0,04	8,94 ± 0,02	9,17 ± 0,00
Granatnaja	-	9,16 ± 0,05	10,69 ± 0,06
Koncentra	20,81 ± 0,05	19,96 ± 0,02	21,50 ± 0,06
Krasavice	15,25 ± 0,05	12,11 ± 0,04	15,07 ± 0,06
Lionora Springer	15,14 ± 0,10	-	15,83 ± 0,12
Sorbinka	-	20,13 ± 0,04	23,58 ± 0,25
Titan	10,36 ± 0,05	9,31 ± 0,00	11,42 ± 0,00
Velfed	14,13 ± 0,05	10,67 ± 0,04	14,72 ± 0,00

*Tabulka 94: Obsah vitaminu C v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího*

Odrůda jeřábu	obsah vitaminu C ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Alaja Krupnaja	-	106,33 ± 1,25	64,11 ± 2,44
Burka	19,49 ± 0,95	11,53 ± 1,84	4,90 ± 0,46
Businka	-	8,11 ± 0,61	2,97 ± 0,50
Discolor	13,69 ± 3,34	9,02 ± 0,96	15,77 ± 0,26
Granatina	14,30 ± 3,01	7,57 ± 1,01	3,18 ± 0,24
Granatnaja	-	10,14 ± 1,24	4,66 ± 0,68
Koncentra	46,00 ± 0,79	100,64 ± 6,29	60,49 ± 3,72
Krasavice	52,44 ± 0,26	40,46 ± 7,97	29,56 ± 0,15
Lionora Springer	20,20 ± 1,19	-	20,08 ± 2,02
Sorbinka	-	83,65 ± 5,96	84,36 ± 2,48
Titan	16,93 ± 0,56	3,40 ± 0,17	4,48 ± 0,29
Velfed	18,80 ± 3,05	9,97 ± 1,18	15,86 ± 0,26

*Tabulka 95: Obsah celkových polyfenolů v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího*

Odrůda jeřábu	obsah celkových polyfenolů ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Alaja Krupnaja	-	352,50 ± 2,77	258,29 ± 8,93
Burka	273,18 ± 3,28	281,61 ± 4,97	174,96 ± 8,96
Businka	-	173,81 ± 8,63	197,77 ± 6,21
Discolor	136,51 ± 2,51	185,08 ± 0,97	168,43 ± 5,28
Granatina	294,52 ± 5,48	278,16 ± 3,27	210,08 ± 4,91
Granatnaja	-	266,32 ± 21,35	213,17 ± 8,53
Koncentra	230,07 ± 5,37	341,18 ± 11,60	263,91 ± 9,53
Krasavice	233,43 ± 5,87	238,72 ± 12,35	252,91 ± 8,53
Lionora Springer	275,44 ± 9,32	-	303,57 ± 4,32
Sorbinka	-	260,62 ± 6,03	194,33 ± 3,40
Titan	255,41 ± 3,03	227,69 ± 5,93	216,94 ± 14,65
Velfed	172,74 ± 2,47	159,33 ± 6,58	138,17 ± 1,53

*Tabulka 96: Obsah celkových anthokyanů v plodech jednotlivých odrůd jeřábu ptačího*

Odrůda jeřábu	obsah celkových anthokyanů ( $\text{mg.100g}^{-1}$ ) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Alaja Krupnaja	-	1,126 ± 0,116	0,295 ± 0,067
Burka	24,540 ± 0,972	25,030 ± 0,200	20,706 ± 0,178
Businka	-	30,676 ± 0,590	23,371 ± 0,411
Discolor	3,173 ± 0,235	4,102 ± 0,115	2,914 ± 0,181
Granatina	27,878 ± 0,369	26,826 ± 0,116	21,157 ± 0,271
Granatnaja	-	31,173 ± 0,117	26,685 ± 0,682
Koncentra	4,404 ± 0,266	4,314 ± 0,066	4,353 ± 0,115
Krasavice	0,650 ± 0,283	0,710 ± 0,134	0,569 ± 0,263
Lionora Springer	0,328 ± 0,066	-	0,467 ± 0,136
Sorbinka	-	1,439 ± 0,066	1,855 ± 0,067
Titan	23,060 ± 0,687	25,568 ± 0,177	22,295 ± 0,133
Velfed	3,621 ± 0,231	4,017 ± 0,201	2,716 ± 0,180

## 10.6 PŘÍLOHA 6 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – ARONIE ČERNÁ

Tabulka 97: Obsah sušiny v plodech jednotlivých odrůd aronie černé

Odrůda jeřábu	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Nero	19,14 ± 0,27	25,18 ± 1,01	30,07 ± 0,22
Viking	20,51 ± 0,37	-	26,73 ± 1,15

Tabulka 98: Obsah titrovatelných kyselin v plodech jednotlivých odrůd aronie černé

Odrůda jeřábu	obsah titrovatelných kyselin (g.kg⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Nero	9,39 ± 0,05	10,15 ± 0,06	7,39 ± 0,05
Viking	9,23 ± 0,02	-	9,87 ± 0,00

Tabulka 99: Obsah vitaminu C v plodech jednotlivých odrůd aronie černé

Odrůda jeřábu	obsah vitaminu C (mg.100g⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Nero	6,85 ± 1,76	4,92 ± 0,18	4,07 ± 0,05
Viking	7,06 ± 1,19	-	3,59 ± 0,08

Tabulka 100: Obsah celkových polyfenolů v plodech jednotlivých odrůd aronie černé

Odrůda jeřábu	obsah celkových polyfenolů (mg.100g⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Nero	721,28 ± 9,21	543,29 ± 13,05	604,90 ± 53,81
Viking	595,90 ± 12,75	-	745,27 ± 41,06

Tabulka 101: Obsah celkových anthokyanů v plodech jednotlivých odrůd aronie černé

Odrůda jeřábu	obsah celkových anthokyanů (mg.100g⁻¹) ± IS (95%, n = 3)		
	2010	2011	2012
Nero	206,105 ± 4,120	172,446 ± 1,205	169,535 ± 0,578
Viking	211,993 ± 1,783	-	199,495 ± 5,439

## 10.7 PŘÍLOHA 7 – DÍLČÍ VÝSLEDKY – BEZ ČERNÝ

Tabulka 102: Obsah sušiny v plodech jednotlivých odrůd bezu černého

Odrůda bezu	obsah sušiny (%) ± IS (95%, n = 3)	
	2010	2011
Albida	14,42 ± 0,22	17,37 ± 0,68
Allesö	15,57 ± 0,30	19,16 ± 0,18
Aurea	13,12 ± 0,42	16,43 ± 0,21
Bohatka	15,67 ± 0,13	-
Dana	15,76 ± 0,25	18,40 ± 0,24
Haschberg	16,45 ± 0,21	20,05 ± 0,57
Heidegg 13	15,89 ± 0,28	18,87 ± 0,24
Körsör	16,60 ± 0,24	18,86 ± 0,43
Mammut	15,09 ± 0,47	19,09 ± 0,42
Pergarten	16,65 ± 0,29	19,27 ± 0,50
Riese aus Vossloch	15,54 ± 0,29	18,55 ± 0,74
Sambo	16,87 ± 0,24	20,17 ± 0,40
Sambu	14,91 ± 0,41	15,81 ± 0,19
Samdal	18,73 ± 0,10	19,24 ± 0,66
Sampo	15,53 ± 0,28	15,32 ± 0,21
Samyl	15,32 ± 0,21	16,63 ± 0,34
Weihenstephan	18,08 ± 0,23	20,52 ± 0,50

Tabulka 103: Obsah titrovatelných kyselin v plodech jednotlivých odrůd bezu černého

Odrůda bezu	obsah titrovatelných kyselin (g.kg <sup>-1</sup> ovoce) ± IS (95%, n = 3)	
	2010	2011
Albida	8,69 ± 0,02	6,48 ± 0,15
Allesö	9,98 ± 0,00	8,27 ± 0,02
Aurea	15,24 ± 0,03	12,11 ± 0,17
Bohatka	7,75 ± 0,02	-
Dana	7,30 ± 0,03	7,08 ± 0,03
Haschberg	11,77 ± 0,03	13,34 ± 0,04
Heidegg 13	13,26 ± 0,18	12,21 ± 0,03
Körsör	7,82 ± 0,07	8,96 ± 0,00
Mammut	10,04 ± 0,02	12,14 ± 0,17
Pergarten	13,32 ± 0,03	10,40 ± 0,02
Riese aus Vossloch	7,69 ± 0,02	6,33 ± 0,05
Sambo	10,92 ± 0,00	10,87 ± 0,02
Sambu	10,70 ± 0,02	10,02 ± 0,02
Samdal	9,01 ± 0,02	7,89 ± 0,03
Sampo	10,36 ± 0,03	11,77 ± 0,03
Samyl	12,06 ± 0,04	12,81 ± 0,02
Weihenstephan	11,36 ± 0,02	9,59 ± 0,03

*Tabulka 104: Obsah vitaminu C v plodech jednotlivých odrůd bezu černého*

Odrůda bezu	obsah vitaminu C ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ovoce) $\pm$ IS (95%, n = 3)	
	2010	2011
Albida	10,54 $\pm$ 0,80	7,34 $\pm$ 0,49
Allesö	7,51 $\pm$ 0,48	6,45 $\pm$ 0,33
Aurea	5,52 $\pm$ 0,41	4,71 $\pm$ 0,28
Bohatka	9,00 $\pm$ 0,33	-
Dana	5,77 $\pm$ 0,25	4,68 $\pm$ 0,20
Haschberg	12,39 $\pm$ 0,28	9,86 $\pm$ 0,41
Heidegg 13	6,76 $\pm$ 0,37	5,97 $\pm$ 0,23
Körsör	9,82 $\pm$ 0,55	7,09 $\pm$ 0,65
Mammut	14,68 $\pm$ 0,35	11,28 $\pm$ 0,34
Pergarten	5,98 $\pm$ 0,28	4,79 $\pm$ 0,32
Riese aus Vossloch	7,32 $\pm$ 0,41	6,81 $\pm$ 0,17
Sambo	6,48 $\pm$ 0,12	4,72 $\pm$ 0,23
Sambu	9,61 $\pm$ 0,34	5,41 $\pm$ 0,13
Samdal	14,99 $\pm$ 0,87	8,26 $\pm$ 0,22
Sampo	7,92 $\pm$ 0,33	6,68 $\pm$ 0,20
Samyl	9,54 $\pm$ 0,62	6,65 $\pm$ 0,22
Weihenstephan	7,25 $\pm$ 0,40	5,82 $\pm$ 0,17

*Tabulka 105: Obsah celkových polyfenolů v plodech jednotlivých odrůd bezu černého*

Odrůda bezu	obsah celkových polyfenolů ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ovoce) $\pm$ IS (95%, n = 3)	
	2010	2011
Albida	236,8 $\pm$ 11,6	198,6 $\pm$ 11,0
Allesö	536,1 $\pm$ 7,2	317,9 $\pm$ 22,0
Aurea	420,1 $\pm$ 10,1	776,9 $\pm$ 29,9
Bohatka	619,4 $\pm$ 19,3	-
Dana	631,1 $\pm$ 11,2	419,4 $\pm$ 17,1
Haschberg	790,0 $\pm$ 15,7	687,5 $\pm$ 10,8
Heidegg 13	865,5 $\pm$ 21,8	749,9 $\pm$ 21,8
Körsör	339,46 $\pm$ 11,9	554,9 $\pm$ 12,5
Mammut	791,0 $\pm$ 18,5	641,3 $\pm$ 21,5
Pergarten	758,76 $\pm$ 9,8	469,3 $\pm$ 18,5
Riese aus Vossloch	712,8 $\pm$ 8,4	586,0 $\pm$ 10,8
Sambo	841,3 $\pm$ 18,7	793,5 $\pm$ 28,9
Sambu	502,8 $\pm$ 9,6	329,6 $\pm$ 5,6
Samdal	532,1 $\pm$ 16,5	492,2 $\pm$ 21,8
Sampo	526,3 $\pm$ 63,6	245,4 $\pm$ 17,1
Samyl	868,2 $\pm$ 27,3	856,1 $\pm$ 18,1
Weihenstephan	590,96 $\pm$ 19,8	770,9 $\pm$ 20,5

*Tabulka 106: Obsah anthokyanů v plodech jednotlivých odrůd bezu černého*

Odrůda bezu	obsah anthokyanů ( $\text{mg.100 g}^{-1}$ ovoce) $\pm$ IS (95%, n = 3)	
	2010	2011
Albida	0	0
Allesö	$330,8 \pm 8,8$	$237,9 \pm 1,4$
Aurea	$303,9 \pm 6,6$	$463,3 \pm 6,3$
Bohatka	$324,8 \pm 16,1$	-
Dana	$411,4 \pm 24,7$	$249,3 \pm 5,0$
Haschberg	$483,3 \pm 9,3$	$413,2 \pm 8,4$
Heidegg 13	$494,1 \pm 13,8$	$485,3 \pm 11,8$
Körsör	$156,7 \pm 11,4$	$275,8 \pm 5,0$
Mammut	$540,7 \pm 24,4$	$411,2 \pm 11,2$
Pregarten	$412,5 \pm 14,4$	$199,6 \pm 1,9$
Riese aus Vossloch	$433,4 \pm 12,7$	$400,3 \pm 11,8$
Sambo	$485,5 \pm 11,5$	$596,8 \pm 3,8$
Sambu	$233,7 \pm 7,8$	$181,0 \pm 0,60$
Samdal	$294,6 \pm 10,9$	$230,0 \pm 4,1$
Sampo	$227,6 \pm 7,5$	$156,7 \pm 1,1$
Samyl	$533,0 \pm 11,8$	$424,2 \pm 6,5$
Weihenstephan	$385,7 \pm 8,4$	$628,0 \pm 6,8$

## 10.8 PŘÍLOHA 8 – UŽITNÝ VZOR Č. 23248

### UŽITNÝ VZOR

(19) ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011 - 24469**  
(22) Přihlášeno: **10.06.2011**  
(47) Zapsáno: **12.01.2012**

(11) Číslo dokumentu:

**23248**

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

*A23L 2/02* (2006.01)  
*A23L 2/60* (2006.01)  
*A23L 2/68* (2006.01)  
*A23L 2/54* (2006.01)

(73) Majitel:

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Ústav posklizňové technologie  
zahradnických produktů, Lednice, CZ  
Agrofrukt, družstvo, Hustopeče, CZ  
Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a  
biotechnologií, Brno, CZ  
Mácová Hana MUDr., Kurdějov, CZ

(72) Původce:

Balík Josef Doc. Ing. Ph.D., Lednice, CZ  
Němcová Anna Dr. Ing., Podivín, CZ  
Vrba Stanislav Ing., Hustopeče, CZ  
Vespalcová Milena RNDr. Ph.D., Brno, CZ  
Mácová Hana MUDr., Kurdějov, CZ

(54) Název užitného vzoru:

**Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy**

**CZ 23248 U1**

Úřad průmyslového vlastnictví v zápisném řízení nezjištuje, zda předmět užitného vzoru  
splňuje podmínky způsobilosti k ochraně podle § 1 zák. č. 478/1992 Sb.

**Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy****Oblast techniky**

Technické řešení se týká nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy.

**5    Dosavadní stav techniky**

Voda a šťavnaté druhy čerstvého ovoce a zeleniny jsou původními prostředky k tišení žizně člověka a doplnění vyloučené vody z jeho těla. Postupně významnou část této funkce převzaly nápoje vyráběné potravinářským průmyslem. V současnosti se nápoje rozdělují podle různých kritérií např. v závislosti na obsahu alkoholu na alkoholické a nealkoholické nebo podle obsahu 10 oxidu uhličitého na nesycené a sycené oxidem uhličitým. Celá řada nealkoholických nápojů na trhu má zejména funkci doplňování tělních tekutin s nepatrnným dalším zdravotním benefitem. Přitom v současnosti je celosvětovým trendem zdravý životní styl a pozornost konzumenta se obrací k obsahu zdravotně prospěšných látek, které jim potravina nabízí. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy neplní pouze funkci úhrady ztráty vody v 15 našem organismu, ale zároveň přináší tělu celou řadu biologicky aktívnych sloučenin.

Bezinky jsou černofialové peckovičky bezu černého. Tyto zralé plody bezu černého obsahují zdravotně prospěšné flavonoidy, vitamíny, pektiny a minerální látky. Svým vysokým obsahem anthokyianinových barviv dodají nápojům podle jejich složení širokou škálu barevných odstínů od světle červené až po tmavě fialové. Hodnota pH bezinkové šťávy se z konzervačního hlediska 20 nevhodně pohybuje na hranici kyselé a málo kyselé potraviny. Kombinace s jablečnou, rybízovou nebo hroznovou šťávou snižuje pH nápoje a otvírá možnosti k širšímu výběru konzervačních postupů a mikrobiální stabilizaci výrobku, zároveň obsah ovocných šťáv potlačuje v nealkoholickém nápoji pro některé konzumenty nepřitažlivou bezinkovou příchuť, zvyšuje obsah lehce 25 straviteľných cukrů a posiluje antioxidační hodnotu nápoje. Přidaná mrkvová šťáva zvyšuje v nápoji obsah zdraví prospěšných beta-karotenů a minerálů. Složka celarové šťávy doplňuje v nápoji obsah vitaminů C a B-komplexu a tím zlepšuje zdravotně prospěšné účinky nápoje.

Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy se vyznačuje pestrou paletou chutí podle zvoleného složení a pozitivním biologickým účinkem na lidský organismus. Přídavkem kyseliny L-askorbové do nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo 30 zeleninové šťávy dochází k dalšímu navýšení přirozeně se vyskytujících antioxidantů. Při použití minerální vody do nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy či jeho sycením oxidem uhličitým lze dosáhnout nových osvěžujících chuťových odstínů tohoto nápoje.

**Podstata technického řešení**

35 Uvedené nedostatky snižuje nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy, podle tohoto technického řešení, jehož podstata spočívá v tom, že 1 litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy obsahuje minimálně 1 % obj. bezinkové šťávy.

Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy, podle technického 40 řešení, je dále charakterizován tím, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové šťávy je podíl bezinkové 45 šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové a hroznové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové a

jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj., v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj..

5 Toto složení může být doplněno pitnou vodou, minerální vodou, kyselinou citronovou a cukrem tak, aby obsah rozpustné sušiny byl minimálně 5 % hmotn. a obsah veškerých kyselin byl minimálně 2 g v jednom litru nápoje.

10 Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy se vyznačuje pestrou paletou chutí podle zvoleného složení a pozitivním biologickým účinkem na lidský organismus. Následným ošetřením nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy zvýšenou teplotou termosterilace nebo pasterizace se dosáhne mikrobiální stabilizace a prodloužení trvanlivosti nápoje.

15 Je rovněž výhodné obohatit nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy o více než 10 mg kyseliny L-askorbové na 1 litr nápoje a dosáhnout zvýšený obsah biologicky aktivních antioxidantů v nápoji.

15 Všechny varianty nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy lze s výhodou sytit oxidem uhličitým tak, jako u jiných nápojů podobného typu.

#### Příklady provedení technického řešení

1. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem jablečné šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 12 % obj. bezinkové šťávy, 50 % obj. jablečné šťávy a 38 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 12 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 4,5 g v jednom litru nápoje.
2. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem jablečné šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 32 % obj. bezinkové šťávy a 68 % obj. jablečné šťávy. Toto složení nápoje je doplněno cukrem na obsah rozpustné sušiny 13 % hmotn.
- 25 3. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 30 % obj. bezinkové šťávy, 30 % obj. mrkvové šťávy a 40 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 17 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 6,5 g v jednom litru nápoje.
4. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 12 % obj. bezinkové šťávy, 25 % obj. rybízové šťávy a 63 % obj. minerální vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 13 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 6,5 g v jednom litru nápoje.
- 30 5. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové a hroznové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 10 % obj. bezinkové šťávy, 25 % obj. rybízové šťávy, 25 % obj. hroznové šťávy a 40 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 13 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 6,5 g v jednom litru nápoje. Nápoj je sycen oxidem uhličitým na obsah 4 g v jednom litru nápoje.
6. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové a jablečné šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 20 % obj. bezinkové šťávy, 20 % obj. mrkvové šťávy a 60 % obj. jablečné šťávy. Toto složení nápoje je doplněno cukrem na obsah rozpustné sušiny 15 % hmotn.
- 35 7. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 11 % obj. bezinkové šťávy, 49 % obj. hroznové šťávy a 40 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 12 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 5,0 g v jednom litru nápoje.

8. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 35 % obj. bezinkové šťávy a 65 % obj. hroznové šťávy. Toto složení je doplněno kyselinou L-askorbovou v množství 100 mg v jednom litru nápoje.
- 5 9. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové a jablečné šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 30 % obj. bezinkové šťávy, 35 % obj. hroznové šťávy a 35 % obj. jablečné šťávy. Toto složení je doplněno kyselinou L-askorbovou v množství 150 mg v jednom litru nápoje.
- 10 10. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 30 % obj. bezinkové šťávy, 30 % obj. celerové šťávy a 40 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 17 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 6,5 g v jednom litru nápoje.
- 15 11. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové a jablečné šťávy podle předloženého technického řešení obsahuje 20 % obj. bezinkové šťávy, 20 % obj. celerové šťávy a 60 % obj. jablečné šťávy. Toto složení nápoje je doplněno cukrem na obsah rozpustné sušiny 15 % hmotn.

#### N Á R O K Y   N A   O C H R A N U

1. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy, **v y z n a č u - j i c í s e t í m**, že 1 litr nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy obsahuje minimálně 1 % obj. bezinkové šťávy.
- 20 2. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj.
- 25 3. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj.
4. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj.
- 30 5. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem rybízové a hroznové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj.
6. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem mrkvové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj.
- 35 7. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj.
8. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **v y z n a č u j i c í s e t í m**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem hroznové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj.
- 40

9. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové šťávy je podíl bezinkové šťávy až 90 % obj.
10. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že v 1 l nealkoholického nápoje z bezinek s obsahem celerové a jablečné šťávy je podíl bezinkové šťávy až 80 % obj.
11. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle některého z nároků 1 až 10, **vyznačující se tím**, že je obohacen o více než 10 mg kyseliny L-askorbové na 1 litr nápoje.
12. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy podle některého z nároků 1 až 11, **vyznačující se tím**, že je doplněn kyselinou citronovou, cukrem, pitnou vodou nebo minerální vodou na obsah rozpustné sušiny minimálně 5 % hmotn. a obsah veškerých kyselin minimálně 2 g v jednom litru nápoje.
13. Nealkoholický nápoj z bezinek s obsahem ovocné a/nebo zeleninové šťávy a vinných hroznů podle některého z nároků 1 až 12, **vyznačující se tím**, že je obohacen oxidem uhličitým.

Konec dokumentu

## 10.9 PŘÍLOHA 9 – UŽITNÝ VZOR Č. 23809

### UŽITNÝ VZOR

(19) ČESKÁ REPUBLIKA 	(21) Číslo přihlášky: <b>2011 - 24468</b> (22) Přihlášeno: <b>10.06.2011</b> (47) Zapsáno: <b>17.05.2012</b>
---	--

ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(11) Číslo dokumentu:

**23809**

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. CL:

*A23L 2/02* (2006.01)  
*A23L 2/60* (2006.01)  
*A23L 2/68* (2006.01)  
*A23L 2/54* (2006.01)

(73) Majitel:

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů, Lednice, CZ  
Agrofrukt, družstvo, Hustopeče, CZ  
Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologii, Brno, CZ  
Mácová Hana MUDr., Kurdějov, CZ

(72) Původce:

Balík Josef Doc. Ing. Ph.D., Lednice, CZ  
Němcová Anna Dr. Ing., Podivín, CZ  
Vrba Stanislav Ing., Hustopeče, CZ  
Vespalcová Milena RNDr. Ph.D., Brno, CZ  
Mácová Hana MUDr., Kurdějov, CZ

(54) Název užitného vzoru:

**Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů**

**CZ 23809 U1**

Úřad průmyslového vlastnictví v zápisném řízení nezjišťuje, zda předmět užitného vzoru splňuje podmínky způsobilosti k ochraně podle § 1 zák. č. 478/1992 Sb.

**Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů****Oblast techniky**

Technické řešení se týká nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů.

**Dosavadní stav techniky**

- 5 Nápoje slouží především k odstranění pocitu žizně a k vyrovnání ztrátové bilance vody v našem organismu. Nápoje se rozdělují podle různých kritérií např. v závislosti na obsahu alkoholu na alkoholické a nealkoholické nebo podle obsahu oxida uhličitého na nesycené a sycené oxidem uhličitým. Organoleptická rozmanitost nápojů je dána surovinami, ze kterých byly vyrobeny, jejichž nutriční hodnotou i způsobem konzervace. Celá řada nealkoholických nápojů na trhu má zejména funkci doplňování tělních tekutin s nepatrným dalším zdravotním benefitem. Přitom v současnosti je celosvětovým trendem zdravý životní styl a pozornost konzumenta se obrací k obsahu zdravotně prospěšných látek, které jim potravina nabízí. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů neplní pouze funkci úhrady ztráty vody v našem organismu, ale zároveň přináší tělu celou řadu biologicky aktivních sloučenin.
- 10 Bezinky jsou černofialové peckovičky bezu černého. Tyto zralé plody bezu černého obsahují zdravotně prospěšné flavonoidy, vitaminy, pektiny a minerální látky. Svým vysokým obsahem anthokyianinových barviv dodají nápojům podle jejich složení širokou škálu barevných odstínů od světle červené až po tmavě fialové. Hodnota pH bezinkové šťávy se z konzervačního hlediska nevhodně pohybuje na hranici kyselé a málo kyselé potraviny. Kombinace s hroznovou šťávou nebo moštěm snižuje pH nápoje a otvírá možnosti k širšímu výběru konzervačních postupů a mikrobiální stabilizaci výrobku. Zároveň hroznová šťáva nebo mošt potlačuje v nealkoholickém nápoji pro některé konzumenty nepřitažlivou bezinkovou příchuť, zvyšuje obsah lehce stravitelných cukrů a posiluje antioxidační hodnotu nápoje.
- 15 Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů se vyznačuje využitou příjemnou chutí a pozitivním biologickým účinkem na lidský organizmus. Při použití náhradního sladidla dosáhne nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů nižší energetickou hodnotu a je vhodný i pro diabetiky. Přídavkem kyseliny L-askorbové do nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů dochází k dalšímu navýšení přirozeně se vyskytujících antioxidantů. Při použití minerální vody do nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů či jeho sycením oxidem uhličitým lze dosáhnout nových osvěžujících chuťových odstínů tohoto nápoje.
- 20
- 25
- 30

**Podstata technického řešení**

- Uvedené nedostatky snižuje nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů, podle tohoto technického řešení, jehož podstata spočívá v tom, že 1 litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů obsahuje minimálně 1 % obj. bezinkové šťávy a minimálně 5 % obj. hroznové šťávy nebo mostu. Zbývající objem nápoje tvoří dodaná pitná voda.

35 Toto složení může být doplněno kyselinou citronovou a cukrem tak, aby obsah rozpustné sušiny byl minimálně 5 % hmotn. a obsah veškerých kyselin byl minimálně 2 g v jednom litru nápoje.

Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů se vyznačuje využitou příjemnou chutí a pozitivním biologickým účinkem na lidský organizmus. Následným ošetřením nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů zvýšenou teplotou termosterilace nebo pasteurizace se dosáhne mikrobiální stabilizace a prodloužení trvanlivosti nápoje.

40 Jako konzervační činidlo nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů je možné s výhodou použít soli kyseliny sorbové a/nebo kyseliny benzoové v maximálním množství podle platných právních předpisů, které prodlouží mikrobiální trvanlivost nápoje.

Je rovněž výhodné obohatit nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů o více než 10 mg kyseliny L-askorbové na 1 litr nápoje a dosáhnout zvýšený obsah biologicky aktivních antioxidantů v nápoji.

Jiné výhodné řešení nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů obsahuje náhradní sladidlo nebo směs dvou a více náhradních sladidel jako je aspartam, acesulfam K, kyselina cyklámová, sacharin a jejich soli, neutam, neohesperidin DC, thaumatin nebo sukralosa v maximálním množství podle platných právních předpisů. Při použití náhradního sladidla má nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů nižší energetickou hodnotu.

S výhodou lze jako pitné vody použít přírodní minerální vody. Přírodní minerální vodou lze v kombinaci s bezinkovou šťávou a hroznovou šťávou nebo moště dosáhnout jiné chuťové odstíny nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů.

Výhodným řešením je také nealkoholický nápoj z bezinek a hroznů bez dodané vody s vlastnostmi 100 % obj. ovocné šťávy.

Všechny varianty nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů lze s výhodou sytit oxidem uhličitým tak, jako u jiných nápojů podobného typu.

#### Příklady provedení technického řešení

1. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 10 % obj. bezinkové šťávy, 50 % obj. hroznové šťávy nebo moště a 40 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 12 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 4,5 g v jednom litru nápoje. Nápoj je konzervován termosterilací nebo pasterizací.

2. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 10 % obj. bezinkové šťávy, 25 % obj. hroznové šťávy nebo moště a 65 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno sladidlem aspartamem v množství 300 mg v jednom litru nápoje a kyselinou citronovou na obsah veškerých kyselin 4,5 g v jednom litru nápoje. Nápoj je konzervován termosterilací nebo pasterizací.

3. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 10 % obj. bezinkové šťávy, 50 % obj. hroznové šťávy nebo moště a 40 % obj. přírodní minerální vody. Toto složení je doplněno kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny 12 % hmotn. a na obsah veškerých kyselin 4,5 g v jednom litru nápoje. Nápoj obsahuje konzervační činidlo kyselinu sorbovou v množství 300 mg v jednom litru nápoje.

4. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 10 % obj. bezinkové šťávy, 25 % obj. hroznové šťávy nebo moště a 65 % obj. pitné vody. Toto složení je doplněno sladidlem sukralosa v množství 100 mg v jednom litru nápoje a kyselinou citronovou na obsah veškerých kyselin 4,5 g v jednom litru nápoje. Nápoj obsahuje konzervační činidlo kyselinu benzoovou v množství 150 mg v jednom litru nápoje. Nápoj je sycen oxidem uhličitým na obsah 4 g v jednom litru nápoje.

5. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 20 % obj. bezinkové šťávy a 80 % obj. hroznové šťávy nebo moště. Toto složení je doplněno kyselinou L-askorbovou v množství 100 mg v jednom litru nápoje. Nápoj je konzervován termosterilací nebo pasterizací.

6. Jeden litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů podle předloženého technického řešení obsahuje 40 % obj. bezinkové šťávy a 60 % obj. hroznové šťávy nebo moště. Toto složení nápoje je doplněno cukrem na obsah rozpustné sušiny 17 % hmotn.. Nápoj je konzervován termosterilací nebo pasterizací.

## NÁROKY NA OCHRANU

1. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů, **vyznačující se tím**, že 1 litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů obsahuje minimálně 1 % obj. bezinkové šťávy a minimálně 5 % obj. hroznové šťávy nebo moštu.
- 5 2. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že 1 litr nealkoholického nápoje z bezinek a vinných hroznů obsahuje minimálně 1 % obj. bezinkové šťávy, minimálně 5 % obj. hroznové šťávy nebo moštu a zbytek tvoří dodaná pitná voda.
- 10 3. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 1 a 2, **vyznačující se tím**, že je doplněn kyselinou citronovou a cukrem na obsah rozpustné sušiny minimálně 5 % hmotn. a obsah veškerých kyselin minimálně 2 g v jednom litru nápoje.
- 15 4. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že obsahuje jako konzervační činidlo sůl kyseliny sorbové a/nebo kyseliny benzoové.
- 20 5. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že je obohacen o více než 10 mg kyseliny L-askorbové na 1 litr nápoje.
6. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že obsahuje náhradní sladidlo nebo směs dvou a více náhradních sladidel aspartam, acesulfam K, kyselinu cyklámovou, sacharin a jejich soli, neutam, neoheスペridin DC, thaumatin nebo sukralosu.
- 25 7. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 2 až 6, **vyznačující se tím**, že dodanou pitnou vodou je přírodní minerální voda.
8. Nealkoholický nápoj z bezinek a vinných hroznů podle některého z nároků 1 až 7, **vyznačující se tím**, že je obohacen oxidem uhličitým.

Konec dokumentu

## **10.10 PŘÍLOHA 10 – ŽIVOTOPIS**

### ***Osobní údaje:***

Jméno a příjmení: Ing. Jitka Cetkovská  
Datum a místo narození: 5. května 1985, Vyškov  
Trvalé bydliště: Maxima Gorkého 577/12, 682 01 Vyškov  
E-mail: jitka.cetkovska@seznam.cz

### ***Studium:***

2009–nyní **Doktorské studium**, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,  
Program: *Chemie a technologie potravin*, obor: *Potravinářská chemie*  
Téma dizertační práce: *Posouzení nutričních faktorů u dosud méně využívaných druhů drobného ovoce*

2007–2009 **Magisterské studium**, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,  
Program: *Chemie a technologie potravin*, obor: *Potravinářská chemie a biotechnologie*  
Téma diplomové práce: *Stanovení vitaminu C kapalinovou chromatografií v plodech jednotlivých odrůd méně známých druhů ovoce*

2004–2007 **Bakalářské studium**, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická  
Program: *Chemie a technologie potravin*, obor: *Potravinářská chemie*  
Téma bakalářské práce: *Zdravotně významné látky v rakytníku řešetlakovém a jejich využití*

### ***Zaměstnání:***

2013–nyní Oncomed manufacturing a.s.  
Pozice: Odborný pracovník QC  
Náplň práce: dokumentační práce v režimu GMP: příprava a vyhodnocování validací a verifikací analytických metod dle ICH, Ph.Eur., USP, JP; vývoj nových analytických metod (HPLC, GC, AAS, Karl-Fischerova a potenciometrická titrace, UV-VIS spektrofotometrie, IR spektrofotometrie)

### ***Účast na projektech:***

2011 Nové úlohy v Praktiku z instrumentální a strukturní analýzy, FRVŠ (hlavní řešitelka)

### ***Účast na seminářích:***

- Akademie Věd České Republiky: *Kurz základů vědecké práce*, 19.9.–23.9.2011, Brno
- Česká chromatografická škola: *HPLC 2011*, 2.–4.5.2011, Seč-Ústupky
- 2Theta, Technická univerzita Ostrava: *Odběry vzorků 2011*, 9.–11.5.2011, Valtice
- semináře firem: HPST, Labicom, Chromservis, Mettler Toledo

### ***Výuka:***

- Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy: ak. rok 2009/2010, 2010/2011, 2011/2012, 2012/2013 (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
- Praktikum z analytické chemie potravin: ak. rok 2009/2010
- vedení experimentálních částí diplomových prací

## **10.11 PŘÍLOHA 11 – PUBLIKACE**

### ***Publikace v recenzovaných časopisech s IF:***

CETKOVSKÁ, J.; DIVIŠ, P.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J. a kol. Basic nutritional properties of Cornelian cherry (*Cornus mas L.*) cultivars grown in the Czech Republic. *ACTA ALIMENTARIA*, 2015, roč. 44, č. 3, s. 357-364. ISSN: 0139- 3006.

MATĚJÍČEK, A.; KAPLAN, J.; VESPALCOVÁ, M.; MATĚJÍČKOVÁ, J.; CETKOVSKÁ, J. Comparison of substances in elderberry cultivars and wild elderberry. *Acta Horticulturae*, 2015, 1074, s. 105-110. ISSN: 0072-1077.

### ***Publikace v recenzovaných časopisech bez IF:***

VESPALCOVÁ, M.; CETKOVSKÁ, J.; MATĚJÍČEK, A., KAPLAN J.: Rutin v odpadu z výsadeb bezu černého. *Vědecké práce ovocnářské*, 23 (1), 2013. s. 37–45. ISSN: 0231-6900.

### ***Účast na mezinárodních konferencích:***

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. *Analysis of non traditional fruits (Hippophae Rhamnoides and Cornus Mas)*. Chemické listy. 2011. s. s1002 (s1002 s.) ISSN: 0009-2770. (abstrakt ve sborníku, přednáška v anglickém jazyce)

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J.; ŘEZNÍČEK, V. *Cornelian cherry (Cornus mas) as a good source of antioxidants*. 11th INTERNATIONAL NUTRITION & DIAGNOSTICS CONFERENCE; Abstract Book and Final Programme; August 28 - 31, 2011. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011. s. 104-104. ISBN: 978-80-7395-378- 2. (abstrakt ve sborníku, poster)

### ***Účast na domácích konferencích:***

VESPALCOVÁ, M.; CETKOVSKÁ, J.; HOHOVÁ, B.; ŠŤAVÍKOVÁ, L.; MATĚJÍČEK, A. *Rutin v odpadu z výsadeb bezu černého*. Chemické listy, 106 (6), 2012, sborník abstraktů. Chemické listy. Praha: ČSCH, 2012. s. 568-568. ISSN: 0009- 2770. (poster)

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J. Determination of some important nutritive compounds in various cultivars of cornelian cherry fruit. In *Studentská odborná konference Chemie a Společnost 2011/12, Sborník příspěvků*. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. s. 49-53. ISBN: 978-80-214-4425- 6. (článek ve sborníku, abstrakt, přednáška v anglickém jazyce)

CETKOVSKÁ, J.; ŘEZNÍČEK, V.; VESPALCOVÁ, M. Obsah vitaminu C v odrůdách rakytníku řešetlákového z pohledu možného využití pro potravinářské účely. *Sborník příspěvků XXXVII. Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin*, 2010, roč. 37, č. 1, s. 225-228. ISSN: 1802- 1433. (článek ve sborníku, poster)

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; MAŘÁKOVÁ, V.; ŘEZNÍČEK, V. Vitamin C v méně známých druzích ovoce. In *Studentská konference Výživa, potraviny a zdraví 2010*, 2010, Brno, (přednáška v českém jazyce)

### ***Ostatní:***

VESPALCOVÁ, M.; DIVIŠ, P.; CETKOVSKÁ, J. *Vývoj a následná optimalizace výroby bioproduktů z černého bezu*. 2013. s. 1-26. (souhrnná výzkumná zpráva)

See discussions, stats, and author profiles for this publication at:  
<http://www.researchgate.net/publication/273222909>

# Basic nutritional properties of Cornelian cherry ( *Cornus mas* L.) cultivars grown in the Czech Republic

ARTICLE *in* ACTA ALIMENTARIA · JUNE 2015

Impact Factor: 0.27 · DOI: 10.1556/AAlim.2014.0013

---

READS

35

## 5 AUTHORS, INCLUDING:



Milena Vespalcova

Brno University of Technology

5 PUBLICATIONS 17 CITATIONS

SEE PROFILE



Jaromír Pořízka

Brno University of Technology

5 PUBLICATIONS 0 CITATIONS

SEE PROFILE

## BASIC NUTRITIONAL PROPERTIES OF CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS* L.) CULTIVARS GROWN IN THE CZECH REPUBLIC

J. CETKOVSKÁ<sup>a</sup>, P. DIVIŠ<sup>a\*</sup>, M. VESPALCOVÁ<sup>a</sup>, J. POŘÍZKA<sup>a</sup> and V. ŘEZNIČEK<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Food Science and Biotechnology,  
Purkyňova 118, Brno, Czech Republic

<sup>b</sup> Mendel University in Brno, Faculty of Horticulture, Department of Breeding and Propagation of Horticultural  
Plants, Valtická 337, Lednice, Czech Republic

(Submitted: 30 April 2013; accepted: 25 June 2013)

The ascorbic acid, total polyphenols, total anthocyanins and mineral content, together with antioxidant activity, was determined in five Czech, two Ukrainian and two Austrian cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) widely grown in the Czech Republic. Ascorbic acid content varied between 199–433 mg kg<sup>-1</sup>, total polyphenols between 2174–6143 mg kg<sup>-1</sup>, and total anthocyanins between 61–253 mg kg<sup>-1</sup>. All fruits were good sources of major metals (K, Ca, Mg, Fe, and Mn) and trace elements (Cu, Zn, and Cr). The antioxidant activity was determined by EPR and DPPH radical scavenging assay and ranged from 29.5% to 67.2%. There was a linear relationship between antioxidant activity and total polyphenol content. Based on the obtained results, Ekotišnovský, Fruchtal, and Ruzyňský cultivars were recommended for further investigation and breeding programme of cornelian cherry fruit in the Czech Republic.

**Keywords:** cornelian cherry, antioxidant activity, mineral elements, ascorbic acid, polyphenols

The significance of less common fruit trees is not negligible. Most of them have modest demands for growing conditions and grow well in extreme habitats. They can be harvested every year, and their fruit have a high biological value with beneficial effects on human health.

Cornelian cherry (*Cornus mas*, L.) is 2–8 m high shrub cultivated mainly in Central and Southern Europe, in Asia Minor, and in the Caucasus. The fruit of cornelian cherry are two-seeded, red coloured, oval shaped, 10–30 mm long drupes with a weight of 2–5 g, containing many nutritive substances (KARADENIZ et al., 2002; DEMİR & KALYONCU, 2003; PAPRŠTEIN et al., 2009). They are suitable for direct consumption, however, they are mostly processed into various products, such as jams, jellies, marmalades, stewed fruit, yogurts, juice, syrups, and liquors.

In earlier times cornelian cherry was widely cultivated in southern regions of the Czech Republic, nowadays it is nearly forgotten, although it still wildly grows in this locality. One of the reasons is the fact that cornelian cherry is still not mentioned in the Czech National List of Varieties and thus it is out of interest for the farmers.

The aim of this work was to determine five nutritional parameters in nine cornelian cherry cultivars that predominantly grow in the Czech Republic, to compare each variety on the basis of the obtained results, and to select the best cultivar for a breeding programme of cornelian cherry fruit in the Czech Republic.

---

\* To whom correspondence should be addressed.

Phone: +420-54114-9454; fax: +420-541211697; e-mail: divis@fch.vutbr.cz

## 1. Materials and methods

### 1.1. Samples

Fruit were harvested within the period of 2009–2010 in the experimental orchards of Brno Mendel University in Žabčice (approx. 20 km south of Brno city, Czech Republic). Average altitude of this locality is 185 metres, mean precipitations oscillate in from 450 to 550 mm per year and average year temperature reaches 9.3 °C. The soil type in the orchard was classified as sandy-clay alluvial soil consisting mostly of marginal weathered material rich in organic compounds. Samples were stored under –18 °C prior analysis and analysed as soon as possible. The samples represented nine varieties of cornelian cherry: Ekotišnovský, Olomoucký, Ruzyňský, Sokolnický, Tišnovský (Czech cultivars), Fruchtal, Joliko (Austrian cultivars), and Lukjanovskij and Vydubeckij (Ukrainian cultivars). Before the analysis, thirty randomly chosen fruit were mixed together and used for the analyses. From the selected fruit purée was made using a mixer and the final average sample was obtained by dividing into quarters.

### 1.2. Chemical analysis

Ascorbic acid was determined after homogenization of 5–6 g of cornelian cherry sample with 2% metaphosphoric acid. Homogenized samples were filtered through 0.45 µm nylon filter before the analysis on High Performance Liquid Chromatograph (Waters 1515, Waters Corporation, USA). The L-ascorbic acid standard was used to calibrate the chromatograph. Total amount of 20 µl filtered solution was injected on Gemini Reversed Phase C18 column (150 × 4.6 mm; 5 µm; Phenomenex) with Security Guard Cartridges (Gemini C18 4 × 3 mm, Phenomenex). Mobile phase consisted of 0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and contained 10% (v/v) of methanol. The isocratic flow of mobile phase was set to 1 ml min<sup>-1</sup>. Analysis was performed at 30 °C and the analyte was detected using UV-VIS detector (Waters 2487, Waters Corporation, USA) at 254 nm.

The extract for total polyphenols and anthocyanins analysis was prepared from 20 g of fruit purée and 100 ml of ultrapure water acidified by 0.1 M HCl. After thorough mixing, the mixture was centrifuged at 6000 r.p.m. for 10 min and filtered. Total polyphenols were determined by UV-VIS spectrophotometer (Helios Gamma, Thermo Fisher Scientific) using Folin-Ciocalteu reagent (POPOVIC et al., 2012). Gallic acid was used as standard.

Total anthocyanins were measured at 510 and 700 nm in two buffers at pH 1.0 and 4.5 using pH-differential spectrophotometric method (POPOVIC et al., 2012).

Antioxidant activity was performed using electron paramagnetic resonance spectrometer (Miniscope MS 300, MagnetTech, Germany) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay (POLOVKA, 2006). Each sample extract was diluted 50 times prior the addition of 'DPPH' solution (concentration c<sub>DPPH</sub> in ethanol=0.63 mmol l<sup>-1</sup>). Antioxidant activity of the sample was quantified by comparison of 'DPPH' relative concentration after 14 minutes from mixing the 'DPPH' solution with the sample. The antioxidant activity was expressed as a decrease of relative 'DPPH' concentration.

The mineral content was determined after wet-ashing of 500 mg dry weight fruit sample in a microwave oven (Milestone1200, Bergamo, Italy) using 6 ml of a mixture (2:1) of nitric acid and hydrogen peroxide and a defined time performance program. Analysis of all samples was performed on Q-ICP-MS (X-series, Thermo Scientific) with the following conditions: plasma gas flow 13 l min<sup>-1</sup>, auxiliary gas flow 0.7 l min<sup>-1</sup>, nebuliser gas flow 0.9 l min<sup>-1</sup>,

forward power 1300 W. Collision cell containing Ar-He gas mixture (5 ml min<sup>-1</sup>) was used during the measurement to reduce the spectral interferences. The instrument was calibrated using multielemental standard solution prepared by mixing standards of individual elements of interest.

### 1.3. Statistical analysis

The data obtained were analysed statistically in Statistica 10.0 software (Stat Soft, Inc.) and the results were displayed in mean values with standard deviation (n=3). Significance of the differences among the numbers was determined by Duncans multiple range test at P<0.05 significance level.

## 2. Results and discussion

The results from analyses of selected cultivars are given in Tables 1 and 3.

The highest content of ascorbic acid (vitamin C) was measured in Ekotišnovský cultivar (433 mg kg<sup>-1</sup>), while the lowest in Vydubeckij cultivar (198 mg kg<sup>-1</sup>). These results are in accordance with the results obtained by the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd. (Czech Republic) during the years 2004–2006 (PAPRŠTEJN et al., 2009). On the other hand, ROP and co-workers (2010) measured almost 10 times higher ascorbic acid content in 12 different cornelian cherry cultivars (6 of them were the same as in this study) harvested in the experimental orchard of Tomas Bata University Zlin (Czech Republic) within the period of 2007–2009. For the comparison, the contents of ascorbic acid in cornelian cherries grown in other parts of Europe and Asia are shown in Table 2. As can be seen the ascorbic acid content in the studied cultivars can be compared with other cultivars grown in the other part of world, however some cornelian cherries, mainly from Azerbaijan, Greece, and Turkey, can be richer in ascorbic acid compared to our studied cultivars. In the average, consumption of 100 mg of investigated fruit cultivars can cover about 30% of recommended dietary allowance of vitamin C for woman and men (DRISKELL, 2009).

*Table 1.* Total anthocyanins ( $c_{\text{ACY}}$ ), ascorbic acid ( $c_{\text{AA}}$ ), total polyphenols ( $c_{\text{TP}}$ ) content and antioxidant activity (AOA) of cornelian cherry cultivars

Cultivar	$c_{\text{ACY}}$ , mg kg <sup>-1</sup>	$c_{\text{AA}}$ , mg kg <sup>-1</sup>	$c_{\text{TP}}$ , mg kg <sup>-1</sup>	AOA, %
Ekotišnovský	220±3 <sup>c</sup>	433±36 <sup>d</sup>	6143±195 <sup>g</sup>	67.25±1.25 <sup>c</sup>
Fruchtal	194±5 <sup>d</sup>	365±24 <sup>c</sup>	4117±84 <sup>c</sup>	60.95±0.15 <sup>d</sup>
Joliko	61±7 <sup>a</sup>	233±14 <sup>ab</sup>	2174±77 <sup>b</sup>	37.3±3.5 <sup>b</sup>
Lukjanovskij	347±4 <sup>g</sup>	214±43 <sup>ab</sup>	1823±10 <sup>a</sup>	37.3±0.6 <sup>b</sup>
Olomoucký	160±6 <sup>c</sup>	335±30 <sup>c</sup>	2438±35 <sup>bc</sup>	29.55±1.75 <sup>a</sup>
Ružičňák	253.8±2.9 <sup>f</sup>	348±12 <sup>c</sup>	4259±131 <sup>c</sup>	52.0±3.6 <sup>c</sup>
Sokolnický	99.2±0.4 <sup>b</sup>	390±18 <sup>cd</sup>	3621±9 <sup>d</sup>	41.61±1.20 <sup>b</sup>
Tišnovský	153.4±1.3 <sup>c</sup>	249±19 <sup>b</sup>	2683±13 <sup>c</sup>	41.4±0.7 <sup>b</sup>
Vydubeckij	109.8±0.8 <sup>b</sup>	199±17 <sup>a</sup>	4782±172 <sup>f</sup>	51.6±1.6 <sup>c</sup>

Values in the same column with different letters are significantly different at P<0.05

Table 2. Comparison of ascorbic acid content in different cornelian cherry cultivars grown around the world

Cultivar	Location	Ascorbic acid, mg kg <sup>-1</sup>	Reference
Ekotišnovský, Olomoucký, Ružovský, Sokolnický, Tišnovský, Fruchtal, Joliko Lukjanovskij, Vydubeckij	Czech Republic, South Moravia	199–433	This study
n.a.	Alborz Mountain Chain, Guilan, North Iran	446	HASHEMPOUR et al., 2010
C14, C15, C24, C25, C26, C27 01, 02, 03, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 12, 15	Arasbaran, East Azerbaijan	1655–2995	HASSANPOUR et al., 2011
	Çoruh valley, Turkey	437–767	GÜLERYÜZ et al., 1998
n.a.	Konya region, Turkey	730	KALYONCU et al., 2009
n.a.	Samsun, Turkey	160–888	TURAL & KOCA, 2008
14-09, 44-01, 44-05, 44-16, 44-18, 44-20, 44-24, 44-26, 67-01, 77-04, 77-05, 77-06, 77-09, 77-10, 78-03, 78-05	Western Black Sea and Inner Anatolia regions, Turkey	290–1120	YILMAZ et al., 2009
n.a.	North-eastern Anatolia, Turkey	372	ASLANTAS et al., 2007
CPC16, KC1, KC2, Bačka, R1, PPC1, KDC1, KDC3, KKC1	Serbia	149–388	BIJELIC et al., 2011
260 different genotypes	Gemer region, Slovakia	164–385	BRINDZA et al., 2009
n.a.	Georgia	505–1280	MAGHRADZE et al., 2009
Bolestraszycki, Dublany, Florianka, Juliusz, Kresowiak, Paczoski, Podolski, Raciborski, Slowianin, Szafer	Poland	342–750	KUCHARSKA et al., 2011
Vermio	Veria, Northern Greece	1633	PANTELIDIS et al., 2007

n.a.: not available

Total polyphenol content was the highest in Ekotišnovský cultivar (6143 mg kg<sup>-1</sup>) and the lowest in Lukjanovskij cultivar (1823 mg kg<sup>-1</sup>). The obtained results were within the limits of the values published by several authors for cornelian cherries from Czech Republic, Poland, Turkey, or Iran (TURAL & KOCA, 2008; YILMAZ et al., 2009; HASHEMPOUR et al., 2010; ROP et al., 2010; KUCHARSKA et al., 2011), but were lower than the values reported by PANTELIDIS and co-workers (2007) in Vermio cultivar from Greece (15 920 mg kg<sup>-1</sup>). The differences in total polyphenol content may be caused by the different extraction method used in that study compared to the other studies. It is well known that water extracts may have a lower extraction yield compared to application of organic solvents (KRATCHANOVA et al., 2010), however in food industry the cornelian cherry products are processed without support of organic compounds and thus water extraction can provide useful information in relation to the absorption of these substances by the human metabolism. The total polyphenol content correlated well with the antioxidant activity (Fig. 1., R<sup>2</sup>=0.7985), which confirms the hypothesis that consumption of cornelian cherry can strengthen the immune system and generally may have positive effect on human health.

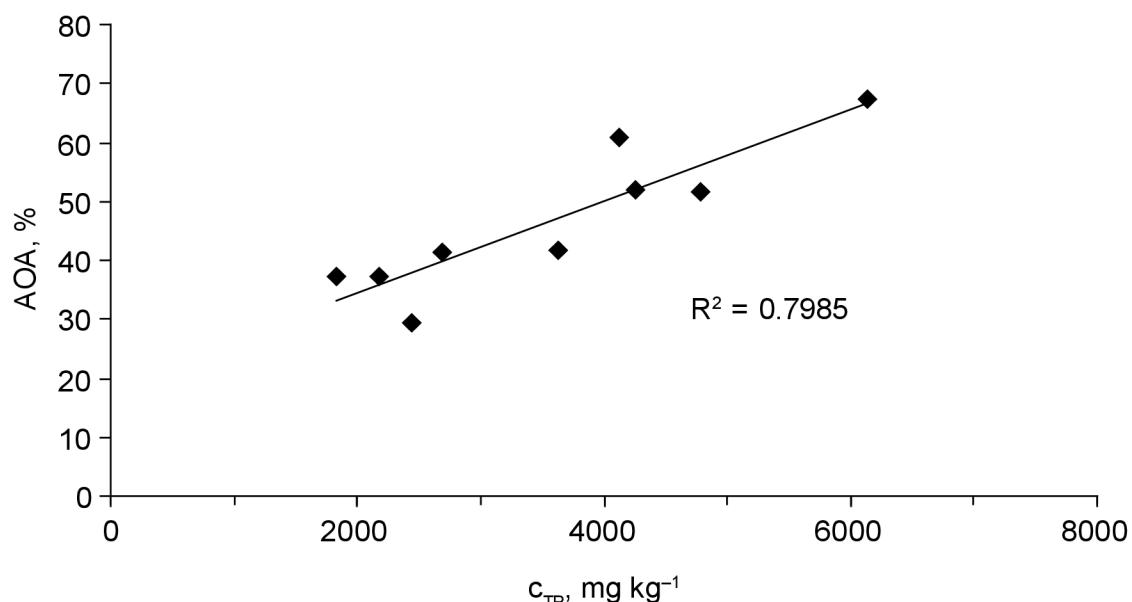


Fig. 1. Correlation between total polyphenols content (cTP) and DPPH radical activity (AOA)

The content of total anthocyanins ranged from 61 mg kg<sup>-1</sup> (Joliko cultivar) to 347 mg kg<sup>-1</sup> (Lukjanovskij cultivar). These results are in agreement with the results published by SEERAM and co-workers (2002) and BIJELIC and co-workers (2011) who analysed cornelian cherries from Serbia and the USA. Significantly higher anthocyanin concentrations (1068–4421 mg kg<sup>-1</sup>) were measured in cornelian cherries from Turkey, Iran (TURAL & KOCA, 2008; YILMAZ et al., 2009; HASSANPOUR et al., 2011), and Greece (PANTELIDIS et al., 2007).

The highest antioxidant activity was observed in Ekotišnovský cultivar (67.2%), while the lowest in Olomoucký cultivar (29.5%). In other similar studies the antioxidant activity ranged from 31% to 94.3% (YILMAZ et al., 2009; HASSANPOUR et al., 2011), although it was determined by different analytical methods.

The dominating mineral element in cornelian cherry cultivars was potassium. The potassium concentration varied between 4425 mg kg<sup>-1</sup> and 9729 mg kg<sup>-1</sup>. Other important major elements related to human health are calcium, magnesium, iron, and manganese. In the average, the analysed cornelian cherry cultivars contained 931 mg kg<sup>-1</sup> Ca and 277 mg kg<sup>-1</sup> Mg. The iron and manganese contents were about 1 mg kg<sup>-1</sup>. The results of elemental analysis showed that all cornelian cherry cultivars are rich in essential metals (0.40–4.48 mg kg<sup>-1</sup>) except for chromium that was present in trace amount (0.023–0.23 mg kg<sup>-1</sup>). There are relatively few studies dealing with the mineral content of cornelian cherry. KALYONCU and co-workers (2009) reported significantly higher concentrations of major elements compared to this study. Nevertheless it can be said that the measured results are in agreement with the published data (ASLANTAS et al., 2007; BIJELIC et al., 2011). All measured major and minor metal concentrations are below the tolerable upper intake levels and it can be concluded that, in the average, consumption of 100 mg cornelian cherry fruit cover about 6–25% of the recommended dietary allowance of potassium, calcium, iron, manganese, copper, zinc, and chromium for woman and men (DRISKELL, 2009).

Table 3. Mineral composition of all tested cornelian cherry cultivars

	E	F	J	L	O	R	S	T	V
K	9 045±346 <sup>dc</sup>	8 309±455 <sup>cd</sup>	6 643±292 <sup>bc</sup>	5 672±325 <sup>b</sup>	8 936±248 <sup>dc</sup>	9 729±122 <sup>c</sup>	5 721±304 <sup>b</sup>	7 918±125 <sup>c</sup>	4 225±394 <sup>a</sup>
Ca	941±56 <sup>b-d</sup>	1164±142 <sup>d</sup>	517±84 <sup>a</sup>	793±45 <sup>b</sup>	995±57 <sup>b-d</sup>	1095±95 <sup>cd</sup>	984±51 <sup>b-d</sup>	1036±75 <sup>b-d</sup>	858±39 <sup>bc</sup>
Mg	393±35 <sup>de</sup>	326±43 <sup>d</sup>	174±26 <sup>bc</sup>	214±17 <sup>c</sup>	113±18 <sup>ab</sup>	430±37 <sup>c</sup>	373±58 <sup>de</sup>	107±6 <sup>ab</sup>	72±9 <sup>a</sup>
Fe	1.0±0.3 <sup>ab</sup>	1.62±0.08 <sup>bc</sup>	1.55±0.14 <sup>bc</sup>	1.83±0.25 <sup>c</sup>	1.43±0.16 <sup>bc</sup>	1.24±0.13 <sup>b</sup>	1.37±0.24 <sup>b</sup>	0.46±0.09 <sup>a</sup>	0.48±0.14 <sup>a</sup>
Mn	1.92±0.07 <sup>e</sup>	1.37±0.06 <sup>cd</sup>	1.07±0.05 <sup>b</sup>	1.27±0.04 <sup>c</sup>	1.95±0.13 <sup>e</sup>	1.54±0.07 <sup>d</sup>	1.27±0.05 <sup>c</sup>	0.71±0.03 <sup>a</sup>	1.83±0.09 <sup>e</sup>
Cu	0.79±0.28 <sup>a</sup>	3.6±0.4 <sup>e</sup>	2.01±0.09 <sup>cd</sup>	3.14±0.09 <sup>e</sup>	1.59±0.05 <sup>bc</sup>	2.37±0.16 <sup>d</sup>	1.39±0.08 <sup>b</sup>	0.53±0.05 <sup>a</sup>	0.67±0.09 <sup>a</sup>
Zn	3.18±0.15 <sup>c</sup>	3.20±0.23 <sup>cd</sup>	2.59±0.13 <sup>bc</sup>	4.01±0.25 <sup>ef</sup>	4.42±0.24 <sup>f</sup>	3.51±0.14 <sup>de</sup>	2.51±0.06 <sup>b</sup>	0.48±0.13 <sup>a</sup>	2.89±0.23 <sup>bc</sup>
Cr	0.17±0.03 <sup>a</sup>	0.12±0.06 <sup>a</sup>	0.22±0.13 <sup>b</sup>	0.23±0.03 <sup>b</sup>	0.18±0.06 <sup>b</sup>	0.095±0.013 <sup>a</sup>	0.13±0.05 <sup>a</sup>	0.025±0.009 <sup>a</sup>	0.073±0.025 <sup>a</sup>

(E): Ekotřnovský; (F): Fruchtal; (J): Joliko; (L): Lukjanovskij; (O): Olomoucký; (R): Ružovský; (S): Sokolnický; (T): Tišnovský; (V): Vydubeckij. Values in the same column with different letters are significantly different at  $p<0.05$ , all concentrations are in  $\text{mg kg}^{-1}$

### 3. Conclusion

This study showed that Czech cultivars of cornelian cherry are comparable with the cornelian cherry cultivars grown around Europe and Western Asia in terms of ascorbic acid, polyphenols, anthocyanins, and mineral contents and antioxidant activity. The minor differences in the content of the studied compounds can be caused by several factors, soil type, geographical and environmental conditions, degree of fruit ripeness, manipulation during fruit processing, and selection of analytical methods. From the analysed cultivars the Ekotišnovský, Fruchtal, and Ruzyňský cultivars were evaluated as best in terms of the evaluated parameters and they can be recommended for the breeding programme of cornelian cherry fruit in the Czech Republic.

\*

This work was supported by the National Agency for Agriculture Research, grants No. QH82232 and QI111A141.

### References

- ASLANTAS, R., PIRLAK, R. & GÜLERYÜZ, M. (2007): The nutritional value of wild fruits from the North Eastern Anatolia region of Turkey. *Asian J. Chem.*, 19, 3072–3078.
- BIJELIC, S.M., GOLOŠIN, B.R., NINIC TODOROVIC, J.I., CEROVIC, S.B. & POPOVIC, B.M. (2011): Physicochemical fruit characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes from Serbia. *Hort. Sci.*, 46, 849–853.
- BRINDZA, P., BRINDZA, J., TÓTH, D., KLIMENKO, S.V. & GRIGORIEVA, O. (2009): Biological and commercial characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) population in the gemer region of Slovakia. *Acta Hort.*, 818, 85–94.
- DEMİR, F. & KALYONCU, I.H. (2003): Some nutritional, pomological and physical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *J. Fd Eng.*, 60, 335–341.
- DRISKELL, J.A. (2009): *Upper safe limits of intake for adults: Vitamins and minerals*. NebGuide G1981, UNL Extension, Nebraska. 4 pages
- GÜLERYÜZ, M., BOLAT, I. & PIRLAK, L. (1998): Selection of table cornelian cherry (*Cornus mas* L.) types in Coruh Valley. *Tr. J. Agric. Forest.*, 22, 357–364.
- HASHEMPOUR, A., GHAZVINI, R.F., BAKHSHI, D., GHASEMNEZHAD, M., SHARAFTI, M. & AHMADIAN, H. (2010): Ascorbic acid, anthocyanins, and phenolic contents and antioxidant activity of ber, azarole, raspberry and cornelian cherry genotypes growing in Iran. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 51, 83–88.
- HASSANPOUR, H., HAMIDOGHLI, Y., HAJILO, J. & ADLIPOUR, M. (2011): Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Sci. Hortic.*, 129, 459–463.
- KALYONCU, I.H., ERSOY, N. & YILMAZ, M. (2009): Physico-chemical and nutritional properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Asian J. Chem.*, 21, 6555–6561.
- KRATCHANOVA, M., DENEV, P., CIZ, M., LOJEK, A. & MIHALIOV, A. (2010): Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. *Acta Biochim. Pol.*, 57, 229–234.
- KUCHARSKA, A.Z., SOKOL-LETOWSKA, A. & PIORECKI, N. (2011): Morfologiczna, fizykochemiczna i przeciwyutleniająca charakterystyka owoców polskich odmian derenia właściwego (*Cornus mas* L.). (Morphological, physicochemical, and antioxidant profiles of Polish varieties of cornelian cherry fruit (*Cornus mas* L.)) *Zywn.-Nauk Technol. Jakosc*, 18, 78–89.
- MAGHRADZE, D., ABASHIDZE, E., BOBOKASHVILI, Z., TCHIPASHVILI, R. & MAGHLAKELIDZE, E. (2009): Cornelian cherry in Georgia. *Acta Hortic.*, 818, 65–72.
- PANTELIDIS, G.E., VASILAKAKIS, M., MANGANARIS, G.A. & DIAMANTIDIS, Gr. (2007): Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Fd Chem.*, 102, 777–783.
- PAPRŠTEJN, F., KOSINA, J., SEDLÁK, J. & ŘEZNIČEK, V. (2009): *Technologie pěstování dřínu obecného* *Cornus mas* L. (Cultivation technology of cornelian cherry *Cornus mas* L.) Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd. 30 pages

- POLOVKA, M. (2006): EPR spectroscopy: A tool to characterize stability and antioxidant properties of foods. *J. Food Nutr. Res.*, 45, 1–11.
- POPOVIC, B.M., ŠTAJNER, D., KEVREŠAN, S. & BIJELIC, S. (2012): Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) – comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Fd Chem.*, 134, 734–741.
- ROP, O., MLCEK, J., KRAMAROVA, D. & JURICOVA, T. (2010): Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as a new food source for human nutrition. *Afr. J. Biotechnol.*, 9, 1205–1210.
- SEERAM, N.P., SCHUTZKI, R., CHANDRA, A. & NAIR, M.G. (2002): Characterization, quantification and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. *J. Agric. Fd Chem.*, 50, 2519–2523.
- TURAL, S. & KOCA, I. (2008): Physico-chemical and antioxidant properties of Cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Sci. Hortic.*, 116, 362–366.
- YILMAZ, K.U., ERCISLI, S., ZENGİN, Y., SENGUL, M. & KAFKAS, E.Y. (2009): Preliminary characterisation of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Fd Chem.*, 114, 408–412.