

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Stanovení vitamínu C v čerstvé a zpracované zelenině

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Marek Pytlík

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Monika Sabolová, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení vitamínu C v čerstvé a zpracované zelenině" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. dubna 2019

Poděkování

Děkuji Ing. Monice Sabolové, Ph.D., za vedení diplomové práce.

A děkuji svým rodičům za podporu, kterou mi během studia poskytovali.

Děkuji.

Stanovení vitamínu C v čerstvé a zpracované zelenině

Souhrn

Cílem diplomové práce bylo stanovení a srovnání obsahu vitamínu C ve vybraných druzích čerstvé, sterilované a mražené zeleniny bezprostředně po zpracování a po skladování. Literární přehled pojednává o vitamínu C, hlavně o jeho vlastnostech a způsobech stanovení a dále o způsobech konzervace zeleniny. Pro sledování vlivu mražení a sterilace zeleniny na obsah askorbové kyseliny bylo zakoupeno celkem 7 druhů zeleniny. Sterilovány byly všechny druhy zeleniny, zmrazeny bez blanširování jen mrkev, petržel, brokolice a květák a zmrazena po procesu blanširování pouze brokolice. U zakoupené zeleniny byl v den nákupu stanoven obsah askorbové kyseliny a poté byla část zeleniny sterilována a část zmrazena. U sterilované zeleniny bylo množství askorbové kyseliny stanoveno 1 den, 1 měsíc, 3 měsíce a 6 měsíců od procesu sterilace. Obsah askorbové kyseliny byl u mražených vzorků zeleniny stanoven po 1, 3 a 6 měsících skladování, přičemž neblanširovaná zelenina byla skladována při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a blanširovaná při -20 a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Získaná data byla zpracována v programech Statistika 12 a Microsoft Excel. U sterilované zeleniny docházelo v průběhu skladování k postupnému, avšak statisticky nevýznamnému, poklesu obsahu askorbové kyseliny. U mražených neblanširovaných vzorků byl pokles po 1 měsíci skladování při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průměru 91 % a u mražených a blanširovaných byl úbytek při skladování při -20 i $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 %.

Hypotéza předpokládající nejvyšší obsah vitamínu C u čerstvých vzorků zeleniny a nejnižší u sterilované zeleniny nebyla potvrzena, jelikož nejnižší obsah vitamínu C byl stanoven u 6 měsíců skladované mražené neblanširované zeleniny. Další hypotéza, jež předpokládala pokles obsahu vitamínu C s délkou skladování, taktéž nebyla potvrzena. Hypotéza předpokládající obsahu vitamínu C pod limitem detekce po 6 měsících mrazírenského skladování nebyla potvrzena pro brokolici, ale u ostatních druhů neblanširované mražené zeleniny (mrkev, petržel a květák) byl obsah askorbové kyseliny po 6 měsících pod limitem detekce. Předpoklad, že obsah vitamínu C bezprostředně po sterilaci klesne na polovinu ve srovnání s čerstvou zeleninou, byl potvrzen – průměrný úbytek askorbové kyseliny byl 57 %.

Klíčová slova: Vitamín C, zelenina, stabilita, mražení, sterilace

Determination of vitamin C in fresh and processed vegetables

Summary

The objective of this diploma thesis was to determine and compare amount of vitamin C content in chosen kinds of fresh, frozen and sterilized vegetables. Vitamin C content was determined immediately after processing and storage. Compilation of literature deals with vitamin C, mainly its properties and methods of determination, as well as methods of preserving vegetables. A total of 7 kinds of vegetables were purchased to monitor the effects of freezing and sterilizing on the ascorbic acid content. All 7 kinds of vegetables were sterilized. Samples of carrot, parsley, broccoli and cauliflower were frozen without blanching and then only broccoli alone was frozen after blanching process. Ascorbic acid content was determined for purchased vegetables on the day of purchase and after that remaining vegetables were sterilized and frozen. For sterilized vegetables, the amount of ascorbic acid was determined 1 day, 1 month, 3 months and 6 months after the sterilization process. The ascorbic acid content of frozen vegetable samples was determined after 1, 3 and 6 months of storage, while the non-blanching vegetables were stored at -20°C and blanched at -20°C and -70°C . Obtained data were processed in the programs Statistica 12 and Microsoft Excel. Sterilized vegetables showed a gradual but statistically insignificant decrease in ascorbic acid content during storage. For frozen non-blanching samples, the decrease after 1 month of storage at -20°C was on average 91%, and in frozen and blanching, the decrease in storage at -20°C was 5%.

The hypothesis assuming the highest vitamin C content in fresh vegetable samples and the lowest in sterilized vegetables was not confirmed, as the lowest vitamin C content was determined for frozen non-blanching vegetables stored for 6 months. Another hypothesis that assumed a decrease in vitamin C content with storage time was also not confirmed. The hypothesis assuming vitamin C below the detection limit after 6 months of freezing was not confirmed for broccoli, but for other non-blanching frozen vegetables (carrots, parsley and cauliflower) the ascorbic acid content was below the detection limit after 6 months. The assumption that the content of vitamin C is immediately halved after sterilization compared to fresh vegetables was confirmed - the average loss of ascorbic acid was 57 %.

Keywords: Vitamin C, vegetables, stability, freezing, sterilization

Obsah

1 Úvod	9
2 Vědecké hypotézy a cíle práce	10
3 Literární rešerše	11
3.1 Vitamíny	11
3.1.1 Vitamín C	12
3.1.2 Funkce v lidském těle.....	12
3.1.3 Esencialita a biosyntéza.....	12
3.1.4 Zdroje	13
3.1.5 Doporučená denní dávka	14
3.1.6 Hypovitaminóza a avitaminóza	15
3.1.7 Hypervitaminóza a toxicita.....	16
3.1.8 Způsoby stanovení v potravinách	16
3.1.8.1 Titrační stanovení 2,6 – dichlorfenolindofenolem.....	16
3.1.8.2 Jodometrická titrace	16
3.1.8.3 Spektrofotometrické stanovení	17
3.1.8.4 Fluorimetrické stanovení	17
3.1.8.5 Polarografie	17
3.1.8.6 Voltametrie	17
3.1.8.7 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	17
3.1.9 Stabilita.....	19
3.1.10 Askorbát oxidáza.....	19
3.1.11 Ztráty při zpracování a konzervování.....	20
3.2 Zelenina	20
3.2.1 Klasifikace zeleniny	21
3.2.2 Faktory ovlivňující obsah živin	21
3.3 Konzervace potravin	22
3.3.1 Fyzikální metody konzervace	22
3.3.1.1 Blanšírování.....	23
3.3.1.2 Mražení.....	23
3.3.1.3 Sterilování.....	24
3.3.1.4 Paskalizace.....	24
3.3.1.5 Ošetření pulzním tlakovým polem.....	25
4 Metodika	26
4.1 Materiál a přístroje	26

4.1.1	Vzorky zeleniny	26
4.1.2	Seznam použitých chemikálií	26
4.1.3	Přístrojové vybavení.....	26
4.2	Příprava vzorku čerstvé a konzervované zeleniny	27
4.2.1	Příprava vzorku čerstvé zeleniny	27
4.2.2	Příprava vzorku sterilované zeleniny	27
4.2.3	Příprava vzorku mražené zeleniny	28
4.3	Stanovení askorbové kyseliny	28
4.3.1	Příprava roztoků k analýze	28
4.3.1.1	Příprava mobilní fáze	28
4.3.1.2	Příprava extrakčního činidla	28
4.3.1.3	Příprava kalibrační řady.....	28
4.3.2	Příprava vzorků zeleniny k analýze.....	29
4.3.3	Podmínky stanovení askorbové kyseliny metodou HPLC	29
4.4	Statistické vyhodnocení	30
5	Výsledky	31
5.1	Sterilovaná zelenina.....	31
5.1.1	Sterilovaná zelenina – obecně.....	31
5.1.2	Sterilovaná zelenina – jednotlivé druhy	32
5.2	Mražená zelenina neblanšírována.....	33
5.2.1	Mražená zelenina neblanšírování – obecně	33
5.2.2	Mražená zelenina neblanšírování – jednotlivé druhy.....	34
5.2.3	Mražená zelenina – blanšírování.....	34
6	Diskuze	36
6.1	Sterilovaná zelenina.....	36
6.2	Mražená zelenina.....	37
7	Závěr.....	41
8	Literatura	43
9	Seznam příloh.....	50
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Zelenina je, pro svoji vysokou biologickou hodnotu, nenahraditelnou součástí racionální výživy člověka. Konzumace dostatečného množství zeleniny zajišťuje příjem vitamínů i minerálních a dalších biologicky aktivních látek, které jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Jisté druhy zeleniny obsahují i zajímavé množství vitamínu C, jenž se účastní řady fyziologických procesů v lidském těle a hraje tak v metabolismu významnou roli. Mezi jeho nejznámější vlastnosti patří antioxidační účinky a stimulace obranyschopnosti, čímž pomáhá organismu se bránit proti nepříznivým vlivům vnějšího prostředí. Vitamíny patří k velmi labilním složkám potravin, přičemž vitamín C je obecně považován za jeden z nejlabilnějších. Během technologického zpracování i kulinární úpravy dochází u většiny vitamínů vlivem vysokých teplot k jejich ztrátám.

Skutečnost, že v našem podnebném pásu roste a dozrává většina druhů zeleniny pouze v určitou část roku spolu s faktem, že zelenina obsahuje velké množství vody, vede k tomu, že je její sezónní povaha spojena i s krátkou dobou údržnosti. Od okamžiku sklizně, kdy je zelenina oddělena od svého zdroje živin, se počínají odvíjet vnitřní i vnější pochody, které vyúsťují ve ztrátu nutriční kvality a změnu sensorických vlastností. Pro výše zmíněné důvody byly vyvinuty různé způsoby konzervace a zpracování zeleniny, jejichž cílem je zajistit trvanlivost a bezpečnost a zároveň co nejvíce zachovat sensorické vlastnosti a výživovou hodnotu výsledného produktu.

Konzervací se rozumí úmyslný zákrok, prodlužující skladovatelnost suroviny déle než dovoluje její přirozená povaha. Počátky konzervování potravin sahají mnohá staletí do minulosti, jelikož snaha o vytvoření stabilní potraviny při nadbytku komodity, která nemá dlouhou životnost, je stará jako lidská společnost sama. V posledních desítkách let se uplatňují moderní konzervační metody, hlavně mražení a sterilování, díky nimž je zaručena možnost zeleninu konzumovat celoročně a celosvětově – nejen v místě jejího pěstování. Výhodou těchto metod je možnost dlouhodobého skladování, zaručení zdravotní nezávadnosti a zachování určité nutriční kvality produktu. Avšak zpracování a konzervování zeleniny sebou nese i ztráty minerálních látek a vitamínů, u kterých je nejvíce sledován úbytek vitamínu C.

2 Vědecké hypotézy a cíle práce

Cíle práce: Cílem diplomové práce bude v teoretické části zpracovat literární rešerši zaměřenou na obsah vitamínu C zelenině, zejména vlivu zpracování a skladování zeleniny na jeho obsah. V praktické části práce bude stanoven a srovnán obsah vitamínu C ve vybraných druhích čerstvé, sterilované a mražené zeleniny bezprostředně po zpracování a po skladování.

Hypotézy:

Obsah vitamínu C bude nejvyšší u čerstvé a nejnižší u sterilované zeleniny.

Obsah vitamínu C bude klesat s délkou skladování.

Obsah vitamínu C bude pod limitem detekce po 6 měsících mrazírenského skladování.

Obsah vitamínu C bezprostředně po sterilaci klesne na polovinu ve srovnání s čerstvou zeleninou

3 Literární rešerše

3.1 Vitamíny

Termín vitamín je používán pro nízkomolekulární organické látky, jež musí být organismem získávány z potravy, jelikož je sám není schopen syntetizovat v dostatečné míře, která by zachovala integritu životních pochodů a zdraví (Cruz-Rus 2012).

Vitamíny jsou chemicky různorodou skupinou látek. Spolu s minerálními látkami jsou označovány jako mikronutrienty, tj. živiny, které lidské tělo potřebuje pouze v malých množstvích, přičemž je není schopno syntetizovat vůbec, nebo pouze v množství nedostatečném pro pokrytí potřeby metabolismu (Kirk & Othmer 2007).

Dle Velíška & Hajšlové (2009) se vitamíny dělí podle shodné fyzikální vlastnosti – rozpustnosti ve vodě (v polárním prostředí) a v tucích (v nepolárním prostředí) na 2 hlavní skupiny. První skupina jsou vitamíny rozpustné v tucích (lipofilní vitamíny), jmenovitě vitamín A, D, E a K. Druhou skupinou jsou vitamíny rozpustné ve vodě (hydrofilní vitamíny), mezi něž patří vitamíny skupiny B (thiamin – B₁, riboflavin – B₂, niacin – B₃, pyridoxin B₆, pantotenová kyselina – B₅, biotin – B₇, folacin – B₉ a korinoidy – B₁₂) a vitamín C (askorbová kyselina).

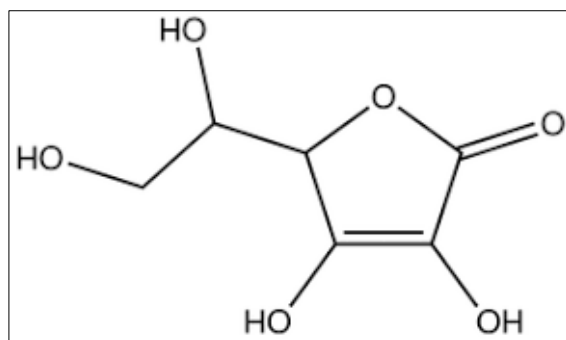
Vitamíny patří mezi živiny, které jsou potřebné pro správný chod řady fyziologických funkcí. Jsou například klíčové pro normální růst a chod metabolismu, jelikož jsou nepostradatelné pro mnoho biochemických reakcí. Vitamíny slouží jako kofaktory enzymů (vitamín A, K, C, tiamin, niacin, riboflavin, pyridoxin, biotin, kobalamin), biologické antioxidanty (vitamín E, C a karotenoidy), kofaktory v oxidačně - redukčních reakcích metabolismu (vitamín E, K, a C, niacin, riboflavin) a některé (vitamín A a D) mají hormonální povahu (Combs 2012).

Vitamíny je potřeba přijímat celý život od dětství přes dospělost až po stáří. U většiny vitamínů jsou lidé v otázce naplnění požadavků na jejich přísun odkázáni výlučně na jejich dietární příjem. Jsou však známé výjimky, např. produkce vitamínu K a biotinu, která se uskutečňuje prostřednictvím určitých mikroorganismů trávicího traktu, syntéza vitamínu D v kůži z jeho prekurzoru cholesterolu, k čemuž je potřeba UVB záření a syntéza niacinu z tryptofanu (Combs 2012).

Důležitost adekvátního příjmu vitamínů i rovnováha minerálních látek je zásadní pro zdraví a prevenci nemocí (Deen 2007).

3.1.1 Vitamín C

Označení vitamín C nebo také askorbová kyselina (AA – ascorbic acid) je všeobecné označení pro sloučeniny kvalitativně vykazující aktivitu vitamínu C. Pod tuto definici spadá pouze L-askorbová kyselina (γ – lakton – L – threo – hex – 2 - enová kyselina), jejíž struktura je zobrazena na Obrázku 1. L – askorbová kyselina je bílá krystalická, ve vodě snadno rozpustná látka (Combs 2012).



Obrázek 1 Struktura vitamínu C (Litwack 2018)

3.1.2 Funkce v lidském těle

Vitamín C je nepostradatelný pro řadu procesů probíhajících v lidském těle. Funguje hlavně jako kofaktor enzymů a antioxidant, který má vliv na prevenci mnohých onemocnění. K nejdůležitějším funkcím patří reakce s reaktivními formami kyslíku (ROS – reactive oxygen species), respektive s volnými kyslíkovými radikály a reakce s oxidovanými formami tokoferolu. Díky redukci zánětlivých mediátorů ovlivňuje i imunitní systém a při vyšších koncentracích působí i bakteriostaticky. Zásadně se také podílí na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu (Gallie 2013; Moskowitz et al. 2018). Navíc dle Valente et al. (2011) vitamín C zvyšuje příjem železa z potravy.

Vitamín C je zapojen do biosyntézy kolagenu, noradrenalinu, tyrozinu z fenylalaninu, hydroxyprolinu z prolinu, hydroxylysinu z lysinu a kortikosteroidů (konkrétně hydrokortizonu) a kortizonu (Kirk & Othmer 2007).

3.1.3 Esencialita a biosyntéza

Vitamín C je esenciální složkou potravy jen pro pár druhů živočichů, kteří ho nejsou sami schopni syntetizovat. Pro většinu obratlovců a pravděpodobně všechny zelené rostliny je obyčejným metabolitem glukózy, nikoliv nezbytnou složkou výživy. Během evoluce došlo ke ztrátě schopnosti biosyntézy askorbové kyseliny u bezobratlých, nadřádu ryb Kostnatých, některých druhů ptáků a některých druhů savců – u řady primátů, včetně člověka, morčat

a netopýrů. Lidé i ostatní výše zmínění živočichové postrádají schopnost syntetizovat L – gulono – 1,4 – lakton a oxidovat ho na L – askorbovou kyselinu, a to kvůli mutaci genu kódující L – gulono – 1,4 – lactoneoxidázu, poslední enzym v askorbátovém biosyntetickém řetězci (Gallie 2013).

Nehledě na to zda je vitamín C přijat z vnějších zdrojů, či syntetizován vlastním organismem je askorbová kyselina, jak již bylo zmíněno důležitá pro řadu fyziologických dějů (Combs 2012).

3.1.4 Zdroje

Vitamín C je široce rozšířen v rostlinách i živočiších, kde se většinou (z 80 – 90 %) nachází ve formě askorbové kyseliny a v menší míře pak ve formě dehydroaskorbové kyseliny (DHA – dehydroascorbic acid). Za nejlepší rostlinné zdroje je považováno ovoce a zelenina, v živočišných zdrojích se pak vitamín C, ve významnějším množství, nachází ve vnitřních orgánech, jmenovitě ledvinách a játrech, naopak, jak uvádí Tabulka 1, svalovina ho téměř neobsahuje (Combs 2012).

Tabulka 1 Průměrný obsah vitamínu C v produktech živočišného původu (Velíšek & Hajšlová 2009)

Potravina	mg.100 g ⁻¹ jedlého podílu
Maso	10 – 20
Vnitřnosti	300 – 500
Mléko	5 – 20

Dle Cruz-Rus (2012) jsou potraviny rostlinného původu, hlavně pak ovoce a zelenina, hlavním zdrojem vitamínu C v lidské výživě (viz Tabulka 2 a 3). V obsahu vitamínu C a jeho umístění v jednotlivých rostlinných orgánech existuje vysoká variabilita. Dle Hui (2016) patří mezi hlavní zdroje vitamínu C v rámci zeleniny brambory, růžičková kapusta, květák, zelí, listová zelenina a paprika. K ovoci bohatému na vitamín C se řadí citrusové plody, kiwi, papája, černý rybíz a šípky.

Tabulka 2 Průměrný obsah vitamínu C ve vybraných druzích zeleniny
(Velíšek & Hajšlová 2009)

Potravina	mg.100g⁻¹ jedlého podílu
Mrkev	5 – 10
Petržel kořenová	23
Cibule	9 – 13
Česnek	15 – 16
Křen	45 – 120
Zelí	17 – 70
Kapusta růžičková	100 – 113
Brokolice	110 – 113
Špenát	35 – 84
Květák	54 – 68
Paprika	62 – 300
Hrášek	8 – 41
Brambory	8 – 40

Tabulka 3 Průměrný obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce
(Velíšek & Hajšlová 2009)

Potravina	mg.100 g⁻¹ jedlého podílu
Jablka	1 – 5
Švestky	2,5 – 4,5
Broskve	7 – 10
Angrešt	33 – 48
Rybíz červený	200– 50
Rybíz černý	110 – 300
Hroznové víno	2 – 5
Jahody	40 – 70
Pomeranče	30 – 60
Citrony	30 – 64
Banány	9 – 32
Kiwi	70 – 127
Papája	62 – 98
Šípky	250 – 1000

3.1.5 Doporučená denní dávka

Doporučený denní příjem vitamínu C je pro jednotlivá pohlaví a věkové kategorie různý. V Tabulce 4 je uveden doporučený denní příjem podle hodnot německé, rakouské a švýcarské společnosti pro výživu DACH z roku 2015 (SGE – SNN 2019).

Tabulka 4 Doporučený denní příjem vitamínu C (SGE – SNN 2019)

Věk	Dávka v mg/den	
	muži	ženy
0 – 4 měsíce		20
4 – 12 měsíců		20
1 – 4 roky		20
4 – 7 let		30
7 – 10 let		45
10 – 13 let		65
13 – 15 let		85
15 – 19 let	105	90
19 – 25 let	110	95
25 – 51 let	110	95
51 – 65 let	110	95
65 a více let	110	95
Těhotné (od 4. měsíce)	-	105
Kojící	-	125

3.1.6 Hypovitaminóza a avitaminóza

Hypovitaminóza, nedostatečný příjem vitamínu C, se projevuje zvýšenou únavou, náchylností k zánětlivým onemocněním, poruchami spánku, nebo snížením celkové vitality. Dále se projevuje poškozením pojivových tkání, křehkostí kapilár, hemoragií a svalovou slabostí. Hypovitaminóza se týká 5 – 15% celosvětové populace (Chambial 2013).

Vážný nedostatek vitamínu C (avitaminóza) vede ke kurdějím, onemocnění, jehož symptomy jsou spojeny s oslabením tkání obsahující kolagen, což představují hlavně cévy, žíly, pojivové tkáně a kosti. Mezi příznaky kurdějí patří únava, vypadávání vlasů a zubů, pomalé a zhoršené hojení ran, krvácení z dásní, narušování a otevírání jizev a bolest končetin i kloubů. Pro prevenci kurdějí je stanoven minimální denní příjem 10 mg vitamínu C (Cruz – Rus 2012).

3.1.7 Hypervitaminóza a toxicita

Dle Chambial et al. (2013) jsou vysoké až extrémně vysoké dávky vitamínu C široce využívány pro léčbu a prevenci řady onemocnění (hypertenze, diabetických obtíží, aterosklerózy, běžného nachlazení, šedého i zeleného zákalu, mrtvice, chorob srdce, karcinogeneze i samotných nádorových onemocnění).

Vzhledem k tomu, že vitamín C je rozpustný ve vodě, je jeho případný nadbytek tělem snadno vyloučen a projevy toxicity jsou velmi vzácným jevem. Vitamín C je metabolizován na oxalovou kyselinu a jeho nadměrný příjem může způsobit zvýšenou exkreci oxalátu, což může vést ke vzniku ledvinových kamenů. Nadměrné dávky vitamínu C mohou mít i další vedlejší efekty, jako je nevolnost, průjem, zvracení, nespavost, bolesti hlavy a břišní křeče. Tolerovaný denní příjem byl proto stanoven na 2000 mg (Deen 2007).

3.1.8 Způsoby stanovení v potravinách

Pro stanovení askorbové kyseliny je využíváno množství analytických metod od jednoduchých titrací po složitější a přístrojově náročnější metody, k nimž například patří fluorimetrie, voltametrie, spektrofotometrie a vysoce účinná kapalinová chromatografie (Elgailani, 2017).

3.1.8.1 Titrační stanovení 2,6 – dichlorfenolindofenolem

Principem titračního stanovení je extrakce askorbové kyseliny ze vzorku roztokem kyseliny šťavelové nebo roztokem kyseliny metafosforečné a octové, po níž následuje titrace 2,6 – dichlorfenolindofenol do světle růžového zbarvení. 2,6 – dichlorfenolindofenol oxiduje askorbovou kyselinu na dehydroaskorbovou a sám je redukován na bezbarvou sloučeninu (Kubáň, 2007).

3.1.8.2 Jodometrická titrace

Askorbovou kyselinu lze též stanovit přímou jodometrickou titrací. Podstatou jodometrie jsou oxidační a redukční účinky jódu a jeho sloučenin. Při této metodě je využita redukce jódu na jodid a oxidace jodidu na jód. Je používáno též 2 odměrných roztoků, a to jódu a thiosíranu sodného. Indikátorem je škrobový maz, jenž za studena vytváří spolu s roztokem jódu intenzivní modré zbarvení. Stanovení přesné koncentrace jodu se provádí pomocí odměrného roztoku thiosíranu sodného o známé koncentraci (Bartoš et al. 2014).

3.1.8.3 Spektrofotometrické stanovení

U spektrofotometrického stanovení se askorbová kyselina v přítomnosti kyseliny octové oxiduje bromovou vodou na dehydroaskorbovou kyselinu, která následně kondenzuje s 2,4 – dinitrofenylhydrazinem. U vzniklého červeně zbarveného komplexu, tzv. osazonu, je změřena absorbance. Absorbance se měří ve viditelné oblasti spektra, obvykle při 521 nm (Rahman - Khan 2006).

3.1.8.4 Fluorimetrické stanovení

Principem fluorimetrického stanovení je kondenzační reakce dehydroaskorbové kyseliny s o-fenylendiaminem. Při této reakci vzniká fluoreskující chinoxalinový derivát, který je detekován při emisní vlnové délce 430 nm a excitační vlnové délce 350 nm (Eitenmiller et al. 2008).

3.1.8.5 Polarografie

Podstatou polarografického stanovení je elektrochemická oxidace askorbové kyseliny na rtuťové kapkové elektrodě s obnovovaným povrchem. Množství askorbové kyseliny je určeno z výšky výsledné dvouelektrodové anodické vlny (Gupta 2015).

3.1.8.6 Voltametrie

Principem voltametrie je sledování a vyhodnocování křivek závislosti procházejícího proudu na proměnlivém potenciálu, který je vkládán na pracovní elektrodu při elektrolýze analyzovaného roztoku. Projevem oxidace askorbové kyseliny je vznik tzv. anodické vlny na zobrazené křivce, přičemž plocha této vlny odpovídá množství stanovené kyseliny (Kračmarová et al. 2012).

3.1.8.7 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie, známy též pod anglickým termínem high performance liquid chromatography (HPLC) se používají ke stanovení askorbové i dehydroaskorbové kyseliny. Vzhledem k tomu, že obě sloučeniny vykazují při různých způsobech detekce odlišné odpovědi, je pro určení množství obou kyselin pomocí jedné detekční metody zapotřebí převedení jedné formy na druhou, nebo propojení dvou detekčních technik (Nováková et al. 2008).

3.1.8.7.1 UV detekce

UV detekce je nejpoužívanější technikou detekce askorbové kyseliny u HPLC. Askorbová kyselina vykazuje absorpční maximum v rozmezí vlnových délek 245 – 265 nm, přičemž přesná hodnota je závislá od pH mobilní fáze. Dehydroaskorbová kyselina v roztoku absorbuje při vlnové délce 185 nm, nad 220 nm vykazuje jen slabou absorbanci. Pro společné stanovení AA a DHA, je v prvním kroku stanovena samotná askorbová kyselina, pak provedena redukce dehydroaskorbové kyseliny použitím 4,5 – dimetyl – 1,2 – fenylendiaminu. Ve většině případů je UV detekce používána pro stanovení pouze AA, neboť DHA má UV oblasti špatnou absorpci (Nováková et al. 2008).

3.1.8.7.2 Fluorescenční detekce

Askorbová ani dehydroaskorbová kyselina nejsou přirozeně fluorescenční. Fluorescenční detekce askorbové kyseliny je možné po její oxidaci na kyselinu dehydroaskorbovou a následné derivatizaci, jež se často používá ke zvýšení citlivosti detekce a eliminaci rušivých vlivů složitých matic. Jako derivatizační činidlo je používán o – fenylldiamin, který společně s DHA vytváří fluorescentní chinoxalinový derivát 3 – (1,2dihydroxyethyl)furol[3,4 – b]chinoxalin – 1 – on. Detekce je prováděná při excitační vlnové délce 355 nm a emisní vlnové délce 425 nm (Nováková et al. 2008).

Při společném stanovení se často využívá dvojí detekce, kdy je askorbová kyselina detekována UV detektorem a dehydroaskorbová kyselina fluorescenčním detektorem (Nováková et al. 2008).

3.1.8.7.3 Elektrochemická detekce

Askorbová kyselina je oproti elektrochemicky inaktivní DHA poměrně reaktivní a lehce detekovatelná pomocí coulometrických a amperometrických detektorů. Pro elektrochemickou detekci je typická vyšší citlivost a specifčnost, díky níž lze dosáhnout redukce interferujících sloučenin zkoumané matrice. K nevýhodám této metody patří dlouhá doba potřebná k ekvilibraci kolony a nutnost konstantní iontové síly a pH pufrů proudících přes elektrochemický detektor (Nováková et al. 2008).

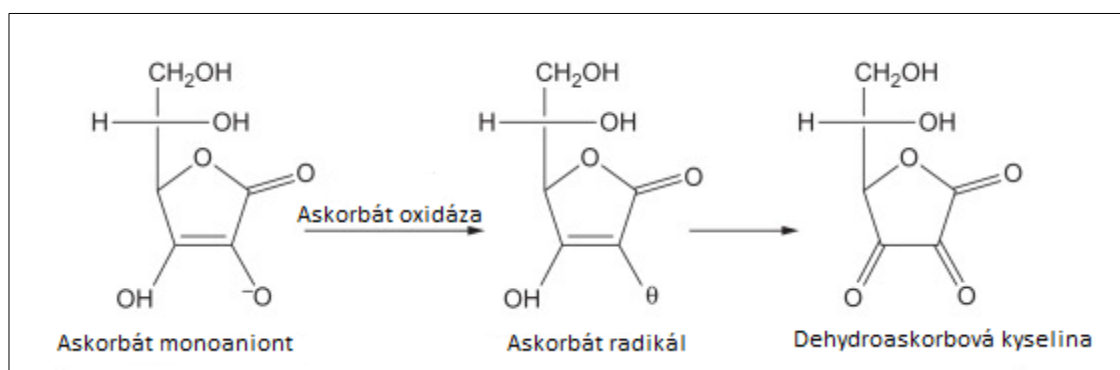
3.1.8.7.4 Hmotnostní detekce

Pro současné stanovení AA a DHA je využívána kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC – MS/MS) s trojitým kvadrupólem. Tato metoda je jednoduchá, nevyžaduje žádné derivatizační kroky, zahrnuje pouze krátkou přípravu vzorku a čas analýzy nepřesahuje 5 minut (Fenoll et al. 2011).

3.1.9 Stabilita

Pro použití vitamínů v potravě, či krmivu, výživových doplncích a léčivech je zásadní jejich stabilita. Askorbová kyselina patří mezi nejméně stabilní vitamíny. Jelikož je velmi náchylná k oxidaci, musí být chráněna před působením vyšších teplot, kyslíku, iontů kovů (hlavně Fe^{2+} a Cu^{2+}) a ultrafialového záření. Její množství v potravinách je tak značně variabilní a je do velké míry ovlivněno právě výrobními a konzervačními postupy. U askorbové kyseliny probíhá navíc během výroby či skladování potravin i její degradace vlivem enzymových reakcí (viz Obrázek 2), kterých se účastní oxidázy přítomné v rostlinných pletivech (např. askorbát oxidáza). Obsah askorbové kyseliny v potravinách, tak může vlivem těchto reakcí dramaticky klesat (Combs 2012).

K největším ztrátám askorbové kyseliny dochází během dlouhodobého skladování potravin a při kulinární úpravě, hlavně pak při vaření. Naopak krátké vystavení vysokým teplotám při blanšírování, může zabránit jeho dalším ztrátám během skladování díky inaktivaci oxidáz (Tewari 2016).



Obrázek 2 Struktura askorbové kyseliny a produktů její oxidace (Litwack 2018)

3.1.10 Askorbát oxidáza

Dle Al-Soufi (2016) je askorbát oxidáza rostlinný enzym přítomný volně v cytosolu a vázaný na membránách v buněčných stěnách. Patří do skupiny oxidoreduktáz. Svoji aktivitou ovlivňuje stabilitu askorbové kyseliny, tím že katalizuje oxidaci její aktivní formy L – askorbové kyseliny na dehydroaskorbovou kyselinu. Afinity askorbát oxidázy k L – askorbové kyselině je různá u každého druhu i kultivaru plodiny (Leong et al. 2014).

Stabilita a aktivita přirozeně se vyskytujících enzymů v ovoci i zelenině se různí v závislosti na stupni zralosti, pěstebních podmínkách, posklizňové manipulaci a zpracování (Raseetha et al. 2013).

Pro prodloužení údržnosti potravin je často ovoce i zelenina pro inaktivaci askorbát oxidázy při zpracování tepelně ošetřena (Leong et al. 2014). Dle Ibupoto et al. (2011) s narůstající teplotou ošetření narůstá i míra inaktivace askorbát oxidázy. Leong et al. (2014) popisuje inaktivaci askorbát oxidázy v rozmezí teplot (60 - 80 °C), přičemž v rozmezí 60 – 70 °C vede pouze k částečné inaktivaci enzymu. Kompletní inaktivace enzymu nastává při ošetření 80 °C a vyšším.

3.1.11 Ztráty při zpracování a konzervování

Dle Igwemmar et al. (2013) sebou způsob kulinární přípravy pokrmů i metody konzervace potravin nese různou úroveň degradace askorbové kyseliny. Roli zde sehrává i samotný druh potravin. Výsledné ztráty askorbové kyseliny jsou vzhledem k rozličným možnostem konzervace a přípravy pokrmů velice variabilní.

Rickman et al. (2007) uvádí průměrné ztráty askorbové kyseliny při zavařování zeleniny v hodnotách 60 – 80 %, u zeleniny mražené včetně předchozího blanšírování popisuje ztráty v rozmezí 30 – 50 % a u domácí kuchyňské přípravy pokrmů uvádí průměrné ztráty 15 – 55 %. Pacier & Martirosyan (2015) uvádějí průměrné ztráty askorbové kyseliny při přípravě zeleniny u vaření 50,9 %, při smažení 29,9 % a u dušení v páře 14,3 %.

Při skladování čerstvé zeleniny jsou ztráty živin závislé především na teplotě a době skladování. Skladováním při pokojové teplotě 20 °C dosahují ztráty askorbové kyseliny během týdne u čerstvé zeleniny 30 – 100 % a při teplotě 4 °C 30 – 60 %. Při mrazírenském skladování při -20 °C po dobu jednoho roku dochází k 20 – 50% průměrným ztrátám askorbové kyseliny (Rickman et al. 2007).

3.2 Zelenina

Podle Hounscome et al. (2008) se jako zelenina označují jedlé části kulturních jednoletých nebo dvouletých rostlin v syrovém či vařeném stavu.

Zelenina obohacuje náš jídelníček a zvyšuje jeho rozmanitost. Obsahuje nejen základní živiny, jako jsou sacharidy, bílkoviny a tuky, ale je zásadním zdrojem minerálních látek, vitamínů, sekundárních metabolitů rostlin a bioaktivních látek (karotenoidy, fenolické a organosírové sloučeniny), které jsou nezbytné pro správné fungování těla a podporu zdraví (Pitrat 2015).

Zelenina přispívá k pestré stravě nejen cennými živinami, ale i rozmanitou nabídkou chutí, barev a textury. Až na jisté výjimky obsahuje zelenina málo bílkovin a tuků, hodně vody a málo sušiny. Pro tyto důvody je zelenina důležitou součástí stravy, nikoli její hlavní složkou (Boeing 2012).

3.2.1 Klasifikace zeleniny

Dle Siqqid (2018) je rozdělení zeleniny neoddělitelně spjata s biologií samotných rostlin. Existují tři způsoby rozřívání zeleniny na základě společných vlastností a znaků. Zelenina se dělí podle:

- jedlých částí rostlin (listová, kořenová, plodová, lusková, cibulová, košťálová, kořeninová a ostatní zelenina)
- ekologických požadavků (teplota, světlo, voda)
- taxonomie (botanická klasifikace).

3.2.2 Faktory ovlivňující obsah živin

Primárním faktorem určujícím obsah živin v zelenině je genetický potenciál dané rostliny. Tento potenciál nebývá často naplněn vzhledem k vlivům vnějšího prostředí, které ovlivňují růst i výnos plodiny a v konečném důsledku i kvalitu potravin. Teplota, srážky, světlo, dostupnost a přijatelnost půdních živin jednotlivě i společně působí na růst a vývoj rostlin. Mezi další vlivy prostředí patří znečištění ovzduší, vlastní pěstební postupy, kompetice mezi rostlinami a vliv chorob a škůdců (Rubatzky & Yamaguchi 2012).

Obsah živin sklizených produktů dosahuje nejvyšších hodnot v čase sklizně, poté již pouze klesá. Míra poklesu obsahu živin je ovlivněna časem a podmínkami manipulace a skladování. Poškození během manipulace, světlo i teplota mohou redukovat obsah živin i senzorickou kvalitu sklizeného produktu. Optimální teplota a vlhkost jsou klíčové pro minimalizování ztráty potravin a ztrát živin. U zeleniny je doporučována teplota v závislosti na druhu od 0 – 10 °C a relativní vzdušná vlhkost 90 – 100 %. K poklesu obsahu živin dochází také při přípravě pokrmů. Mytí, krájení, loupání, blanšívání a vaření mohou vést k oxidaci a vyluhování některých živin (Sudheer & Indira 2007)

Zelenina a ovoce po sklizni stráví určitý čas transportem a poté vlastním skladováním před nákupem spotřebitelem, u něhož může dalších až několik dní čekat na zpracování, či konzumaci. Na obsah vitamínů, minerálních látek a fytochemikálií mají vliv podmínky

transportu, skladování, vlastní odrůda a stupeň zralosti. Spousta odrůd ovoce i zeleniny v obchodních řetězcích není vybírána pro obsah živin, ale pro svůj vzhled, výnos a schopnost ustát dlouhý transport (Welbaum 2015).

3.3 Konzervace potravin

Potraviny jsou konzervovány pro prodloužení jejich trvanlivosti. Mezi další důvody konzervace patří zajištění bezpečnosti, přijatelnosti (senzorické vlastnosti) a výživové hodnoty potravin. Od okamžiku sklizení rostlinných produktů začíná proces změn, který vede až k jejich postupné zkáze, která je způsobena dvěma ději. Prvním je autolýza buněk, neboli jejich samozničení, vyvolané přítomností enzymů v potravine a druhým je vniknutí mikroorganismů do těchto narušených buněk a jejich následná aktivita. Tyto mikroorganismy pak způsobují změny ve vůni, chuti, textuře, barvě i výživové hodnotě potravin. Pro efektivní konzervaci potravin je zapotřebí zabránit oboum výše zmíněným dějům (Barrett & Lloyd 2011).

Existují 3 typy metod konzervování potravin, a to fyzikální, chemické a biologické. Fyzikální způsoby zahrnují působení vysokých a nízkých teplot, filtraci, snížení vodní aktivity (a_w), změnu osmotického tlaku, ozařování a další. Mezi chemické metody se řadí použití chemických antimikrobiálních látek, jako jsou některé potravinovářské přídatné látky, označované jako aditiva a dalších podobných látek. Biologické metody zahrnují využití mikroorganismů, které zabraňují aktivitě jiných nechtěných mikroorganismů. Do biologických metod patří kvašení a tvorba antimikrobiálních látek v potravinách (Erkmen & Bozoglu 2016). Při konzervování zeleniny je možné použít všech třech uvedených způsobů, níže však budou zmíněny pouze fyzikální způsoby konzervace zeleniny (Barrett & Lloyd 2011).

3.3.1 Fyzikální metody konzervace

Fyzikální metody konzervace potravin se spoléhají na ošetření vedoucí k potlačení, zničení či odstranění nežádoucích mikroorganismů, jež nezahrnuje požití antimikrobiálních aditiv nebo produktů metabolismu jiných mikroorganismů jakožto konzervačního činitele. Mikrobiální růst může být utlumen snížením vodní aktivity (např. sušením) a pomocí působení chladu či mrazu. Mikroorganismy mohou být též zničeny (nebo nevratně inaktivovány) pomocí fyzikálního mikrobicidního ošetření, mezi něž patří působení vysokých teplot, UV a ionizující záření. Lze též využít ošetření netermálními technikami, k nimž se řadí paskalizace (použití vysokého tlaku), působení pulzního elektrického pole a oscilujícího magnetického pole. U potravin v kapalném stavu může dojít k mechanickému odstranění mikroorganismů pomocí membránové filtrace (Ranjan et al. 2017).

3.3.1.1 Blanšírování

Blanšírování je důležitá operace v procesu konzervování zeleniny mrazem. Blanšírování je krátkodobé (1 - 5 minut) vystavení zeleniny či ovoce působení vroucí vody, nebo páry v rozmezí teplot 80 – 99 °C a následné zchlazení ve studené vodě. Tento proces předchází mrazení a provádí se pro inaktivaci enzymů, hlavně oxidoreduktáz, odpovědných za kvalitativní degradaci suroviny. Jejich aktivita, může vést ke změně barvy potraviny, nebo snížení její výživové hodnoty. Navíc díky blanšírování dochází k výrazné redukci počtu mikroorganismů na povrchu zpracované potraviny a zlepšení barvy zelených druhů zeleniny (Ranjan et al. 2017).

Dle Barrett & Lloyd (2011) největší podíl ztrát, které se vyskytují u mražené zeleniny, je dán právě blanšírováním. Je to jednak v důsledku tepelné degradace a také kvůli vyluhování živin a vitamínů do okolního média. Hodnoty ztrát živin během blanšírování se u zeleniny pohybují v desítkách procent. Velikost ztrát dále závisí sklizňovém poškození, velikosti částí produktu, způsobu přípravy a podmínkách blanšírování a při průmyslovém blanšírování zeleniny také na typu blanšeru.

3.3.1.2 Mražení

Mražení představuje metodu konzervování, která poskytuje snížení vodní aktivity pod úroveň mikrobiální činnosti a současně redukuje stupeň chemických reakcí. Před vlastním zmrazením bývá zelenina vystavena krátkému blanšírování (Barrett & Lloyd 2011).

Mražení je ochlazování prostoru a v něm uloženého produktu na teplotu sahající různou měrou pod úroveň bodu mrazu. Nejčastěji se využívá ke konzervaci potravin. Mražení má tu výhodu, že zachovává potravinu ve stavu nejvíce podobném čerstvé potravine. Avšak i během zmrazování podléhá potravina jistým změnám. Dochází k tvorbě ledových krystalků a roztrhávání buněk. Při rychlém mražení se vytváří krystalky malé, které způsobují menší poškození buněk, oproti zmrazování pomalému, které vede k tvorbě větších krystalků a vyvolává větší poškození buněk, a tím i větší ztráty šťávy a s ní i nutričně cenných látek (Adegoke & Olapade 2012).

3.3.1.3 Sterilování

Dle Adegoke & Olapade 2012 je sterilování konzervace potravin působením vysokých teplot po určitou dobu, která vede k eliminaci mikroorganismů, jež by mohly vést ke kažení potravin, nebo které by mohly tvořit bakteriální toxiny. U potravin s nižší kyselostí, při hodnotách pH pod 4 se termosterilace provádí při teplotách 80 – 95 °C (Kadlec et al. 2009).

Sterilovaná zelenina je v procesu výroby nechaná v celku nebo dělena na menší části. Obvykle bývá zalita sladkokyselým či slaným nálevem (viz Tabulka 6). Nálev je charakteristický obsahem octa, soli, cukru a koření (Kadlec et al. 2009).

U sterilování může dojít k významným ztrátám živin. Avšak míra ztrát je vysoce variabilní a je ovlivněna různými faktory, jako např. materiálem nádoby, pH potravin, typem sterilizátoru i způsobem přenosu tepla (kondukce, konvekce). Pro zeleninu jsou typické ztráty askorbové kyseliny přes 50 %, u ovoce jsou ztráty zpravidla nižší, a to díky stabilizačnímu efektu nižšího pH, viz Tabulka 5 (Barrett & Lloyd 2011).

Tabulka 5 Hodnota pH u vybraných druhů ovoce a zeleniny (Srivastava & Kumar 2014)

Název třídy	Hodnota pH	Druhy
Slabě kyselé	Nad 5	Hrách, bílé fazole, chřest, květák, brambory, špenát, kukuřice, řepa salátová
Středně kyselé	4,5 – 5,0	Mrkev, ředkev vodnice, zelí, dýně, zelené fazole
Kyselé	3,7 – 4,5	Rajčata, hrušky, banán, mango, ananas, broskev, jablko
Silně kyselé	Pod 3,7	Citrusové plody, švestky, kysané zelí

3.3.1.4 Paskalizace

Paskalizace, také známá pod anglickým termínem high pressure processing (HPP) je technologie ošetření potravin působením vysokého tlaku. Výhodou této netermální metody je inaktivace mikroorganismů, zachování přirozeného vzhledu, organoleptických vlastností i výživové hodnoty potravin. Při paskalizaci je potravina uzavřena do pružného obalu a umístěna do tlakové komory vysokotlakého lisu, který je následně naplněn kapalným médiem pro přenos tlaku – většinou vodou. Po uzavření lisu působí na potravinu tlak 100 – 600 MPa

po dobu 2 – 15 minut v závislosti na jejím druhu. Nejčastěji se využívá při zpracování masa, šunek, uzenin, mořských plodů a dále k výrobě zeleninových a ovocných šťáv, džusů a rostlinných mlék (Huang et al. 2017).

3.3.1.5 Ošetření pulzním tlakovým polem

Ošetření pulzním elektrickým polem, neboli také elektroporace je metoda ošetření rostlinných tkání, která vzhledem ke své netermální podstatě zajišťuje zachování sensorické i nutriční kvality potravin, navíc při jejím použití dochází k snížení enzymatické aktivity a inaktivaci nebezpečných mikroorganismů a tím k prodloužení údržnosti potravin. Principem je prostoupení elektrické energie do ošetřované potraviny, kde dojde ke změně polarity buněk mikroorganismů, což vede v důsledku destabilizace tuků a bílkovin k permeabilitě buněčných membrán. Podle síly pulsu může být permeabilita reverzibilní či ireverzibilní. Následkem nevratné permeabilizace je buněčná smrt. Je to metoda využívaná k extrakci šťáv a cenných složek z rostlinných tkání (antokyanů, bílkovin a tuků) i mikroorganismů (mikrořas), dehydrataci tkání a k výše zmíněné mikrobiální inaktivaci u tekutých a kašovitých potravin (Mahnič-Kalamiza et al. 2014).

4 Metodika

4.1 Materiál a přístroje

4.1.1 Vzorky zeleniny

Pro sledování vlivu mražení a sterilace zeleniny na obsah askorbové kyseliny bylo v obchodním domě LIDL v Horoměřicích zakoupeno celkem 7 druhů zeleniny. Zakoupená mrkev, petržel, červená paprika, bílé a červené zelí pocházeli z České republiky, brokolice byla původem z Polska a květák z Německa. Pro sledování vlivu blanšírování na obsah askorbové kyseliny u mražené zeleniny byla dodatečně zakoupena brokolice (původ ze Španělska).

4.1.2 Seznam použitých chemikálií

- Askorbová kyselina p. a. (Lach-ner, Česká republika)
- Kyselina metafosforečná (Honeywell – Fluka, USA)
- Kyselina o-fosforečná čistá, min. 85 % (Lachema, Česká republika)
- Metanol, HPLC grade (Lach-ner, Česká republika)

4.1.3 Přístrojové vybavení

- Digitální analytické váhy Mettler AE 200 (Mettler - Toledo)
- Kapalinový chromatograf modulový (Dionex, USA)
 - Nástříkový ventil Rheodyne 7725 i (Rheodyne, USA)
 - Pumpa P680 HPLC (Dionex, USA)
 - Termostat kolony Thermostatted Column Compartment TCC – 100 (Dionex, USA)
 - Detektor UVD340U (Dionex, USA)
 - Stolní počítač LYNX s počítačovým softwarem Chromeleon
- Plotýnkový ohřivač (ETA, Česká republika)
- Zavařovací hrnec ABC automatic 671.7 (ABC)
- Ruční mixér mixSy VG-022-K (Zepter, Itálie)
- Přístroj na deionizovanou vodu (Millipore Mili-Q Plus, USA)
- Ultrazvuková lázeň (Tesla, Česká republika)
- Lednice (Gorenje, Slovinsko)
- Mrazicí box mrazicí na -70 °C (SANYO, Japonsko)
- Mrazicí box mrazicí na -20 °C (Whirlpool)

4.2 Příprava vzorku čerstvé a konzervované zeleniny

4.2.1 Příprava vzorku čerstvé zeleniny

Část zeleniny, která byla určena pro stanovení obsahu askorbové kyseliny v čerstvých vzorcích, byla po jednotlivých druzích očištěna (v případě potřeby zbavena natě, vnějších listů, košťálů či stopek a semínek), nakrájena, a tak připravena k homogenizaci.

4.2.2 Příprava vzorku sterilované zeleniny

Část zeleniny, která byla určena pro stanovení obsahu askorbové kyseliny ve sterilovaných vzorcích, byla po jednotlivých druzích očištěna (v případě potřeby zbavena natě, vnějších listů, košťálů či stopek a semínek), nakrájena a poté vložena do zavařovacích sklenic (každý druh do 4 sklenic) a zalita připraveným nálevem (viz Tabulka 6). Zavičkované sklenice pak byly umístěny do sterilizačního hrnce a v něm po dobu 20 minut sterilovány při teplotě 80 °C. Zavařená zelenina byla poté skladována do doby analýzy v temnu při teplotě 10 °C. Analýza sterilované zeleniny probíhala ve 4 termínech, a to bezprostředně po sterilaci a následně 1, 3 a 6 měsíců po sterilaci. Ve stanovené době byly jednotlivé sklenice otevřeny, obsah byl přecezen přes kuchyňské síto, a tak byly sterilované vzorky připraveny k homogenizaci.

Tabulka 6 Složení nálevu (Czech news center 2019)

Přísada	Množství
Voda	3,8 l
Ocet	1 l
Sůl	160 g
Cukr krupice	300 g
Hořčičné semínko	2 polévkové lžíce
Pepř celý	20 ks
Nové koření	12 ks
Bobkový list	4 ks

4.2.3 Příprava vzorku mražené zeleniny

Zelenina určena pro stanovení obsahu askorbové kyseliny ve vzorcích skladovaných při mrazírenských teplotách byla po jednotlivých druzích očištěna, nakrájena a poté vložena do mikrotenových sáčků (každý druh do 2 sáčků) a ty byly uloženy do mrazicího boxu a skladovány při teplotě -20 °C. Analýza mražených vzorků zeleniny probíhal ve 2 termínech, a to 1 a 3 měsíce od zmrazení. Ve stanovené době byly jednotlivé vzorky vybrány z mrazicího boxu, rozmrazeny během 3 - 5 hodin v lednici a následně homogenizovány.

Vliv blanšírování na obsah askorbové kyseliny ve vzorcích mražené zeleniny byl sledován u vzorku brokolice. Brokolice byla očištěna, nakrájena a část z ní byla odebrána a blanšírovaná ve vroucí vodě po dobu 3 minut. Obsah askorbové kyseliny byl stanoven v čerstvém a blanšírovaném vzorku. Dále byly syrové a blanšírované vzorky brokolice umístěny do mrazicích boxů, které zaručovaly teplotu skladování -20 °C a -70 °C. V těchto vzorcích byl po 1 a 3 měsících stanoven obsah askorbové kyseliny.

4.3 Stanovení askorbové kyseliny

4.3.1 Příprava roztoků k analýze

4.3.1.1 Příprava mobilní fáze

Mobilní fáze byla připravena smícháním deionizované vody a metanolu v poměru 760 : 40 ml, následně bylo přidáno 0,2 µl H₃PO₄ pro úpravu pH.

4.3.1.2 Příprava extrakčního činidla

Extrakčním činidlem byl 3 % roztok kyseliny metafosforečné. Extrakční činidlo bylo připraveno rozpuštěním 15 g pevné kyseliny metafosforečné v 500 ml deionizované vody. Rozpuštění kyseliny metafosforečné bylo urychleno použitím ultrazvukové lázně.

4.3.1.3 Příprava kalibrační řady

Nejprve byl připraven roztok askorbové kyseliny o koncentraci 1 g/l. Do 25 ml odměrné baňky bylo naváženo 25 mg askorbové kyseliny a baňka byla po rysku doplněna extrakčním činidlem. Následně bylo ředěním zásobního roztoku extrakčním činidlem připravena kalibrační řada o koncentracích 1, 5, 10, 60, 100 a 150 mg/l.

4.3.2 Příprava vzorků zeleniny k analýze

Vzorky zeleniny (čerstvé, sterilované a mražené) byly homogenizovány ručním mixérem po dobu 20 až 30 sekund. Do 25 ml odměrných baněk bylo naváženo 2,5 g homogenizovaného vzorku a banka byla doplněna po rysku extrakčním činidlem. Odměrná banka se vzorkem byla na 5 minut umístěna do ultrazvukové lázně. Extrahovaný vzorek byl následně přefiltrován přes filtrační papír a dále přes stříkačkový filtr s PTFE membránou (0,45 μm) a byla provedena jeho analýza. Pro každý vzorek byly prováděny vždy 3 paralelní stanovení.

4.3.3 Podmínky stanovení askorbové kyseliny metodou HPLC

Askorbová kyselina byla ve vzorcích zeleniny stanovena metodou kapalinové chromatografie. K separaci vzorku byla použita kolona Luna ® 5 μm C 18 (2), rozměry 250 x 4,6 mm (Phenomenex) opatřena předkolonou C 18, rozměry 10 x 10 mm (Phenomenex). K detekci askorbové kyseliny byl použit detektor diodového pole (DAD). Podmínky stanovení jsou uvedeny v Tabulce 7.

Tabulka 7 Podmínky HPLC stanovení askorbové kyseliny

Parametr	Hodnota
Mobilní fáze	voda a metanol 760:40, pH 3
Objem nástřiku	20 μl
Průtok mobilní fáze	0,8 ml / min
Pracovní tlak	100 bar
Teplota kolony	25 $^{\circ}\text{C}$
Vlnová délka	254 nm
Doba analýzy	7 min
RČ	5,417
Limit detekce	228 μg / l

4.4 Statistické vyhodnocení

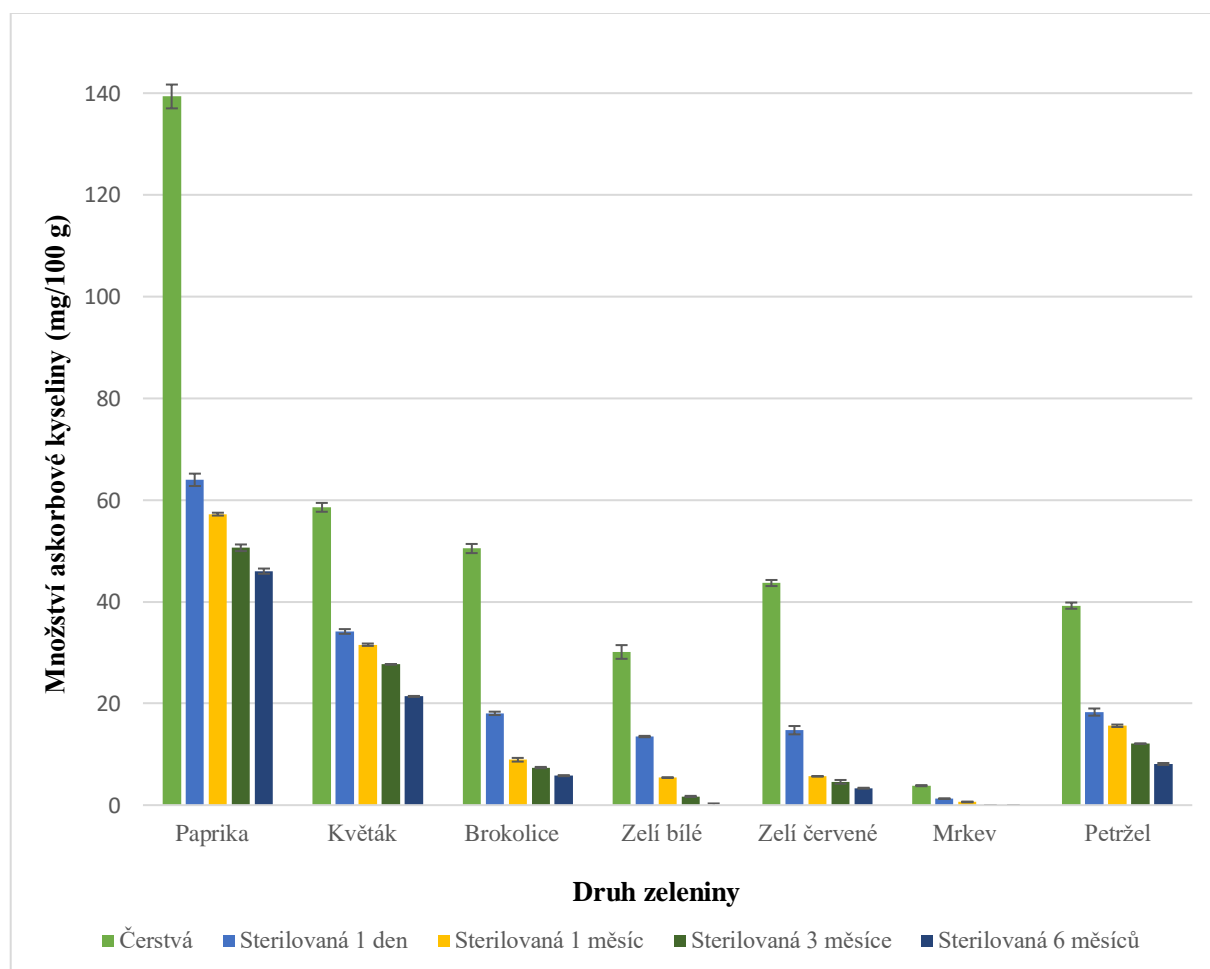
Získaná data z analýzy byla z programu Chromeleon převedena do programu MS Excel a v něm zpracována do tabulek vhodných ke statistickému zpracování. Následné statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica 12 za použití jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) následované Scheffeho post – hoc testem na hladině významnosti $p < 0,05$. V jednom případě, posouzení vlivu blanširování, doby a teploty skladování byla použita vícefaktorová analýza rozptylu, rovněž následovaná Scheffeho post – hoc testem na hladině významnosti $p < 0,05$. Tvorba grafů proběhla v programu Microsoft Excel.

5 Výsledky

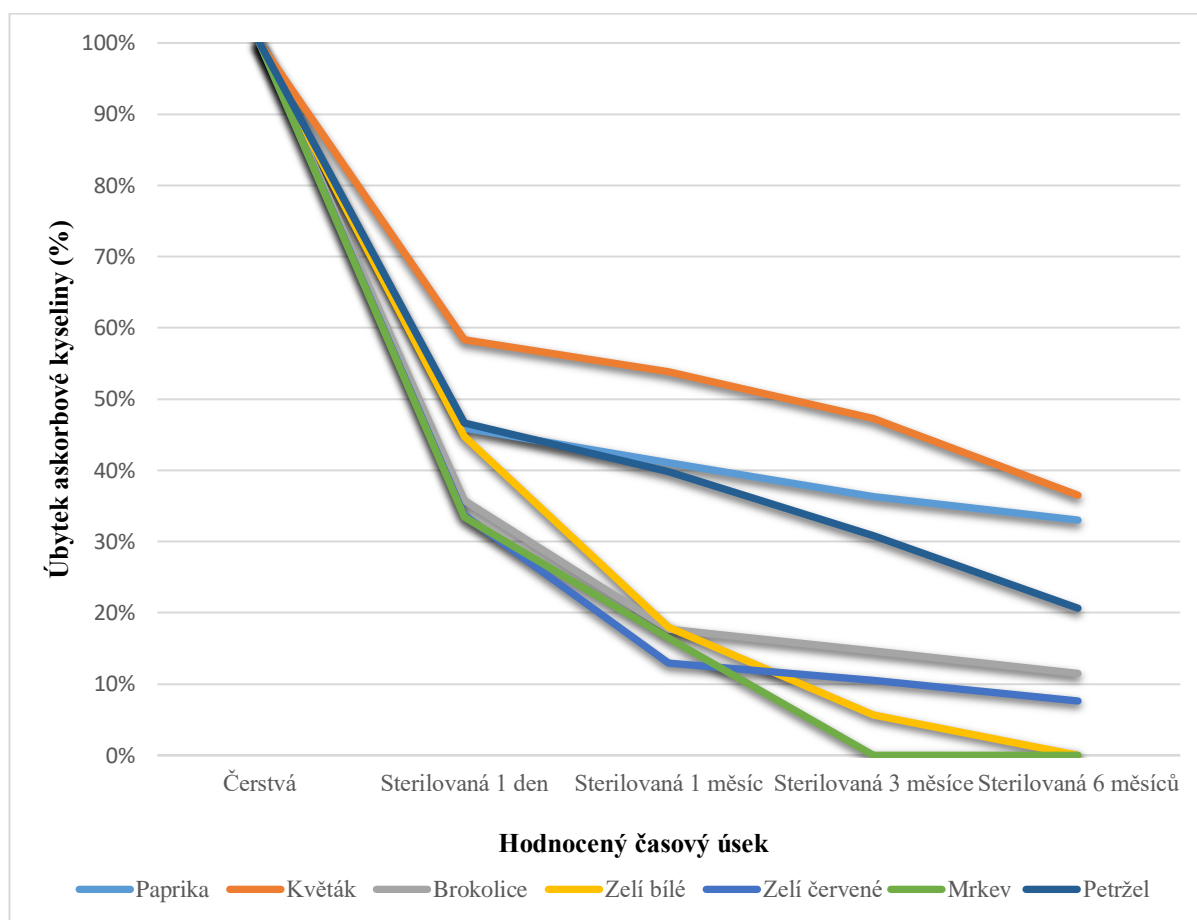
5.1 Sterilovaná zelenina

5.1.1 Sterilovaná zelenina – obecně

Průměrné hodnoty obsahu askorbové kyseliny u jednotlivých druhů čerstvé a sterilované zeleniny v průběhu skladování jsou znázorněny v Grafu 1. V navazujícím Grafu 2 je patrný významný pokles askorbové kyseliny vlivem procesu sterilace, a to průměrně o 57 %. Následně byl jednofaktorovou analýzou rozptylu a Scheffeho testem (viz Příloha 1 A) prokázán statistický rozdíl v obsahu AA mezi čerstvými a sterilovanými s hodnotou hladiny významnosti $p < 0,05$. Ze sledovaných druhů zeleniny byl nejvyšší obsah AA stanoven u papriky, která i po 6 měsíčním skladování obsahovala vyšší množství AA, než čerstvá mrkev, petržel i bílé a červené zelí. Dále z dat (Příloha 1 B) vyplývá, že u všech druhů sterilované zeleniny vedlo skladování k mírnému a postupnému, avšak statisticky nevýznamnému poklesu množství askorbové kyseliny.



Graf 1 Obsah askorbové kyseliny ve sterilované zelenině



Graf 2 Úbytek askorbové kyseliny u sterilované zeleniny v průběhu skladování

5.1.2 Sterilovaná zelenina – jednotlivé druhy

Poté co byl prokázán statistický rozdíl mezi čerstvými a sterilovanými vzorky zeleniny v obecné rovině, bylo provedeno i hodnocení u jednotlivých druhů zeleniny zvlášť. Zde byl zjištěn (viz Příloha 2 A – G) u všech sledovaných druhů zeleniny (tj. květáku, brokolice, petržele, papriky, mrkve, bílého a červeného zelí) významný pokles obsahu askorbové kyseliny po sterilaci oproti čerstvé zelenině ($p < 0,05$). Rovněž byl u každého druhu zeleniny sledován i vliv doby skladování na obsah askorbové kyseliny.

Scheffeho testem byl u květáku a petržele (viz Příloha 2 A a B) prokázán významný pokles obsahu askorbové kyseliny ve všech sledovaných obdobích skladování (1 den, 1 měsíc, 3 měsíce a 6 měsíců po sterilaci). U sterilované papriky, mrkve a bílého zelí (viz Příloha 2 C, D a E) však už mezi 3. a 6. měsícem skladování nebyl pokles obsahu askorbové kyseliny významný. U brokolice a červeného zelí (viz Příloha 2 F a G) obsah askorbové kyseliny klesl významně pouze do 1 měsíce, a následný pokles jejího obsahu sledovaný ve 3. a 6. měsíci skladování již nebyl významný.

5.2 Mražená zelenina neblanširovaná

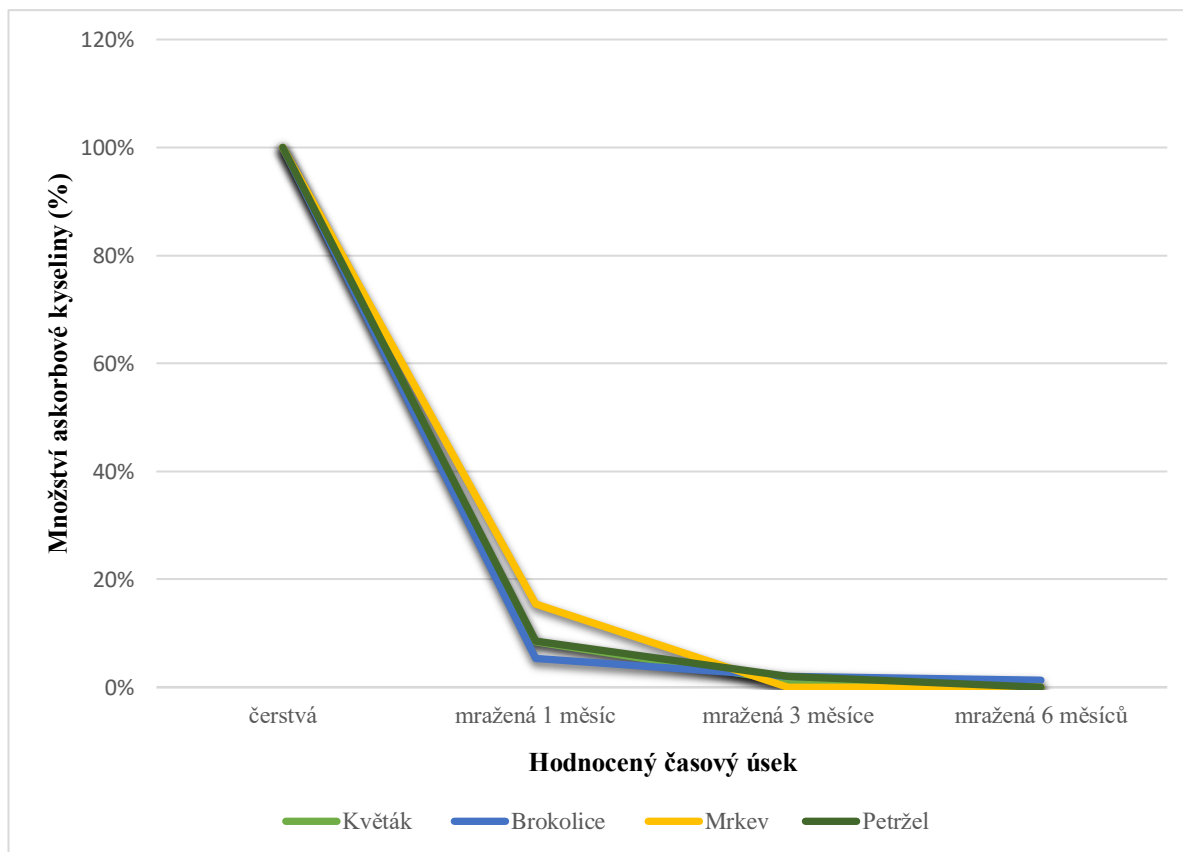
5.2.1 Mražená zelenina neblanširovaní – obecně

Průměrné hodnoty obsahu askorbové kyseliny u jednotlivých druhů čerstvé a mražené zeleniny v průběhu její skladování jsou znázorněny v Tabulce 8. Z této tabulky vyplývá, že mrazírenské skladování vedlo k znatelnému poklesu množství askorbové kyseliny, přičemž v průměru byl úbytek po 1 měsíčním skladování 91%. Úbytek askorbové kyseliny během celé doby skladování mražených neblanširovaných vzorků je názorně vyobrazen v Grafu 3. Podobně jako u sterilované zeleniny výstup analýzy rozptylu jednoduchého třídění obecně pro všechny kategorie mražené zeleniny bez ohledu na druh, uvádí hodnotu hladiny významnosti $p < 0,05$. Následný Scheffeho test (viz Příloha 3) shodně stanovil mezi čerstvými vzorky a všemi vzorky mraženými (1 měsíc, 3 měsíce a 6 měsíců) statistický rozdíl. Mezi samotnými kategoriemi mražených vzorků nebyl statistický rozdíl prokázán. Při dlouhodobém skladování při teplotách $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se množství askorbové kyseliny pohybovalo v nízkých hodnotách již po 1 měsíci a po 6 měsících bylo již u všech vzorků, s výjimkou brokolice, pod limitem detekce.

Tabulka 7 Obsah askorbové kyseliny v čerstvé a mražené zelenině

Druh zeleniny	Průměrný obsah askorbové kyseliny (mg/100 g) \pm SD			
	Čerstvá	Mražená 1 měsíc	Mražená 3 měsíce	Mražená 6 měsíců
Květák	58,56 \pm 0,87	4,96 \pm 0,68	0,73 \pm 0,04	< LOD
Brokolice	50,46 \pm 0,90	2,68 \pm 0,04	1,04 \pm 0,14	0,66 \pm 0,03
Mrkev	3,83 \pm 0,11	0,59 \pm 0,05	< LOD	< LOD
Petržel	39,23 \pm 0,61	3,35 \pm 0,30	0,81 \pm 0,02	< LOD

SD, směrodatná odchylka; LOD, limit detekce



Graf 3 úbytek askorbové kyseliny u neblanširované mražené zeleniny v průběhu skladování

5.2.2 Mražená zelenina neblanširování – jednotlivé druhy

Výstup analýzy rozptylu jednoduchého třídění pro každý druh mražené zeleniny samostatně shodně určil hladinu významnosti u všech druhů $p < 0,05$. Následným Scheffeho testem byl u květáku, brokolice, mrkve i petržele, jak dokládá Příloha 4 A - D, prokázán statistický rozdíl mezi čerstvými vzorky a všemi vzorky mraženými (1 měsíc, 3 měsíce a 6 měsíců) a mezi 1 a 3 měsíce mraženými statistický rozdíl. Mezi vzorky 3 a 6 měsíců mražených nebyl statistický rozdíl prokázán.

5.2.3 Mražená zelenina – blanširování

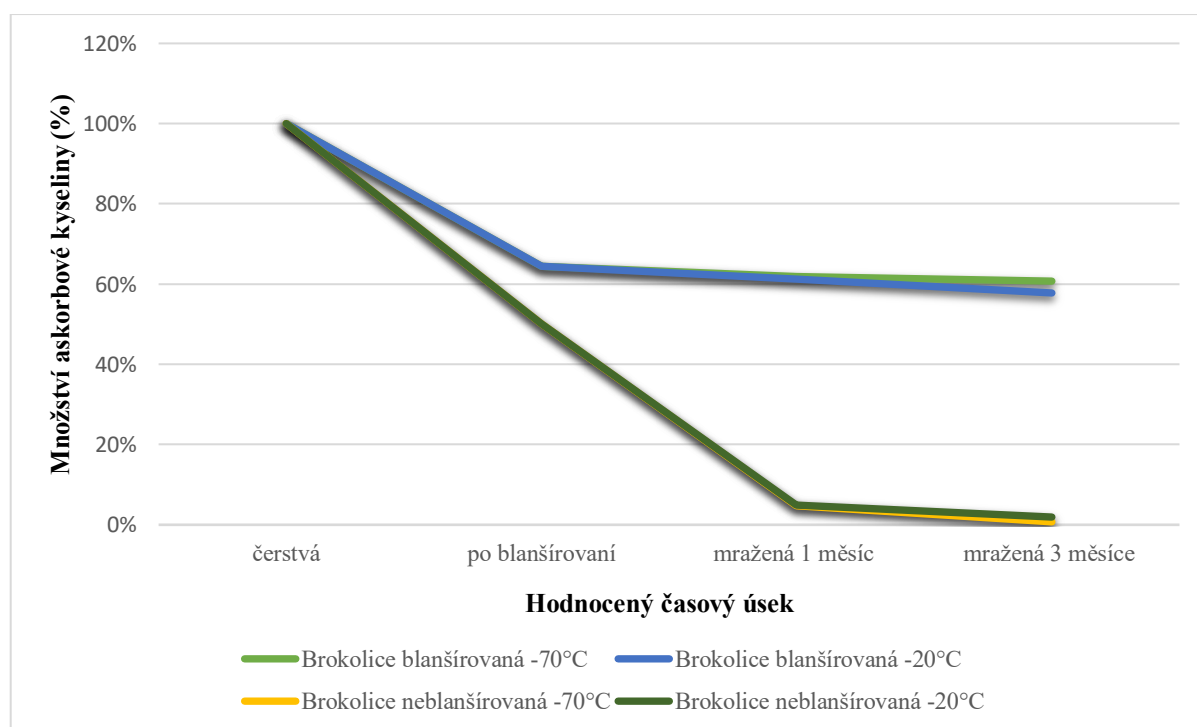
U čerstvých vzorků brokolice byl stanoven průměrný obsah askorbové kyseliny $60,64 \pm 1,00$ mg/100 g a po blanširování klesl její obsah na $39,11 \pm 0,32$ g/100 g. Je tedy zřejmé, že blanširování vede k významnému snížení obsahu askorbové kyseliny ($p < 0,05$). Tabulka 9 uvádí hodnoty obsahu askorbové kyseliny v průběhu skladování při různých skladovacích teplotách u blanširovaných i kontrolních (neblanširovaných) vzorků brokolice. Jak je patrné z Grafu 4, ztráty askorbové kyseliny dosahovali u blanširované brokolice i po 3 měsících skladování asi 40 %, kdežto u neblanširovaných vzorků již po 1 měsíci

skladování dosahovali ztráty askorbové kyseliny 95%. Blanšírování tak vedlo k významnému snížení ztrát askorbové kyseliny v průběhu mrazírenského skladování ($p < 0,05$). Z Grafu 4 je dále patrné, že teplota skladování neměla významný vliv na obsah askorbové kyseliny v mražené brokolici.

Tabulka 8 Obsah askorbové kyseliny u blanšírované a neblanšírované brokolice skladované při různých teplotách

Kategorie brokolice	Průměrný obsah askorbové kyseliny (mg/100 g) ± SD	
	Mražená 1 měsíc	Mražená 3 měsíce
Blanšírovaná, skladovaná při -70°C	37,51 ± 0,18	36,83 ± 0,33
Blanšírovaná, skladovaná při -20°C	37,12 ± 0,33	35,04 ± 0,30
Neblanšírovaná, skladovaná při -70°C	2,88 ± 0,12	0,44 ± 0,04
Neblanšírovaná, skladovaná při -70°C	2,98 ± 0,49	1,17 ± 0,12

SD, směrodatná odchylka



Graf 4 Úbytek askorbové kyseliny u neblanšírované mražené zeleniny v průběhu skladování

Pro posouzení vlivu blanšírování, doby a teploty skladování byla použita vícefaktorová analýza rozptylu (viz Příloha 5), kde byl současně hodnocen vliv úpravy před mražením, doby a teploty skladování na obsah askorbové kyseliny ve vzorcích brokolice. Ta stanovila hladinu významnosti pro testové kritérium kategorie (úprava před mražením) i dobu skladování $p < 0,05$, tudíž byl u těchto dvou parametrů stanoven statistický rozdíl. Naopak pro kritérium teplota skladování, kde $p > 0,05$ nebyl prokázán statistický rozdíl.

6 Diskuze

6.1 Sterilovaná zelenina

Jak uvádí Miller & Knudson (2014) množství askorbové kyseliny v čerstvé zelenině klesá okamžitě od okamžiku sklizně a pokračuje i během celé doby skladování. Dle Kalt (2005) je cílem tepelného opracování zeleniny zvýšení její údržnosti, což však sebou nese i negativní následek, a to pokles obsahu minerálních látek a vitamínů podobě jejich vyluhování a degradace. Tyto nežádané reakce nastávají při sterilaci, pasteraci, vaření i skladování. Jak podotýká Miller & Knudson (2014) u konzervované zeleniny se značná část AA nachází v okolním nálevu, kam byla vyluhovaná v průběhu zavařování.

V této práci došlo vlivem sterilování k průměrnému poklesu obsahu AA u 7 druhů zeleniny o 57 %, přesněji se pokles pohyboval v rozmezí 42 – 67 %, přičemž k nejmenšímu snížení došlo u květáku a nejvyššímu u mrkve. Hodnoty úbytku AA jsou srovnatelné s těmi, které ve své práci popisuje Sinha et al. (2011), kde pro zavařování uvádí ztráty AA v rozmezí 42 – 90 %. Dle Jin et al. (2014) je při sterilování, případně zavařování zeleniny ve skleněných či plechových obalech, oproti vaření ve vroucí vodě dosahováno nižších ztrát AA, což je vysvětlováno menším objemem vody, který je v kontaktu se zeleninou. To potvrzuje Bureau et al. (2015), který srovnával zavařování 10 minut při 90 °C a vaření ve vroucí vodě po dobu 13 minut u 13 druhů zeleniny, přičemž zavařování vedlo k průměrným ztrátám AA 21 % a vaření ve vroucí vodě ke ztrátám 51% AA.

Greco et al. (2007) ve své studii popisuje podobný úbytek AA u zavařené papriky jako je tomu v této práci. Při konzervování 22 minut při 85 °C uvádí ztrátu 61 % původního množství AA (pro srovnání ztráty AA papriky sterilací v této práci byly 54,09%), přičemž před vlastní sterilací byla paprika ještě 4 minuty blanšírována při teplotě vody 85 °C. Naopak vyšší hodnot úbytku AA uvádí Liato et al. (2016), kdy při sterilování při teplotě 100 °C a čase působení 12 minut byly u hrachu ztráty AA 99 % a u kukuřice 98 %.

Během jednoho měsíce skladování byl úbytek AA u sledovaných druhů zeleniny v porovnání s hodnotami po sterilování v průměru 14,1 % (v rozmezí 4,4 – 26,8 %). Nejnižší pokles byl znovu zaznamenán u květáku a nejvyšší u bílého zelí. U 3 měsíčního skladování v porovnání s hodnotami 1. den po sterilování se obsah AA snížil průměrně o 21,9 %, přičemž nejstabilněji se projevila paprika s úbytkem 9,6 % AA a nevyšší pokles 39,1 % byl zjištěn u bílého zelí.

Při skladování po dobu 6 měsíců v porovnání s hodnotami naměřenými 1. den po sterilování byl průměrný úbytek AA 26,7 %. Nejnižšího poklesu bylo znovu zaznamenáno u papriky, a to 12,9 % a nejvyššího úbytku rovněž u bílého zelí 43,5 %.

Celkové ztráty AA v porovnání čerstvé a 6 měsíců skladované se pohybovaly v rozmezí 63 – 100 %. Nejmenších relativních ztrát bylo zaznamenáno u květáku a nejvyšších u mrkve, přičemž mrkev je zároveň zeleninou která obsahovala i v čerstvém stavu velmi malé množství AA. Rickman et al. (2007) ve své studii dospěl k podobné celkové ztrátě AA u 6 měsíců skladovaných sterilovaných zelených fazolí v porovnání s čerstvými vzorky, a to 72,5 %, avšak ztráty způsobené 6 měsíci skladování byly pouze 8 %. V této práci byly naměřeny hodnoty ztrát způsobené dlouhodobým skladováním mnohem vyšší. Tyto rozdíly dle Leškové et al. (2006) závisí na specifických podmínkách během samotného procesu zpracování (teplota, přítomnost kyslíku, světla, druhu a pH potraviny, poměru povrchu a objemu potraviny a době trvání ošetření) a podmínek skladování. Společná interakce všech těchto činitelů vede k variabilním ztrátám askorbové kyseliny.

6.2 Mražená zelenina

Dle Patras et al. (2011) je mražení zeleniny obecně považováno za techniku konzervace potravin, která vede k nejvyššímu uchování sensorických a nutričních vlastností dané komodity a je tak často využíváno pro zachování čerstvého vzhledu potraviny a minimalizaci ztrát živin jako jsou vitamíny a sloučeniny s antioxidačními účinky. Navzdory tomu, že mražení je efektivní metodu konzervace potravin, dochází i při něm ke ztrátám AA.

V této práci byl u neblanširovaných vzorků zeleniny po 1 měsíci skladování při -20 °C pokles AA oproti množství v čerstvých vzorcích v rozmezí 85 – 95 %. Nejmenší ztráty byly zaznamenány u mrkve a nejvyšší u brokolice. Při následném hodnocení vlivu skladování při -20 °C po dobu 3 měsíců byl sledován úbytek AA v rozsahu 98 – 100 %. Nejnižší ztráty byly zaznamenány shodně u petržele i brokolice, naopak u mrkve byl obsah AA pod limitem detekce. Půlroční skladování při -20 °C vedlo ke ztrátám AA v rozmezí 99 – 100 %. U květáku, mrkve i petržele byl obsah AA pod limitem detekce, pouze u brokolice bylo zjištěno 1,3 % původního množství askorbové kyseliny.

Miller & Knudson (2014) uvádí, že množství ztrát AA závisí na délce blanširování, teplotních podmínkách skladování a druhu dané plodiny. Bouzari et al. (2015) dodává, že degradace a úbytek AA v čase je variabilní dokonce i mezi jednotlivými kultivary jedné plodiny. Rozdílnou stabilitu AA mezi vzorky jedné plodiny vysvětluje Phillips et al. (2016)

efektem různého pH a faktory, které ovlivňují enzymovou aktivitu, mezi něž patří tepelná denaturace enzymů a přítomnost tepelně rezistentních enzymů a ostatních součástí extracelulárního matrixu buněk, jež buďto podporují nebo zabraňují nevratné oxidaci.

Výrazný a rychlý úbytek AA u neblanširované zeleniny ve své práci zmiňuje Patras et al. (2011), kdy u vzorků neblanširované brokolice a mrkve po 2,5 h mražení při -30 °C popisuje ztrátu AA 83 % a 53 % a u blanširované (3 minuty při 95 °C) brokolice úbytek 0,2% a blanširované mrkve 0,1%. Podobné tendence uvádí i Phillips et al. (2016), jenž uvádí ztrátu AA u neblanširovaného špenátu při teplotě skladování -20 °C po 1 dni 13 %, po 3 dnech 59 % a po 7 dnech 94 %. U neblanširované brokolice popisují ztráty po 1,3 a 7 dnech na úrovni 8 %, 48 % a 68 %. Podobně i Rahman et al. (2013) uvádí u mražené neblanširované papriky skladované 25 dní při -40 °C ztráty 67 % AA a u skladování při -20 °C 90% úbytek. Firdous et al. (2010) též popisuje vysoké ztráty AA, a to v rozmezí 54,1 – 89,1 % u 7 druhů zeleniny skladované 15 dní při -20 °C. Srovnání neblanširovaných a blanširovaných vzorků mražené zeleniny se ve své práci věnuje Serpen et al. (2007), kdy zkoumá vliv blanširování u mrazírenského skladování semen hrachu. Hrách byl skladován po dobu 1 roku při -18 °C, přičemž ztráty AA u blanširovaného vzorku (80 C po dobu 2 minut) byly 35 % a u neblanširovaného 92 %.

Podle Munyaka et al. (2010a) je zelenina obvykle za účelem inaktivace enzymů, které způsobují oxidaci AA před vlastním mražením blanširována. Dle Bahçeci et al. (2005) je pozitivní vliv blanširování krom inaktivace enzymů i v redukci mikrobiálního zatížení, odstranění vzduchu a zachování barvy mražené potraviny. Spínola (2014) uvádí, že blanširování vede ke ztrátám 25 – 90 % AA, přičemž úbytek závisí na použité teplotě, čase a samotném druhu zeleniny. Ve své práci Bahçeci et al. (2005) dále popisuje, že přestože mražení značně snižuje enzymatické reakce a mikrobiální růst, nedokáže tyto procesy zcela zastavit. Následné reakce mohou vyústit v nežádanou přítomnost pachů, změnu barvy i chutě produktu a ztrátu živin. To potvrzuje i práce Munyaka et al. (2010b) v níž autor upozorňuje, že je potřeba zajistit takovou dobu blanširování, která zaručí dostatečnou inaktivaci všech oxidací způsobujících enzymů, jelikož reziduální enzymatická aktivita může vyústit v degradaci AA na DHA.

U této práce vedlo blanširování brokolice k úbytku 35,5 % AA. Následné skladování při - 20 °C se po 1 měsíci vedlo ke ztrátám 3,3 % AA a po 3 měsíčním skladování ubylo 6,7 % AA, což včetně ztrát způsobeným blanširováním představuje celkový úbytek 42,2 % AA oproti množství AA obsaženému v čerstvém vzorku. Skladování, které bylo realizováno při teplotě

- 70 °C, vedlo po 1 měsíci ke ztrátám AA v hodnotě 2,6 % a po 3 měsících k úbytku 3,8 %, to odpovídá celkovým ztrátám AA oproti původnímu množství v čerstvé brokolici 39,3 %. Tyto poznatky jsou v souladu s prací Sikora et al. (2008), který uvádí, že blanšírování se při mrazírenském skladování podílí na ztrátách askorbové kyseliny největší měrou. To potvrzuje Lee et al. (2018), který u blanšírování brokolice (1 minutu ve vroucí vodě) popisuje ztráty 12,1 % i Tosun & Yücecan (2008) jež uvádí úbytek 19,1 % AA po blanšírování brokolice (3,5 minuty při 96 °C) a dále také Gebczynski and Kmiecik (2007), kteří po blanšírování (3 minuty 95 – 98 °C) květáku uvádí ztráty AA 21 %. Vyšší úbytek askorbové kyseliny při blanšírování ve své práci zmiňují Tosun & Yücecan (2007) a to u blanšírování brokolice (3 minuty ve vroucí vodě), kdy popisují ztráty AA 31,3 %. Téměř ke shodným výsledkům dospěl i Galgano et al. (2007), který rovněž u blanšírované brokolice (3 minuty při 96 °C) uvádí ztráty AA 32 %. Také Volden et al. (2008) shledal u blanšírování vyšší ztráty, přesněji u blanšírování červeného zelí (3 minuty při 94 – 96 °C) 48 % AA. Dále Severini et al. (2016) popisuje pokles obsahu AA u blanšírované brokolice (3 minuty ve vroucí vodě) o 58,7 %. Nejvyšší úbytek u brokolice způsobený blanšírováním (5 minut ve vroucí vodě) uvádí Zhang & Hamazu (2004), kde ztráta AA činila 59,2%.

I naproti ztrátám AA, ke kterým blanšírování vede, se na základě výsledků této práce jeví vhodnější tento postup před samotným zmrazením zeleniny použít, jelikož byly celkové ztráty AA pořád mnohem menší než u neblanšírovaného vzorku brokolice, u kterého došlo již po 1 měsíci skladování ke ztrátě 95 % askorbové kyseliny.

Úbytek askorbové kyseliny během mrazírenského skladování se u řady autorů různí. Například Tosun & Yücecan (2008) uvádí u blanšírované brokolice, která byla skladována 3 měsíce při -18 °C, že ztráty se rovnaly 4,0 % AA. O něco vyšší ztráty AA jsou k nalezení v práci Galgano et al. (2007), ve které byla blanšírovaná brokolice skladována 2 měsíce při teplotě -18 °C, což vedlo ke ztrátě 10 % AA, přičemž celkový pokles včetně blanšírování byl roven 32 %. Nízké ztráty AA popisuje i Phillips et al. (2010), když zmiňuje úbytek AA během 3 měsíčního skladování u předem blanšírované listové kapusty při teplotě -60 °C o 1,3 % AA, během 1 ročního skladování ztratila tatáž kapusta 13,7 % AA. Podobně Soares et al. (2017) uvádí pokles množství askorbové kyseliny u blanšírované a 1 rok při teplotě -30 °C skladované brokolice v rozmezí 15 – 18 %. Vyšší ztráty AA popisují Gebczynski & Kmiecik (2007), když ve své studii zmiňují ztráty u květáku skladovaného 4 měsíce při -20 °C v hodnotě 28,1 % AA, přičemž společně s blanšírováním byla celková ztráta 46,7 % AA. K takřka shodným výsledkům dospěl Goncalves et al. (2011), jenž u blanšírované a 4 měsíce při -25 °C skladované

brokolice popisuje úbytek 29 % AA. Rickman et al. (2007) ve své práci uvádí, že ztráty u blanšírované brokolice po 1 roce skladování při -20 °C byly 50 % včetně blanšírování. K podobné hodnoty, avšak u skladování pouze 6 měsíců při teplotě -18 °C uvádí ve své práci Tosun & Yücecan (2007), kdy u zelených fazolí uvádí celkovou pokles AA vlivem blanšírování a skladování 42,4 % a u brokolice 66,5 %. Vlivem skladování při různých teplotách se ve své práci zabýval Spínola et al. (2013), kdy zkoumal úbytek AA u extraktu z blanšírované brokolice skladované při -80 a -20 °C. po 1 a 2 měsících skladování byly u teploty -80 °C ztráty 1 a 2 % a u teploty -20 °C 7,5 a 17,2 %. Podobné hodnocení ve své práci provedla i Polinati et al. (2010), která u skladování ovocných šťáv z jablek a pomerančů při teplotě -18 a -70 °C po dobu 1 měsíce neshledala žádné rozdíly. Jak je patrné z výsledků této práce i prací výše zmíněných autorů je mražení účinným prostředkem uchování askorbové kyseliny v zelenině. To potvrzuje i Spínola et al. (2013), který ve své studii dochází k závěru, že nízké teploty jsou klíčovým faktorem k prevenci oxidace AA. Cocetta et al. (2014) doplňuje, že navzdory tomu, že je skladování blanšírované zeleniny při nízké teplotě efektivní metodou konzervace potravin, dochází i tak při něm k mírné degradaci AA

7 Závěr

Cíl práce byl splněn. Byl vytvořen přehled vědecké literatury k tématu diplomové práce a rovněž byl vyhodnocen obsah askorbové kyseliny ve vybraných druzích čerstvé i konzervované zeleniny a jeho změna vlivem skladování.

- Hypotéza předpokládající nejvyšší obsah vitamínu C u čerstvých vzorků zeleniny a nejnižší u sterilované zeleniny nebyla potvrzena, jelikož obsah vitamínu C (vyhodnocováno pouze u zeleniny, která byla zároveň neblanširována – mražená i sterilována) klesal v tomto pořadí: čerstvá > sterilovaná (1 den po sterilaci) > sterilovaná (1 měsíc po sterilaci) > sterilovaná (3 měsíce po sterilaci) > sterilovaná (6 měsíců po sterilaci) > mražená (1 měsíc po zmražení) > mražená (3 měsíce po zmražení) > mražená (6 měsíců po zmražení). U případu, že nejnižší množství vitamínu C bylo stanveno u 6 měsíců mražené zeleniny hraje významnou roli skutečnost, že před samotným mražením nebylo použito blanširování zeleniny.
- Předpoklad poklesu obsahu vitamínu C s délkou skladování nebyl potvrzen u mražených, ani u sterilovaných vzorků. Nejvyšší úbytek u sterilované zeleniny byl způsoben procesem blanširování a následné skladování nevedlo k významnému poklesu. U mražené neblanširované zeleniny byl počáteční výrazný pokles způsoben faktem, že vlivem vynechání blanširování nedošlo k inaktivaci askorbát oxidázy, což vyústilo v degradaci vitamínu C. Samotné skladování pak rovněž, jako sterilované zeleniny, nevedlo k významnému úbytku vitamínu C.
- Hypotéza o obsahu vitamínu C pod limitem detekce po 6 měsících mrazírenského skladování nebyla potvrzena pro brokolici, ale u ostatních druhů neblanširované mražené zeleniny (mrkev, petržel a květák) byl obsah askorbové kyseliny po 6 měsících pod limitem detekce.
- Předpoklad, že obsah vitamínu C bezprostředně po sterilaci klesne na polovinu ve srovnání s čerstvou zeleninou, byl potvrzen, jelikož průměrný úbytek askorbové kyseliny byl 57 %.

Ze získaných poznatků vyplývá, že sterilování zeleniny jako metoda konzervace zeleniny je účinným prostředkem pro dlouhodobé uchování vitamínu C. Toto tvrzení je platné hlavně u druhů, které mají jeho vyšší počáteční obsah. U zeleniny skladované při mrazírenských

teplotách je nutno, pro uchování co nejvyššího množství vitamínu C, před samotným mražením zeleninu blanšírovat.

8 Literatura

- Adegoke GO, Olapade AA. 2012. Preservation of Plant and Animal Foods: An Overview. Pages 603–611 in Bhat R, Alias AK, Paliyath G, editors. *Progress in Food Preservation*. John Wiley & sons. Noida.
- Al-Soufi MA. 2016. Quantitative and Qualitative Detection of Vitamin C in Some Foods by Immobilized Ascorbate Oxidase. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research* **26**:235-245.
- Bahçeci KS, Serpen A, Gökmen V, Acar J. 2005. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. *Journal of Food Engineering* **66**:187-192
- Barrett DM, Lloyd B. 2011. Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **92**:7-22.
- Bartoš M, Šrámková J, Staněk V. 2014. *Laboratorní cvičení z analytické chemie*. Univerzita Pardubice. Pardubice.
- Boeing H. 2012. Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition* **51**:637–663.
- Bouzari A, Holstege D, Barrett DM. 2015. Vitamin Retention in Eight Fruits and Vegetables: A Comparison of Refrigerated and Frozen Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:957–962.
- Bureau S, Mouhoubi S, Touloumet L, Garcia C, Moreau F, Bédouet V, Renard CMGC. 2015. Are folates, carotenoids and vitamin C affected by cooking? Four domestic procedures are compared on a large diversity of frozen vegetables. *Food Science and Technology* **64**: 735-741.
- Cocetta G, Baldassarre V, Spinardi A, Ferrante A. 2014. Effect of cutting on ascorbic acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Postharvest Biology Technologies* **88**:8-16
- Combs GF. 2012. *The Vitamins*. Academic Press. San Diego.
- Cruz - Rus E, Amaya I, Valpuesta V. 2012, The challenge of increasing vitamin C content in plant foods. *Biotechnology Journal* **7**:1110-1121.

- Deen D, Hark L. 2007. *Vitamins. The Complete Guide to Nutrition in Primary* John Wiley & sons. New Jersey.
- Eitenmiller RR, Landen WO, Ye L. 2008. *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. CRC Press. Boca Raton.
- Elgailani IEH, Gad-Elkareem MAM, Noh EAA, Adam OEA, Alghamdi AMA. 2017. Comparison of Two Methods for The Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) in Some Fruits. *American Journal of Chemistry* **2**:1-7.
- Erkmen O, Bozoglu TF. 2016. *Food Microbiology: Principles into Practice*. John Wiley & sons. New Jersey.
- Fenoll J, Martinez A, Hellin P, Flores P. 2011. Simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in vegetables and fruits by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chemistry* **127**:340-344.
- Firdous S, Abdullah N, Alim-un-Nisa EN. 2010. Effect of storage temperature and time on the vitamin C contents of selected fruits and vegetables. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* **53**:218-222.
- Galgano F, Favati F, Caruso M, Pietrafesa M, Natella S. 2007. The influence of processing on the retention of health-promoting compounds in broccoli. *Journal of Food Science* **72**:130-135.
- Gallie DR. 2013. L-Ascorbic Acid: A Multifunctional Molecule Supporting Plant Growth and Development. *Scientifica* **16** 24-47.
- Gebczynski P, Kmiecik W. 2007. Effects of traditional and modified technology, in the production of frozen cauliflower, on the contents of selected antioxidative compounds. *Food Chemistry* **101**:229-235.
- Goncalves EM, Abreu M, Brandao TRS, Silva CLM. 2011. Degradation kinetics of colour, vitamin C and drip loss in frozen broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *Italica*) during storage at isothermal and non-isothermal conditions. *International journal of refrigeration* **34**:2136-2144.
- Greco L, Riccio R, Bergero S, Del Re AAM, Trevisan M. 2007. Total reducing capacity of fresh sweet peppers and five different Italian pepper recipes. *Food Chemistry* **103**: 1127-1133
- Gupta SRN. 2015. Polarographic Methods for Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* **6**:75-80.

- Hounscome N, Hounscome B, Tomos D, Edwards-Jones G. 2008. Plant Metabolites and Nutritional Quality of Vegetables. *Journal of food science* **73**:48-65.
- Huang HW, Wu SJ, Lu JK, Shyu YT, Wang CY. 2017. Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food Control* **72**:1-8.
- Hui YH, Evranuz EÖ. 2016. *Handbook of Vegetable Preservation and Processing*. CRC Press; Boca Raton.
- Chambial S, Dwivedi S, Shukla KK, Placheril JJ, Sharma P 2013. Vitamin C in Disease Prevention and Cure: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* **28**:314–328.
- Ibupoto ZH, Ali SMU, Khun K, Willander M. 2011. L-ascorbic acid biosensor based on immobilized enzyme on ZnO nanorods. *Journal of Biosensors and Bioelectronics* **2**:110-123.
- Igwemmar NC, Kolawole SA, Imran IA. 2013. Effect Of Heating On Vitamin C Content Of Some Selected Vegetables. *International Journal of Scientific and Technology Research* **2**:209-212.
- Jin X, Oliviero T, Van der Sman RGM, Verkerk R, Dekker M, Van Boxtel AJB. 2014. Impact of different drying trajectories on degradation of nutritional compounds in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Food Science and Technology* **59**:189-195.
- Kadlec P, Melzoch K, Voldřich M. 2009. *Technologie potravin I.*, Key Publishing. Ostrava.
- Kalt W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science* **70**:11-19.
- Kirk RE, Othmer D. 2006. *Encyclopedia of Chemical technology*. John Wiley & sons. New Jersey.
- Kračmarová A, Sochor J, Adam V, Kizek R, Pohanka M. 2012. Electrochemical Determination of Low Molecular Weight Antioxidants in Serum Samples. Mendel University in Brno. Brno.
- Kubáň V. 2007. *Analýza potravin*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno.
- Lee S, Choi Y, Jeong HS, Lee J, Sung J. 2018. Effect of different cooking methods on the content of vitamins and true retention in selected vegetables. *Food Science and Biotechnology* **27**:333-342.
- Leong SY, Oey I, Burritt DJ. 2014. A Novel Strategy Using Pulsed Electric Fields to Modify the Thermostability of Ascorbic Acid Oxidase in Different Carrot Cultivars. *Food and Bioprocess Technology* **8**:811-823.

- Lešková E, Kubíková J, Kováčiková E, Košická M, Porubská J, Holčíková K. 2006. Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**: 252-276.
- Liato V, Labrie S, Benali M, Aïder M. 2016. Study of the impact of a new hurdle technology composed of electro-activated solution and low heat treatment on the canned pea and corn quality and microbial safety. *International Journal of Food Science and Technology* **51**: 180-193.
- Litwack G. 2018. *Human Biochemistry*. Academic Press. San Diego
- Mahnič-Kalamiza S, Vorobiev E, Miklavčič D. 2014. Electroporation in Food Processing and Biorefinery. *The Journal of Membrane Biology* **247**:1279-1304.
- Mellidou I, Koukounaras A, Chatzopoulou F, Kostas S, Kanellis AK. 2017. Plant Vitamin C: One Single Molecule with a Plethora of Roles. Pages 463–498 in Elhadi MY, editor. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. John Wiley & sons. New Jersey.
- Miller SR, Knudson WA. 2014. Nutrition and Cost Comparisons of Select Canned, Frozen, and Fresh Fruits and Vegetables. *American Journal of Lifestyle Medicine* **8**:430-437.
- Moskowitz A, Andersen LW, Huang DT, Berg KM. 2018. Ascorbic acid, corticosteroids, and thiamine in sepsis: a review of the biologic rationale and the present state of clinical evaluation. *Critical care* **22**:10-17.
- Munyaka AW, Makule EE, Oey I, Van Loey A, Hendrix M. 2010b. Thermal Stability of L-Ascorbic Acid and Ascorbic Acid Oxidase in Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Journal of food science* **75**:336-340.
- Munyaka AW, Oey I, Van Loey A, Hendrickx M. 2010a. Application of thermal inactivation of enzymes during vitamin C analysis to study the influence of acidification, crushing and blanching on vitamin C stability in Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Food Chemistry* **120**:591-598.
- Nováková L, Solich P, Solichová D. 2008. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry* **27**:942–958.
- Pacier C, Martirosyan DM. 2015. Vitamin C: optimal dosages, supplementation and use in disease prevention. *Functional Foods in Health and Disease* **5**:89-107.

- Patras A, Tiwari BK, Brunton NP. 2011. Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. *Food Science and Technology* **44**:299–306.
- Phillips KM, Council-Troche M, McGinty RC, Rasor AS, Tarrago-Trani MT. 2016. Stability of vitamin C in fruit and vegetable homogenates stored at different temperatures. *Journal of Food Composition and Analysis* **45**:147-162.
- Phillips KM, Tarrago-Trani MT, Gebhardt SE, Exler J. 2010. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**:253-259.
- Pitrat M, Audergon JM. 2015. Evolution of diversity of fruits and vegetables crops. *Acta Horticulturae* **56**:567-576.
- Polinati RM, Kremer-Faller AL, Fialho E. 2010. The effect of freezing at -18 C and -70 C with and without ascorbic acid on the stability of antioxidant in extracts of apple and orange fruits. *International Journal of Food Science and Technology* **45**:1814-1820.
- Rahman – Khan MM, Islam MS, Begum SA. 2006. A Simple UV-spectrophotometric Method for the Determination of Vitamin C Content in Various Fruits and Vegetables at Sylhet Area in Bangladesh. *Journal of Biological Sciences* **6**:388-392.
- Rahman MS, Al-Rizeiqi MH, Guizani N, Al-Ruzaiqi MS, Al-Aamri AH, Zainab S. 2013. Stability of Vitamin C in Fresh and Freeze-Dried Capsicum Stored at Different Temperature. *Journal of Food Science and Technology* **52**:1691–1697.
- Ranjan S, Dasgupta N, Walia N, Thara Chand C, Ramalingam C. 2017. Microwave blanching: an emerging trend in food engineering and its effects on *Capsicum annum* L. *Journal of Food Process Engineering* **40**:124-131.
- Raseetha S, Leong SY, Burritt DJ, Oey I. 2013. Understanding the degradation of ascorbic acid and glutathione in relation to the levels of oxidative stress biomarkers in broccoli (*Brassica oleracea* L. *italica* cv. *Bellstar*) during storage and mechanical processing. *Food Chemistry* **138**:1360–1369.
- Rickman JC, Barrett DM, Bruhn CM. 2007. Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**: 930-944.
- Rubatzky VE, Yamaguchi M. 2012. *World Vegetables: Principles, Production, and Nutritive Values*. Springer-Verlag New York Inc. Ney York.

- Serpen A, Gokmen V, Bahçeci KS, Acar J. 2007. **Reversible degradation kinetics of vitamin C in peas during frozen storage**. *European Food Research and Technology* **224**: 749-753.
- Severini C, Giuliani R, Filippis A, Derossi A, De Pilli T. 2016. Influence of different blanching methods on colour, ascorbic acid and phenolics content of broccoli. *Journal of Food Science and Technology* **53**:501-510.
- Sikora E, Cieslik E, Leszczynska T, Filipiak-Florkiewicz A, Pawe MP. 2008. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry* **107**:55-59.
- Sinha N, Hui YH, Evranuz EÖ, Siddiq M, Ahmed J. 2011. *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Blackwell publishing. Singapore
- Siqqid M. 2018. *Handbookk of Vegetables and Vegetable processing*. John Wiley & sons. New Jersey.
- Soares A, Carrascosa C, Raposo A. 2017. Influence of Different Cooking Methods on the Concentration of Glucosinolates and Vitamin C in Broccoli. *Food and Bioprocess Technology* **10**:1387-1411.
- Spínola V, Mendes B, Câmara JS, Castilho PC. 2013. Effect of time and temperature on vitamin C stability in horticultural extracts. UHPLC-PDA vs iodometric titration as analytical methods. *Food Science and Technology* **50**:489-495.
- Spínola V, Llorent-Martínez EJ, Castilho PC. 2014. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. *Journal of Chromatography* **69**:2–17.
- Srivastava RP, Kumar S. 2014. *Fruit and Vegetable Preservation : Principles and Practices*. CBS Publishing. New Dehli.
- Sudheer KP, Indira V. 2007. *Post harvest technology of horticultural crops*. New India Publishing Agency. New Dehli.
- Tewari S. 2016. Preservation effect of high pressure processing on ascorbic acid of fruits and vegetables: A review. *Journal of food biochemistry* **41**:17-31.
- Tosun BN, Yücecan S. 2007. Influence of Home Freezing and Storage on Vitamin C Contents of Some Vegetables. *Pakistan Journal of Nutrition* **6**:472-477.
- Tosun BN, Yücecan S. 2008. Influence of commercial freezing and storage on vitamin C content of some vegetables. *International Journal of Food Science and Technology* **43**:316-321.

Valente A, Albuquerque T G, Sanches-Silva A, Costa H S. 2011. Ascorbic acid content in exotic fruits: a contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International* **44**:2237-2242.

Velíšek J, Hajšlová J. 2009. *Chemie potravin*. Osis. Tábor.

Volden J, Borge GIA, Bengtsson GB, Hansen M, Thygesen IE, Wicklund T. 2008. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata* f. *rubra*). *Food Chemistry* **109**:595–605.

Welbaum GE. 2015. *Vegetable Production and Practices*. CABI. Wallingford.

Zhang D, Hamauzu Y. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry* **88**:503-509.

Online zdroje

Czech news center a.s. 2019. Kozí (beraní) rohy – sterilované. Available from www.recepty.cz/recept/kozi-berani-rohy-sterilovane-157062. (accessed April 2019).

SGE – SNN. 2019. D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Available from www.sge-ssn.ch/grundlagen/lebensmittel-und-naehrstoffe/naehrstoffempfehlungen/dachreferenzwerte/ (accessed April 2019).

9 Seznam příloh

Příloha 1 Sterilovaná zelenina - obecná data	I
Příloha 2 Scheffeho testy pro jednotlivé druhy sterilované zeleniny	II
Příloha 3 Scheffeho test pro mraženou zeleninu obecně.....	IV
Příloha 4 Scheffeho testy pro jednotlivé druhy mražené zeleniny	V
Příloha 5 Analýza rozptylu dvojného třídění pro blanšírovanou a neblanšírovanou brokolici.....	VI

10 Samostatné přílohy

Příloha 1 Sterilovaná zelenina - obecná data

A - Scheffeho test pro sterilovanou zeleninu

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERILOVANÁ) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PC = 578,28, sv = 100,00					
	Kategorie	1 52,177	2 23,423	3 17,862	4 14,880	5 12,144
1	Čerstvá		0,006909	0,000608	0,000143	0,000035
2	1 den po sterilování	0,006909		0,966820	0,856325	0,679620
3	1 měsíc po sterilování	0,000608	0,966820		0,996855	0,963307
4	3 měsíce po sterilování	0,000143	0,856325	0,996855		0,997754
5	6 měsíců po sterilování	0,000035	0,679620	0,963307	0,997754	

B - Průměrný obsah askorbové kyseliny (mg.100 g⁻¹) u jednotlivých druhů čerstvé a sterilované zeleniny

Druh zeleniny	Čerstvá	Sterilovaná 1 den	Sterilovaná 1 měsíc	Sterilovaná 3 měsíce	Sterilovaná 6 měsíců
Paprika	139,35 ± 2,34	63,97 ± 1,22	57,22 ± 0,28	50,61 ± 0,65	46,01 ± 0,52
Květák	58,56 ± 0,87	34,15 ± 0,46	31,55 ± 0,23	27,69 ± 0,02	21,38 ± 0,09
Brokolice	50,46 ± 0,90	18,05 ± 0,33	8,93 ± 0,36	7,39 ± 0,13	5,8 ± 0,10
Zelí bílé	30,12 ± 1,35	13,49 ± 0,13	5,42 ± 0,04	1,71 ± 0,11	0,38 ± 0,33
Zelí červené	43,68 ± 0,60	14,74 ± 0,82	5,67 ± 0,06	4,58 ± 0,37	3,33 ± 0,09
Mrkev	3,83 ± 0,11	1,28 ± 0,06	0,63 ± 0,07	0	0
Petržel	39,23 ± 0,61	18,3 ± 0,70	15,61 ± 0,24	12,09 ± 0,05	8,1 ± 0,19

Příloha 2 Scheffeho testy pro jednotlivé druhy sterilované zeleniny

A - Scheffeho test pro sterilovaný květák

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL KVĚTÁK) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,31117, sv = 10,000					
	Kategorie	1 58,563	2 34,147	3 31,553	4 27,693	5 21,380
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,003510	0,000001	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,003510		0,000147	0,000000
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000001	0,000147		0,000002
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,000000	0,000002	

B - Scheffeho test pro sterilovanou petržel

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL PETRŽEL) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,28930, sv = 10,000					
	Kategorie	1 39,233	2 18,293	3 15,610	4 12,093	5 8,1000
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,002081	0,000001	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,002081		0,000238	0,000000
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000001	0,000238		0,000080
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,000000	0,000080	

C - Scheffeho test pro sterilovanou papriku

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL PAPRIKA) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 2,3198, sv = 10,000					
	Kategorie	1 139,35	2 63,970	3 57,217	4 50,603	5 46,013
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,004929	0,000018	0,000001
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,004929		0,005710	0,000087
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000018	0,005710		0,052788
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000001	0,000087	0,052788	

D - Scheffeho test pro sterilovanou mrkev

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL MRKEV) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,00619, sv = 10,000					
	Kategorie	1 3,8267	2 1,2833	3 ,62667	4 ,08667	5 0,0000
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,000028	0,000000	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,000028		0,000157	0,000043
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000000	0,000157		0,766919
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,000043	0,766919	

E - Scheffeho test pro sterilované bílé zelí

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL BÍLÉ ZELÍ) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,57186, sv = 10,000					
	Kategorie	1 30,117	2 13,490	3 5,4200	4 1,7133	5 ,38333
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,000003	0,000000	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,000003		0,002376	0,000204
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000000	0,002376		0,384344
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,000204	0,384344	

F - Scheffeho test pro sterilovanou brokolici

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL BROKOLICE) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,32437, sv = 10,000					
	Kategorie	1 50,463	2 18,043	3 8,9333	4 7,3900	5 5,8033
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,000000		0,088343	0,000985
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000000	0,088343		0,077715
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,000985	0,077715	

G - Scheffeho test pro sterilované červené zelí

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (STERIL ČERVENÉ ZELÍ) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,35235, sv = 10,000					
	Kategorie	1 43,683	2 14,733	3 5,6733	4 4,5767	5 3,3267
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
2	1 den po sterilování	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000
3	1 měsíc po sterilování	0,000000	0,000000		0,340806	0,010768
4	3 měsíce po sterilování	0,000000	0,000000	0,340806		0,234119
5	6 měsíců po sterilování	0,000000	0,000000	0,010768	0,234119	

Příloha 3 Scheffeho test pro mraženou zeleninu obecně

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (MRAŽENO) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 120,05, sv = 44,000				
	Kategorie	1 38,022	2 2,8950	3 ,67417	4 ,24583
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000
2	1 měsíc mražená	0,000000		0,969389	0,949710
3	3 měsíce mražená	0,000000	0,969389		0,999763
4	6 měsíců mražená	0,000000	0,949710	0,999763	

Příloha 4 Scheffeho testy pro jednotlivé druhy mražené zeleniny

A - Scheffeho test pro mražený květák

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (MRAŽ KVĚTÁK) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,46148, sv = 8,0000				
	Kategorie	1	2	3	4
		58,563	4,9633	,73333	,13000
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000
2	1 měsíc mražená	0,000000		0,000500	0,000195
3	3 měsíce mražená	0,000000	0,000500		0,760623
4	6 měsíců mražená	0,000000	0,000195	0,760623	

B - Scheffeho test pro mraženou brokolici

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (MRAŽ BROKOLICE) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,31415, sv = 8,0000				
	Kategorie	1	2	3	4
		50,463	2,6800	1,0433	,65667
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000
2	1 měsíc mražená	0,000000		0,044844	0,015329
3	3 měsíce mražená	0,000000	0,044844		0,867509
4	6 měsíců mražená	0,000000	0,015329	0,867509	

C - Scheffeho test pro mraženou mrkev

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (MRAŽ MRKEV) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,00560, sv = 8,0000				
	Kategorie	1	2	3	4
		3,8267	,58333	,09333	0,0000
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000
2	1 měsíc mražená	0,000000		0,000352	0,000101
3	3 měsíce mražená	0,000000	0,000352		0,538584
4	6 měsíců mražená	0,000000	0,000101	0,538584	

D - Scheffeho test pro mraženou petržel

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Askorbová kyselina (mg/100g) (MRAŽ PETRŽEL) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,17443, sv = 8,0000				
	Kategorie	1	2	3	4
		39,233	3,3533	,82667	,19667
1	Čerstvá		0,000000	0,000000	0,000000
2	1 měsíc mražená	0,000000		0,000610	0,000126
3	3 měsíce mražená	0,000000	0,000610		0,390658
4	6 měsíců mražená	0,000000	0,000126	0,390658	

Příloha 5 Analýza rozptylu dvojného třídění pro blanšírovanou a neblanšírovanou brokolici

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Askorbová kyselina (mg/100g) (BLANŠ NEBLANŠ) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	8890,420	1	8890,420	22898,70	0,000000
Kategorie	7248,155	1	7248,155	18668,78	0,000000
Doba skladování	18,375	1	18,375	47,33	0,000001
Teplota skladování	0,680	1	0,680	1,75	0,200604
Chyba	7,765	20	0,388		