

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Změny obsahu látek v plodech mražených jahod
v závislosti na délce jejich skladování**

Diplomová práce

Bc. Kateřina Jakešová

Výživa a potraviny

Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma Změny obsahu látek v plodech mražených jahod v závislosti na délce jejich skladování jsem vypracovala 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 autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Rád(a) bych touto cestou poděkovala Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D., za odborné vedení diplomové práce, za ochotu a rady, které mi pomohly dané téma zkompletovat.

Změny obsahu látek v plodech mražených jahod v závislosti na délce jejich skladování

Souhrn

Jahody patří mezi nejpobulárnější drobné ovoce pěstované v České republice. Tyto plody jsou pěstovány nejenom pro vynikající chuť a aroma, ale také pro širokou škálu zpracování a vysoký obsah zdraví prospěšných látek. Obsahují především velké množství vitaminů A, B, C a E. Vitamin C tvoří dvě biologicky aktivní látky, L-askorbová kyselina a L-dehydroaskorbová kyselina. Askorbová kyselina je účinným antioxidantem a je kofaktorem několika enzymů. Účastní se biosyntézy kolagenu, karnitinu, v metabolismu cholesterolu, steroidů a při amidaci peptidů. Množství kyseliny askorbové v zelenině a ovoci je ovlivněno mnoha faktory, zejména klimatickými podmínkami působícími na rostlinu během růstu, genotypem rostliny, stupněm zralosti během sklizně a způsobem dalšího posklizňového zpracování. Jedním ze šetrnějších způsobů dlouhodobého skladování potravin je zmrazení. Vlivem nízkých teplot dochází především ke zpomalení životních dějů v ovoci.

Dále se v jahodách nachází celá řada sekundárních metabolitů rostlin, jako jsou anthokyany, flavonoly a fenolové kyseliny. Anthokyany jsou ve vodě rozpustné pigmenty nacházející se ve vakuolách některých druhů rostlin. Koncentrace těchto pigmentů v jahodách je různorodá, závislá na odrůdě, datu sklizně, stupni zralosti a klimatických faktorech.

Cílem praktické části bylo porovnání obsahu askorbové kyseliny v jednotlivých odrůdách jahod a stanovení závislosti obsahu vitaminu C na délce skladování. Dalším cílem bylo porovnání obsahu celkových anthokyanů v jednotlivých odrůdách a stanovení závislosti obsahu celkových anthokyanů na délce skladování plodů. Pro účely diplomové práce byly vybrány tři odrůdy, které byly očištěny a skladovány při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ v jednotlivých připravených sáčcích. Samotné měření pak proběhlo ve třech opakováních, po 15 dnech od sklizně, po přibližně 4 měsících a po 8 měsících od sklizně. K vlastnímu stanovení obsahu askorbové kyseliny byla použita metoda HPLC. Ke stanovení celkových anthokyanů byla využita metoda spektrofotometrie v okyseleném extraktu ve viditelné oblasti.

Výsledky a statistické vyhodnocení potvrdilo hypotézy, že obsah kyseliny askorbové a obsah celkových anthokyanů je rozdílný v závislosti na zkoumané odrůdě. Závislost obsahu askorbové kyseliny na délce skladování jahod nebylo možné statisticky potvrdit, protože u jedné z odrůd došlo k odchylce při třetím měření. Pro přesnější statistické výsledky by bylo vhodnější stanovit vyšší množství zkoumaných vzorků, nicméně dvě odrůdy vykazovaly pokles askorbové kyseliny v závislosti na délce skladování. Nebylo možné potvrdit, že obsah celkových anthokyanů je rozdílný v závislosti na délce skladování plodů, protože při druhém měření docházelo k vzestupu množství anthokyanů ve vzorcích. Třetí měření pak téměř odpovídalo měření prvnímu. K významnějším degradacím anthokyanů dochází až při skladování ovoce po dobu šesti měsíců a déle. Obsahy askorbové kyseliny a obsahy anthokyanů ve vzorcích korelovaly s výsledky deklarovanými v literatuře.

Klíčová slova: jahody, askorbová kyselina, anthokyany, HPLC, spektrofotometrie

Changes of Substances Contained in Frozen Strawberry Fruit in Relation to Their Storage

Summary

Strawberries are among the most popular fruits cultivated in the Czech Republic. The fruit is appreciated for its taste, aroma, and usage in wide range of foods but also as a good source of essential nutrients, such as vitamins A, B, C, and E. Vitamin C is made of two bioactive substances, L-ascorbic acid and its oxidized form dehydroascorbic acid. Ascorbic acid is a potent antioxidant, a cofactor for several enzymes, is also involved in formation of collagen, in carnitine synthesis, metabolism of cholesterol and steroids, as well as during the amidation of peptide synthesis. Many factors influence the amount of ascorbic acid in fruit and vegetables, such as the climate, the plant genotype, the degree of ripeness and the method of post-harvest handling. As a result of low temperatures, freezing represents one of the most preservative long-term storage options due to the slowing down of biological processes in the fruit. Additionally, strawberries also contain a wide range of secondary metabolites such as anthocyanins, flavonoids, and phenolic acids. Anthocyanins are water-soluble vacuolar pigments which are part of certain plants. The levels of these pigments similarly depend on fruit ripeness, plant variety, climatic factors and the time in the harvest season.

The aim of the practical part of the thesis is to compare the contents of ascorbic acid and anthocyanins in different strawberry cultivars, as well as determining the effect of storage time on vitamin C and anthocyanin content. For the purposes of the thesis, three strawberry varieties were cleaned and stored in individually separated bags at a temperature of -18°C . The measurements itself took place in three instances – fifteen days of storage, secondly approximately 4 months of storage, and lastly after 8 months of storage. The HPLC method was used to determine the content of ascorbic acid and UV-VIS spectrophotometry was used to ascertain the total content of anthocyanins.

The results and statistical evaluation confirmed two of the hypotheses - the content of ascorbic acid and anthocyanins differs based on studied strawberry variety. However, the third hypothesis, the dependency of ascorbic acid content on the length of frozen storage, could not be statistically proven even though two varieties were consistently affected by the storage and both showed a decrease of ascorbic acid, one of the varieties deviated after its third measurement. To avoid such discrepancies, more samples would need to be examined to statistically confirm the effect of freezing on strawberry fruit.

Lastly, it could not be confirmed that the content of anthocyanins is significantly affected by storage time because it increased after its second measurement but decreased again after third measurement corresponding almost to the values of first measurement. This is consistent with the fact that significant degradation and decrease of anthocyanins occurs only from after 6-month period.

The actual value content of ascorbic acid and anthocyanins in the examined fruit samples corresponded to common values cited in literature.

Keywords: strawberries, ascorbic acid, anthocyanins, HPLC, UV-VIS spectrophotometry

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
2.1 Vědecké hypotézy	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Taxonomie a morfologie jahodníku obecného (<i>Fragaria vesca</i>)	10
3.1.1 Jahodník lze systematicky rozdělit na:	10
3.1.2 Popis hlavních orgánů jahodníku.....	10
3.1.3 Historie pěstování jahodníku	11
3.1.4 Rozšíření pěstování jahodníku.....	12
3.1.5 Pěstování jahodníku v České republice	12
3.2 Obsahové látky plodů jahodníku	13
3.2.1 Vitaminy	14
3.2.2 Vliv technologických postupů na obsah vitaminů v potravinách	19
3.2.3 Minerální látky.....	20
3.2.4 Fenolové sloučeniny	22
3.3 Metody stanovení vitamínu C a celkových anthokyanů v potravinách	24
3.3.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	24
3.3.2 Spektrofotometrie	25
4 Metodika	27
4.1 Popis analyzovaných vzorků	27
4.2 Popis odrůd.....	28
4.2.1 Dukát.....	28
4.2.2 Pegasus	28
4.2.3 Sonata	28
4.3 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC	28
4.3.1 Pomůcky	28
4.3.2 Chemikálie.....	28
4.3.3 HPLC podmínky	29
4.3.4 Příprava standardních roztoků a zásobního roztoku	29
4.3.5 Příprava vzorků k analýze	29
4.4 Stanovení celkových anthokyanů spektrofotometricky.....	30
4.4.1 Pomůcky a použité přístroje	30
4.4.2 Chemikálie.....	30
4.4.3 Příprava vzorků k analýze	30
5 Výsledky.....	31
5.1 Stanovení vitamínu C metodou HPLC.....	31

5.1.1	Naměřené výsledky.....	33
5.1.2	Srovnání obsahu vitamínu C u jednotlivých odrůd	36
5.2	Stanovení celkových anthokyanů spektrofotometricky.....	37
5.2.1	Naměřené výsledky.....	37
5.2.2	Srovnání obsahu celkových anthokyanů u jednotlivých odrůd	40
5.3	Statistické vyhodnocení výsledků	41
6	Diskuze	47
6.1.1	Obsah askorbové kyseliny	47
6.1.2	Obsah celkových anthokyanů	48
7	Závěr.....	50
8	Literatura.....	51
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	55

1 Úvod

Jahody se v České republice řadí k nejoblíbenějším druhům ovoce. Historie pěstování jahodníku sahá k počátkům lidské civilizace. Už tehdy naši předkové objevili toto vynikající ovoce a začali ho pravidelně konzumovat. Od dob pradávných došlo k velkému pokroku v pěstování jahod, byly rozšířeny nové odrůdy po celém světě, a i v současné době dochází stále ke šlechtění nových druhů. V českých zemích došlo k rozšíření jahodníku ke konci 19. století, kdy byla na území založena první plantáž. Jahodník se řadí mezi rostliny, které jsou velmi přizpůsobivé klimatickým podmínkám, a proto plantáže jahod najdeme ve všech státech mírného pásma.

Jahody jsou konzumovány především pro svou vynikající chuť a typické aroma. V neposlední řadě se také pěstují pro vysoký obsah nutričních látek, které jsou prospěšné pro lidský organismus. Vyznačují se především vysokou koncentrací vitaminů A, B, C a E (McCance & Widdowson 2002). Dále v plodech jahodníku najdeme celou řadu flavonoidů, jako jsou anthokyaniny, flavonoly a fenolové kyseliny. Jedná se o sekundární metabolity rostlin, které jsou významné především svou antioxidační aktivitou (Giampieri et al. 2012).

Většina vitaminů patří k látkám labilním, a proto je nezbytně nutné dodržovat správné výrobní a skladovací postupy při zpracování ovoce. Ztráty těchto esenciálních látek jsou ovlivněny délkou skladování, teplotou, světlem, hodnotou pH a také přítomností některých kovů. K nejméně stabilním vitaminům patří vitamin C (Hendrychová & Malý 2013).

Plody jahod jsou vhodné ke konzumaci v čerstvém stavu. Mnoho plodů se před uvedením na trh upravuje sušením, mražením, sterilizací a lyofilizací. V neposlední řadě je mnoho plodů ročně zpracováváno v konzervářském průmyslu.

Existuje mnoho analytických metod pro stanovení obsahu látek v jahodách. Pro stanovení kyseliny askorbové a anthokyanů se jedná například o titraci, spektrofotometrii, enzymatické metody a separační metody. V praxi se nejčastěji používá separační metoda vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), která je založena na fyzikálně-chemických procesech.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce bylo kvantitativní porovnání obsahu vitamínu C v plodech jahodníku. Dalším cílem bylo porovnání množství anthokyanů v plodech jahodníku. Jako hlavní faktory ovlivňující množství těchto látek ve vzorku byly porovnávány odrůdy a délka skladování při teplotě -18 °C. Pro účely měření byly vybrány tři odrůdy, které byly stanovovány ve třech různých opakováních.

2.1 Vědecké hypotézy

- Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.
- Obsah askorbové kyseliny je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.
- Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.
- Obsah celkových anthokyanů je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

3 Literární rešerše

3.1 Taxonomie a morfologie jahodníku obecného (*Fragaria vesca*)

Jahodník obecný (*Fragaria vesca*) se řadí z botanického hlediska do říše rostlin (*Plantae*), podříše cévnaté rostliny (*Tracheobionta*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), třídy vyšší dvouděložné rostliny (*Rodopsida*), řádu růžotvaré (*Rosales*), čeledi růžovitých (*Rosaceae*) a rodu jahodník (*Fragaria*). Pod rod *Fragaria* řadíme přibližně čtyřicet pět známých druhů a pro všechny je typické zdužnatělé květní lůžko, které tvoří spolu s nažkami nepravý plod – jahodu (Dlouhá 2001).

Rostlina jahodníku tvoří přechod mezi bylinami a keři. Někde se proto můžeme setkat s termínem polokeř. Jedná se o vytrvalou víceletou bylinu, která má šikmý, větvený a hnědě zbarvený oddenek, z něhož vyrůstá přizemní růžice a dlouhé plazivé šlahouny, pomocí nichž se rostlina rozmnožuje. Listy jsou složeny ze tří vejčitých lístků a jsou velmi dlouhé, květy mají velký počet tyčinek a jsou bílé barvy. Plodem jsou drobné nažky, které jsou rozloženy na povrchu kuželovitého souplodí. Skládá se z kališních lístků, dužniny a semen.

3.1.1 Jahodník lze systematicky rozdělit na:

- Kořeny
- Listy
- Květní základ
- Trs rostlin
- Květenství
- Květ
- Plod
- Dceřiná a matečná rostlina se šlahounem

3.1.2 Popis hlavních orgánů jahodníku

3.1.2.1 Kořeny

Každá odrůda jahodníku má vlastní kořenový systém, a tudíž se její pěstování hodí do jiných podnebných pásem. Kořeny mají pro život jahodníku zásadní význam, protože na nich závisí růst listů a také plodů. Pro tvorbu pevného základu je důležitá půdní vlhkost s dostatkem kyslíku. Systém kořenů plní celou řadu životních podmínek. Kořen je zásobní orgán celé rostliny, umožňuje úspěšné přezimování, a také příjem živin.

Kořeny lze rozdělit do dvou skupin, kořeny primární neboli zásobní, které jsou velmi silné a ukotvují celou rostlinu v půdě. V primárních kořenech se také ukládají zásobní látky, takzvané asimiláty, enzymy a sacharidy. Z těchto kořenů vyrůstají kořeny sekundární neboli větvicí, které nesou značné množství kořenových vlásků. Na povrchu těchto vlásků se nacházejí kořenová vlášení, což jsou vychlípené buňky, pomocí nichž jahodník přijímá živiny z půdy (Holan & Louda 2012).

I když je jahodník mělká rostlina, v horkých letních dnech je potřeba ji řádně zavlažovat, aby voda zůstala v zásobě.

3.1.2.2 Listy

Hlavním úkolem listů je především zajištění fotosyntézy, při níž dochází k přeměně anorganických látek na látky organické za účasti slunečního záření. Rostlina složitější organické látky využívá k uspokojení dalších životních funkcí, především ke stavbě pletiv, z nichž jsou jednotlivé orgány složeny. Fotosyntéza nejlépe probíhá v mladých listech, zatímco starší produkují malé množství organických látek, a proto se jich rostlina později sama zbavuje. Listy jsou v přízemní růžici, trojčetné a vyrůstají z dlouhých ochlupených řapíků (Holaň & Louda 2012).

3.1.2.3 Květ

Pro úspěšné kvetení je zásadní teplota, která je ideální v rozmezí 15-25 °C, při nižších teplotách opylení proběhne složitěji. Teploty pod 7 °C nenávratně poškozují plod, což se projeví hlavně na změnách tvaru a barvy. Samotný květ se skládá ze složeného květenství 5-15 květů v okolíkovitém vrcholíku. Existují odrůdy, u kterých má každý květ samostatný stonek, což má přínosnější vliv na plod, které jsou tak lépe vyživovány a mají stejnou velikost. Květy mohou být nažloutlé nebo bílé. Květy jsou u většiny současných rostlin jahodníku oboupohlavné, větrosnubné či hmyzosnubné. Skládají se z kališních lístků, okvětních lístků, pestíků a tyčinek (Peiker 1962).

3.1.2.4 Plod

Plodem jahod je soubor nažek na zdužnatělém květenství. Skládá se z kalichu, dužniny a semen. Plod podléhá nejpřísnějšímu hodnocení spotřebitele. Různé postavení kališních lístků je poznávacím znakem u jednotlivých odrůd (Holaň & Louda 2012).

3.1.3 Historie pěstování jahodníku

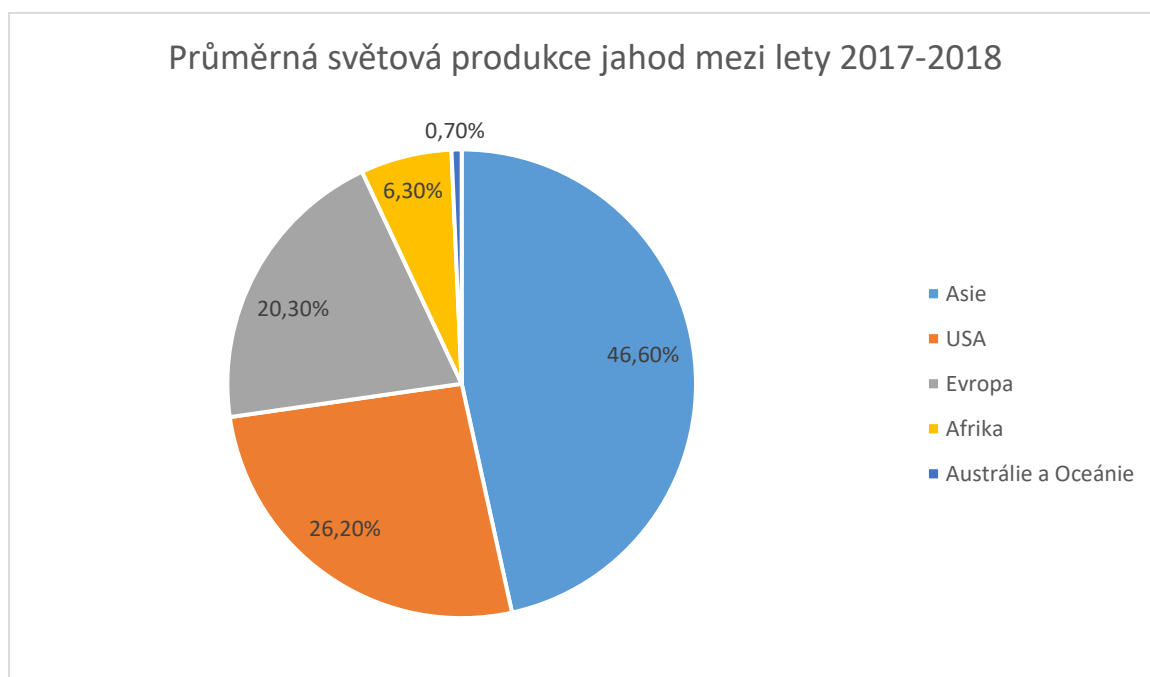
Historie pěstování jahodníku sahá až k počátkům lidské civilizace. Velkou pozornost si zaslouží šlechtitelské úspěchy, původ a rozšíření této rostliny do celého světa. Nálezy z doby kamenné svědčí o faktu, že první plody jahodníku se nacházely v jídelníčku člověka již v době prehistorické, avšak písemně doložené zmínky o prvním jahodníku jsou až pozdějšího data. K rozšíření této rostliny převážně do zahrad anglických, belgických a francouzských králů došlo mezi 14. a 16. stoletím.

Postupně díky cestovatelům a zámořským plavbám byly do Evropy dopraveny různé druhy jahodníku; za zmínku stojí jahodník virginský (*Fragaria virginiana*), který byl na začátku 18. století přepraven do Evropy ze Severní Ameriky botanikem Jeanem Robinem. Tento druh se vyznačoval hlavně vysokou aromaticností, i když plody nebyly moc velké. Na počátku 18. století byl dovezen do Francie jahodník čiloeský (*Fragaria chiloensis*), který měl velké plody, ale měl pouze samičí květy, a tudíž nedocházelo k oplození. Tento druh se stal předmětem pro křížení rostlin s druhy již dříve dovezenými. Druhy vzniklé křížením těchto dvou odrůd se staly základním kamenem dnešního jahodníku velkoplodého, který se stal v 19. století nejrozšířenější formou v Evropě i v Americe. V českých zemích byly založeny první plantáže jahodníku v Chlístově na Benešovsku koncem 19. století. Za zakladatele je považován

botanik Rudolf Strimpl, který se s pěstováním setkal při svých cestách do Severní Ameriky (Peiker 1962).

3.1.4 Rozšíření pěstování jahodníku

Jak již bylo uvedeno výše, do rodu *Fragaria* se řadí 45 druhů, z toho jsou 4 druhy evropské, 15 asijských, 18 západoevropských a 8 východoamerických. Hranice pěstování jahodníku v Evropě sahá na severu po Norsko, na jihu k Itálii, jižní Francii a Řecku. Jahodník nejlépe roste a plodí při průměrné roční teplotě okolo 7 °C, z tohoto důvodu je jeho největší rozšíření v oblastech mírného a subtropického pásma, avšak některé druhy najdeme i v tropických oblastech. Podle Organizace OSN pro výživu a zemědělství (FAO) bylo v minulosti nejvíce jahod produkováno v Evropě, především pak ve Španělsku, Itálii a Polsku. Od roku 1994 je však nejvíce jahod vyprodukováno v Asii, jak je znázorněno na grafu 1 (FAO 2019). Druhým největším producentem je pak USA, kde se pěstují jahody výhradně v Kalifornii a na Floridě.



Graf 1: Produkce svět

(available from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>)

3.1.5 Pěstování jahodníku v České republice

Podle tiskové zprávy Ministerstva zemědělství z roku 2017 dochází v Česku ke snížení produkce jahod. Důvodem je nedostatečný přísun srážek do půdy, a také náhlé přímerní mrazíky v jarních měsících. Nejhorší situace byla v roce 2018, kdy vlivem vysokých teplot došlo k vysychání porostů. Sběrání jahod bylo velmi krátké a v řadě krajů skončilo již v polovině června. V roce 2016 tato plodina zaujímal více než 1800 hektarů, a to jak u profesionálních pěstitelů, tak u zahrádkářů. Roční spotřeba na osobu se pohybuje okolo 2,5 kg/rok. V tabulce č.1 je znázorněn celkový vývoj pěstebních ploch, a také výnosů jahod včetně dopočtu domácností. Česká republika není soběstačná v produkci jahod a procento dovozu

jahod každým rokem roste. Největšími vývozci jahod jsou Španělsko, Německo, Belgie a Maroko.

Tabulka 1: Vývoj pěstební plochy a výnosu jahod v ČR

ČSÚ (available from: http://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2017_zacina-sklizen-jahod-ministerstvo-pro.html)

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Plocha jahod (ha)	2 153	1 897	1 814	1 789	1 643	1 779	1 688	1 878
Výnos jahod (t/ha)	5,02	5,04	4,86	4,02	4,85	5,81	5,74	4,94

3.2 Obsahové látky plodů jahodníku

Jahody se v České republice řadí k nejpobulárnějšímu ovoci, jsou pěstovány pro sladkou chuť a výrazné aroma. Majoritní složka, a to zhruba z 89 %, je voda, dále jsou v ovoci přítomny cukry s průměrným obsahem 6 %, bílkoviny 0,13 % a další zdravé prospěšné látky, které jsou popsány v tabulce 2.

Tabulka 2: Průměrné složení plodu jahodníku (McCance & Widdowson 2002)

Složka	Jednotka	Průměrný obsah (mg/100 g)	Prvek	Průměrný obsah (mg/100 g)	Složka	Průměrný obsah (mg/100 g)
voda	g/100 g	89,5	Na	6	vitamin C	77
bílkoviny	g/100 g	0,13	K	160	vitamin D	0
tuky	g/100 g	0,1	Ca	16	vitamin E	0,2
cukry	g/100 g	6	Mg	10	vitamin B6	0,06
celkový dusík	g/100 g	0,13	P	24	vitamin B12	0
vláknina	g/100 g	1,1	Fe	0,4	Vitamin A	0,008
mastné kyseliny	g/100 g	stopy	Cu	0,07	thiamin	0,03
cholesterol	g/100 g	0	Zn	0,1	riboflavin	0,03
energie	kJ/100 g	113	Mn	0,3	niacin	0,6

Dále se v plodech jahodníku nachází ve stopovém množství vitamin K, tokoferoly, cholin, lutein a celá řada flavonoidů, jako jsou anthokyany, flavonoly a fenolové kyseliny (Giampieri et al. 2012). V následujících podkapitolách jsou vybrané mikronutrienty stručně charakterizovány.

3.2.1 Vitaminy

Vitaminy jsou chemické látky, které spolu s proteiny, lipidy a sacharidy tvoří nepostradatelnou část lidské stravy. Většina vitaminů patří do skupiny látek esenciálních, lidské tělo je nedokáže syntetizovat biochemickými procesy, a tudíž musejí být přijímány spolu s potravou. Z hlediska klasifikace se řadí mezi mikronutrienty. Oproti ostatním nepostradatelným výživovým látkám je jejich denní příjem menší. Vitaminy jsou tedy součástí živin, a i když oproti makromolekulárním látkám se jejich energetická hodnota rovná nule, jsou nenahraditelné pro přirozený chod organismu. Tyto organické látky jsou nezbytné pro správný růst, vývoj a funkci jednotlivých orgánů i celého organismu.

Některé vitaminy vytvářejí důležité oxidačně redukční systémy. Mnoho vitaminů funguje jako kofaktory enzymů, což znamená, že se účastní jako biokatalyzátory mnoha metabolických reakcí. Řada vitaminů patří mezi antioxidanty, látky, které neutralizují účinek volných radikálů a chrání buněčné struktury (Hlúbik & Opltová 2004).

3.2.1.1 Vitamin A

Vitamin existuje ve dvou formách jako pravý vitamin A, jiným názvem retinol, který se v největším množství nachází v živočišné potravě, zatímco druhou formu tvoří karoteny, které se nacházejí především v potravě rostlinné, tedy i v plodech jahod (Northop-Clewes & Thurnham 1999).

Karoten neboli provitamin A se hromadí v játrech a v případě potřeby syntetizuje retinol, který je transportován do krevního systému. Cirkulující retinol funguje jako navazující receptor, spolupracuje s DNA a při procesu transkripce je nezbytný k syntéze proteinů. Díky této funkci v organismu se také řadí k látkám, které mají podobnou strukturu jako hormony štítné žlázy (Ball 2006).

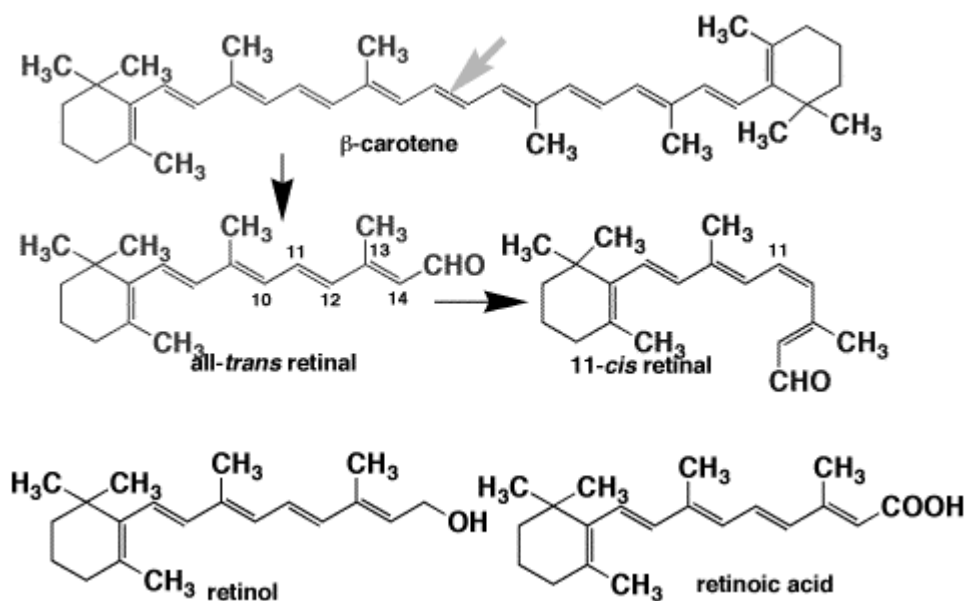
Retinol je nezbytný pro přirozený průběh embryogeneze, růst a diferenciaci buněk, rozmnožování a je velmi důležitý pro normální vidění. Tato látka napomáhá syntéze zrakových pigmentů v sítnici. Při nedostatku vitaminu A se zrakový pigment rodopsin produkuje nedostatečně a tento fakt může vést až k šerosleposti, popřípadě trvalé slepotě. S tímto problémem se můžeme nejčastěji setkat v zemích s nedostatkem jídla, u dětí mladších pěti let nebo u vegetariánů (Chytil 1999).

Vitamin A se podílí na správném chodu imunitního systému, chrání organismus proti infekcím postihujícím dýchací ústrojí. Zlepšuje stav kůže, vlasů, nehtů a je důležitým faktorem při růstu kostí a v nich se ukládajících minerálních látek. Karotenoidy v jahodách jsou nepostradatelnými antioxidanty, díky svému chemickému složení mají důležitou roli v prevenci proti některým nádorovým onemocněním, zejména v prevenci proti rakovině plic (Ball 2006).

Jejich další vlastností stojící za zmínku je to, že chrání kůži před vlivem ultrafialového záření. K dnešnímu dni je známo asi 600 těchto barviv, které se nacházejí hlavně v ovoci a v zelenině. V plodech jahodníku se nachází především beta-karoten, kryptoxantin, lutein

a zeaxantin (Gündüz 2016). Beta-karoten se vyskytuje ve formě dvou stereoizomerů, snižuje riziko srdečního infarktu a mozkové příhody. Při syntetickém stanovení převažuje výroba trans-izomeru, který slouží jako potravinový doplněk a kosmetický výrobek (Mindell & Mundis 2010).

Retinol z chemického hlediska můžeme zařadit do skupiny terpenových alkoholů se čtyřmi izoprenovými jednotkami. Přeměna provitaminu β -karotenu na retinol je znázorněna na obrázku 1.



Obrázek 1: Přeměna β -karotenu na retinol

(available from: <http://www.kiriya-chem.co.jp/q&a/image/retinal.gif>)

3.2.1.2 Vitamin E

Vitamin E je souhrnné pojmenování skupiny osmi látek, které jsou odvozeny od tokolu a tokotrienolu, v jejichž molekule se nachází chromanové jádro a postranní řetězec. Jednotlivé látky se liší počtem a polohou metylových skupin a jsou označovány řeckou abecedou. Podstatně vyšší aktivitu vykazují látky odvozené od tokolu, tzv. tokoferoly. Účinnost klesá se snižováním počtu metylových skupin s tím, že neúčinnější je α -tokoferol. Velký rozdíl v účinnosti je také mezi přírodními a syntetickými tokoferoly (Hlúbik & Opltová 2004). V plodech jahodníku se nachází převážně α -tokoferol, ale najdeme zde s nižší koncentrací i β -tokoferol, γ -tokoferol a δ -tokoferol (Gündüz 2016).

Protože vitamin E prokazuje univerzální ochranu membrán, je uložen ve všech tkáních. Nejvyšší koncentrace byly stanoveny v játrech a v depotním tuku. V nižších koncentracích se pak nachází ve svalech, děloze, varlatech, krvi a nadledvinách. Oproti ostatním lipofilním vitaminům se v těle ukládá jen velmi krátkou dobu podobně jako vitamin B a C (Brigelius-Flohé 2006).

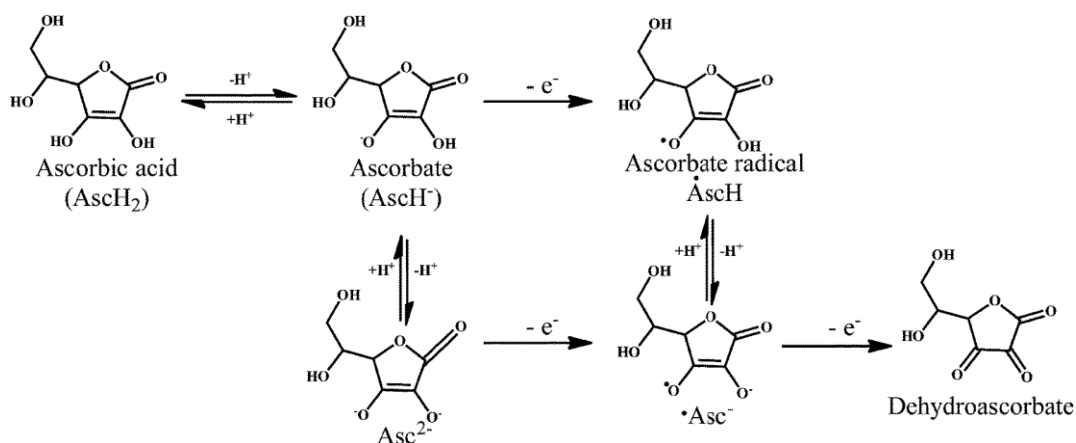
Vitamin E má nepostradatelný antioxidační účinek, jeho funkcí je ochrana buněčných membrán tím, že aktivně vstupuje do řetězové reakce a chrání biomembrány před oxidativním útokem volných radikálů. Tyto radikály nejenže poškozují lipidy, ale sekundárně produkují hydroperoxydy lipidů, které způsobují jejich peroxidaci. Brání také oxidaci škodlivého LDL cholesterolu. V této souvislosti se zdůrazňuje úloha vitaminu v posílení imunitního systému, což znamená, že jeho dostatečný příjem může zabránit vzniku nádorových a kardiovaskulárních onemocnění. Dnes je známý také ochranný vliv před účinkem negativního UV záření na pokožku, a tedy před vznikem nádorových onemocnění kůže (Brigelius-Flohé 2006).

Metabolismus vitaminu E není dosud zcela objasněn. Prokazatelná karence vitaminu se v lidské populaci nachází jen velmi zřídka a nikdy není výsledkem nedostatečné výživy. Převážně se projevuje jako výsledek genetických poruch ve změně transportní bílkoviny pro α -tokoferol nebo jako výsledek špatné absorpce tuků. Pacienti s takto poškozeným genem mají abnormálně snížené hladiny vitaminu E v plazmě, což vede k onemocnění myopatií a periferní neuropatií. U dětí se nejčastěji vyskytuje anémie jako důsledek poškození volnými radikály (Hlúbik & Opltová 2004).

3.2.1.3 Vitamin C

Vitamin C tvoří dvě biologicky aktivní látky, L-askorbová kyselina a L-dehydroaskorbová kyselina, která je jejím produktem. Většina rostlin a zvířat syntetizuje vitamin C z glukosy, lidé, primáti a morčata však mají mutaci v genetickém kódu L-gulonolaktónoxidas (EC 1.1.3.8) a ztratili schopnost tento vitamin v těle syntetizovat. Kvůli této skutečnosti je nezbytné vitamin C přijímat v potravě (Carr et al. 2012).

Askorbová kyselina je účinným antioxidantem a je kofaktorem několika enzymů. Účastní se biosyntézy kolagenu, karnitinu, v metabolismu cholesterolu, steroidů a při amidaci peptidů. Vitamin C udržuje kovové ionty v redukovaném stavu a redukuje železo z potravy, čímž blokuje reakce, při kterých vznikají karcinogenní látky. Tento vitamin také stimuluje obranyschopnost člověka, zvyšuje aktivitu fagocytů a chrání membrány před oxidačním poškozením. Askorbát v malých dávkách snižuje bolest, brání vzniku karcinomů trávicího traktu a dalších nádorových onemocnění (Carr et al. 2012). Antioxidační funkce kyseliny askorbové je popsána na obrázku 2.



Obrázek 2: Antioxidační funkce askorbové kyseliny

(available from:

http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2015/RA/c4ra13315c/c4ra13315c-s4_hi-res.gif)

Nevyužitý vitamin C je z těla ven vylučován močí. U osob, kterým nefungují správně ledviny, může docházet k tvorbě ledvinových oxalátových kamenů, protože metabolitem vitaminu C je šťavelová kyselina. K této nemoci dochází v důsledku podávání vysokých dávek tohoto vitaminu (Vávrová 2007).

Vitamin C se nachází ve všech živých organismech, k přirozeným zdrojům patří nejvíce potraviny rostlinného původu. Celoročním zdrojem tohoto vitaminu jsou brambory, které zajišťují jeho potřebu až na 30 %, zelenina asi 40 % a ovoce, zejména citrusové plody 30 %. Ovoce a zelenina jsou tedy nejbohatším zdrojem, je nutné však zmínit, že mezi jednotlivými druhy jsou velké rozdíly, které závisí na pěstitelských podmínkách, na stupni zralosti a způsobu skladování. Ze živočišných potravin se vitamin C nachází v malém množství v mléce a v mase, nenachází se ve vejcích ani v obilovinách (Uherová 2002).

Askorbová kyselina patří k nejméně stabilním vitaminům, v přítomnosti kyslíku se lehce rozkládá. Rozklad vitaminu je urychlený působením tepla, pH prostředí, a také přítomností železa a mědi. Ke ztrátám dochází při mechanickém poškození rostlinných pletiv, a to čištěním, krájením a další úpravou ovoce a zeleniny, jako je vaření, umývání a sterilace. Vitamin C se díky svým vlastnostem používá k fortifikaci potravin, což je obohacování potravin, vitaminy a minerálními látkami pro zajištění lepších výživových hodnot (Uherová 2002).

Klasickým projevem nedostatku vitaminu C jsou kurděje, které v dnešní době již nejsou problematickým onemocněním. Nyní se karence vitaminu projevuje nejčastěji náchylností k infekčním onemocněním, únavou a zdlouhavým hojením zlomenin. Tím, že vitamin C ovlivňuje resorpci železa, a tedy i tvorbu červených krvinek, nedostatek vitaminu může způsobit krvácení sliznic a tvorbu modřin (Vávrová 2007).

Trvalá karence se projevuje také při dlouhodobém stresovém zatížení, protože organismus potřebuje askorbovou kyselinu na tvorbu adrenalinu (Hlúbik & Opltová 2004).

Při stanovení potřebných dávek vitaminu C pro lidský organismus se bere v úvahu nejen prevence kurdějí, ale i možné úlohy této látky v prevenci rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění. Doporučená denní dávka pro průměrného obyvatele České republiky byla stanovena na 100 mg za den (Hlúbik & Opltová 2004; Společnost pro výživu 2011).

3.2.1.4 Thiamin

Ve vodě rozpustný vitamin, též známý jako tiamin, se skládá ze substituovaného pyrimidinového a thiazolového jádra, která jsou mezi sebou spojena methylenovým můstkem. Tiamin se v živých organismech vyskytuje ve dvou biologicky aktivních formách. První forma, tiamindifosfát (TDP), je velmi důležitým koenzymem v klíčových reakcích energetického metabolismu. Účastní se pentózového cyklu, kde je kofaktorem pyruvátdehydrogenasy (EC

1.2.4.1) a transketolasy (EC 2.2.1.1) v metabolismu sacharidů a také α -ketoglutarátdehydrogenasy (EC 1.2.4.2) v cyklu citrátovém. Druhá forma, tiaminrifosfát (TTP), působí v centrálním nervovém systému a s největší pravděpodobností také ve svalech při aktivaci kanálu chloridových iontů (Institute of medicine 1998).

3.2.1.5 Riboflavin

Vitamin B₂ neboli riboflavin patří do skupiny flavinů. V biochemických reakcích se vyskytuje volný nebo vázaný ve formě koenzymů. Většina flavinů jsou sloučeniny žluté barvy s charakteristickou žluto-zelenou fluorescencí na UV světle. Riboflavin je z chemického hlediska heterocyklická sloučenina, která je produkována všemi rostlinami a mnoha mikroorganismy, jako je například *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes* a některé *Lactobacillales*. Volný riboflavin se nachází v sítnici, účastní se procesu vidění, kde převádí krátké modré paprsky na zelenožluté, a tím umožňuje vidění za šera. Riboflavin je nenahraditelnou součástí lidské a zvířecí výživy, slouží jako prekurzor pro flavinmononukleotid (FMN) a pro flavinadeninukleotid (FAD), které mají podstatnou roli v přenosu atomů vodíku v oxidativních procesech buňky. Stejně jako ostatní vitaminy B-komplexu se účastní metabolismu bílkovin, tuků a sacharidů a při generaci energie cestou ATP (Abbas & Sibirny 2011).

3.2.1.6 Niacin

Vitamin B₃ byl v minulosti známý jako P-P vitamin, později se začal používat název niacin a v roce 1954 IUPAC potvrdila název nikotinová kyselina a její amid. V současné době se termín niacin používá pro skupiny látek, které tvoří nikotinová kyselina, nikotinamid a jejich deriváty (Hlúbik & Opltová 2004).

Nikotinamid je součástí nikotinamidadeninukleotidu (NAD) a nikotinamidadeninukleotidfosfátu (NADP), které jsou nepostradatelné při metabolických procesech buňky. Oba koenzymy se účastní syntézy a odbourávání sacharidů, mastných kyselin i aminokyselin, NAD navíc reakcí při replikaci DNA a při mobilizaci vápníku. Niacin hraje velkou roli v metabolismu lipidů, zvyšuje koncentraci HDL cholesterolu v krvi a snižuje koncentraci LDL cholesterolu a triglyceridů (Fitzgerald & Song 2013).

3.2.1.7 Vitamin B₆

Pod pojem vitamin B₆ neboli pyridoxin se řadí tzv. pyridoxinová triáda, tvořená třemi fyziologicky účinnými látkami - pyridoxolem, pyridoxalem a pyridoxaminem. Pyridoxin je vitamin rozpustný ve vodě, který je syntetizovaný rostlinami a mikroorganismy (Vávrová 2007).

Pyridoxin podobně jako ostatní vitaminy B komplexu nelze v těle skladovat a jeho nadbytek je vyloučen po šesti hodinách po požití. Přítomnost tohoto vitamínu zajišťuje dobrou funkci imunitního systému, a proto je nezbytné jeho pravidelné dodání v potravě. V kombinaci s kyselinou listovou pomáhá trávit aminokyselinu cystein a snižuje riziko vzniku ischemické choroby srdeční. Podporuje syntézu nukleových kyselin a pomáhá při přeměně tryptofanu na

niacin. Tlumí křeče ve svalech a používá se při prevenci zánětu nervů (Mindell & Mundis 2010).

3.2.2 Vliv technologických postupů na obsah vitaminů v potravinách

Převážná většina vitaminů patří k látkám labilním, a proto je nezbytné dbát na správný postup při výrobě a skladování potravin. Na stabilitu složek potravin má vliv teplota, světlo, kyslík, hodnota pH a přítomnost některých kovů. Ztráty vitaminů ovlivňuje také vyluhování do vody a délka skladování potravin. K nejméně stabilním vitaminům patří listová kyselina, vitamin C (Hendrychová & Malý 2013). Na světlo jsou citlivé hlavně vitaminy rozpustné v tucích, riboflavin a listová kyselina.

K velkému úbytku vitaminů dochází při tepelném zpracování potravin. Největší ztráty vitaminů jsou způsobeny vařením. Například při klasickém způsobu vkládání potravin do studené vody jsou ztráty vitaminu C 53,8 %, při vkládání zeleniny do vody vroucí již pouze 37,8 %. K velkým ztrátám askorbové kyseliny dochází také při mytí ovoce a zeleniny. Ztráty vitaminu C výluhem jsou vyšší u listové zeleniny než u kořenové, protože má větší povrch. (Selman 1994).

Při tepelné úpravě zeleniny je důležité dbát na správnou délku postupu a upřednostňovat vaření zeleniny vcelku pro zachování biologicky cenných látek. Přidáním soli do vroucí vody se zpomaluje vyluhování vitaminů (Selman 1994).

Při přípravě zeleniny a ovoce je nevhodné používat nože vyrobené z mědi a železa, přítomnost těchto iontů ovlivňuje množství askorbové kyseliny v surovině (Skibsted 2010).

Největší procento vitaminů se nachází v čerstvých surovinách, které nejsou tepelně upravené, z tohoto důvodu je doporučováno ovoce a zeleninu konzumovat především syrovou.

3.2.2.1 Vliv mražení na obsah vitaminu C v jahodách

Množství kyseliny askorbové v zelenině a ovoci je ovlivněno mnoha faktory, zejména klimatickými podmínkami působícími na rostlinu během růstu, genotypem rostliny, stupněm zralosti během sklizně a způsobem dalšího postsklizňového zpracování. Obecně se dá konstatovat, že technologické procesy a následné skladování snižují množství vitaminu C v jahodách (Nadulski et al. 2019).

Jedním ze šetrnějších způsobů dlouhodobého skladování potravin je zmrazení. Vlivem nízkých teplot dochází především ke zpomalení životních dějů v ovoci. Snižováním teploty pod bod mrazu dochází k postupnému zpomalování, až k zastavení životních dějů mikroorganismů. Zmrazením ovoce dochází k tvorbě krystalků a ke zvětšování objemu vody. Na zvýšenou tvorbu krystalů je zejména kritická teplota od $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, a proto je žádoucí tuto teplotu rychle překonat. Vznikající ledové krystaly mechanicky poškozují rostlinná pletiva a degradují barviva. Při správném dodržování technologických postupů je nutné jahody zmrazit ihned po sklizni a udržovat konstantní teplotu. Obvykle se chladí na teploty nižší než $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ibl et al. 1971).

Velký vliv na obsah vitaminu C v jahodách má především rozmrazování. Ztráty tekutin jsou jednou z hlavních příčin úbytku nutričně prospěšných látek. Je potřeba zvolit způsob rozmrazení podle způsobu zmrazení. Při pomalém zmrazení je nutné volit také pomalé

rozmrazování, a to samé platí u rychlého. Ztráty vitamínu C se pohybují od 30 % až do 80 %, záleží na vhodnosti a šetrnosti přípravy a skladování (Ševčík & Pohůnek 2017).

Parametry rozmrazování	Vitamín C (mg/100g)	Ztráta okapem (%)
Standard (mražené jahody)	205,6 ± 1,8	-
20 °C/8 h	160,8 ± 13,3	9,1 ± 0,0
20 °C/48 h	14,8 ± 1,4	22,6 ± 0,1
37 °C/2 h	170,8 ± 15,7	17,4 ± 0,4
37 °C/24 h	40,7 ± 3,8	19,2 ± 0,4
Mikrovlnka/10 min	197,4 ± 4,1	16,8 ± 0,2
4 °C/24 h	134,1 ± 9,9	11,6 ± 1,1
4 °C/48 h	104,5 ± 10,4	16,8 ± 0,4

Obrázek 3: Obsah vitamínu C v jahodách dle způsobu rozmrazování (Ševčík & Pohůnek 2017)

3.2.3 Minerální látky

Jedná se o esenciální látky, nacházející se v lidském těle ve velmi malém množství. Minerální prvky jsou zcela nezbytné pro přirozený chod organismu, podílejí se na výstavbě tkání a účastní se chemických reakcí, v roli kofaktorů některých enzymů. Lidské tělo si tyto látky nedokáže samo vytvořit, a proto je zcela zásadní jejich přísun v pestré stravě.

Madžuková (2005) dělí minerální látky do čtyř skupin podle denní potřeby pro organismus na:

- Makroelementy – sodík, draslík, vápník, hořčík, fosfor, chlór a síru
- Mikroelementy - železo, měď, zinek, mangan, křemík, lithium
- Ultrastopové prvky - kobalt, selen, molybden, chróm, jód, fluor, nikl a vanad

V plodech jahodníku se nachází sodík, draslík, vápník, hořčík, fosfor, železo, měď a v nepatrném množství také mangan a zinek.

3.2.3.1 Draslík

Draslík je nezbytným minerálním prvkem pro celou řadu fyziologických a biochemických procesů probíhajících v organismu. Jedná se především o proteosyntézu, fotosyntézu, osmoregulaci a aktivaci celé řady enzymů. Podílí se na hospodaření rostliny s vodou a chrání ji proti nepříznivým podmínkám, zejména před suchem. Ovlivňuje otevírání průduchů, pokles vodního potenciálu a směr koncentračního spádu. Obsah vody v buňce působí na plazmatickou membránu a podílí se na udržování tvaru a pevnosti rostliny. K je nositelem

elektrického náboje, podílí se na regulaci membránového potenciálu, a tím dochází k udržení pH a k neutralizaci záporných iontů (Kholová 2019).

3.2.3.2 Vápník

Vápník je nenahraditelným stavebním prvkem v lidském organismu. Hraje nezastupitelnou roli v prevenci osteoporózy a při mineralizaci kostí a zubů. Reguluje permeabilitu buněčné membrány, činnost žláz s vnitřní sekrecí a svalové kontrakce. Hraje nezastupitelnou roli při procesu srážení krve. Tento minerální prvek je také podstatný pro správnou funkci neurotransmiterů. Pro metabolismus Ca je nezbytný příjem vitamínu D a hormonů: parathormon a kalcitonin (Dostál 2005).

V rostlinách se většina Ca nachází v extracelulární podobě a jeho hlavní funkcí je zpevnění buněčné stěny. Toto zpevnění je zejména nutné pro udržení odolnosti pletiv proti mechanickému poškození a také proti bakteriálním a houbovým infekcím (Černý et al. 2018). Nedostatek Ca postihuje především kořeny, které začnou zahnívat a netvoří se, tak jak by měly. V rostlině je stavebním prvkem, ovlivňuje stabilitu, aktivitu enzymů a neutralizuje některé organické kyseliny (Richter 2004).

3.2.3.3 Hořčík

Hořčík neboli Mg je dalším významným kationtem, nacházejícím se v lidském těle ve formě Mg^{2+} . Hořčík je kofaktorem velkého množství enzymů. Tento prvek se účastní proteosyntézy, metabolismu sacharidů i tuků, podílí se na vzniku celé řady nezbytných látek, jako je acetylkoenzym A a kyselina citronová. V enzymových reakcích stabilizuje strukturu ATP. Další důležitou funkcí je jeho role v neurosvalovém přenosu. Mg má také nezastupitelný vliv na celý skelet, zvyšuje mineralizaci kostí a zlepšuje jejich kvalitu (Wilhelm 2005).

V rostlině hořčík zasahuje do mnoha metabolických procesů. Jako jednu z nejdůležitějších funkcí je nutné zmínit jeho přítomnost v chlorofylu, kde je vázán v porfyrinovém jádře. Mg se účastní celé řady chemických reakcí, aktivuje fosfokinázy a dekarboxylázy. Je nutné dbát na stálý přísun Mg pro rostliny v době vegetace (Richter 2004).

3.2.3.4 Fosfor

Fosfor je nepostradatelným makroprvkem pro správné fungování organismu. Je stavebním prvkem skeletu, mineralizuje kosti a zuby. Nachází se v organismu také ve formě intracelulárního iontu, účastní se celé řady enzymatických reakcí. P je také součástí makroenergetických sloučenin ve formě fosfátových vazeb nazývaných ADP a ATP. Nachází se v buněčných membránách, váže se na lipidy, nukleové kyseliny a další sloučeniny (Broulík 2013).

Rostliny potřebují fosfor již na začátku růstu. Nezbytné množství získávají ze semen, kde se nachází fyтин, a pak také ze sloučenin, které se nacházejí ve vnějším prostředí. Mladé listy obsahují větší množství organického P ve formě nukleových kyselin. Fosfáty pak dále najdeme v kořenech a stéblech. Půda dobře zásobovaná fosforem zajišťuje kvalitní výnosy a správný koloběh potravinového řetězce (Richter 2004).

3.2.3.5 Sodík

Sodík je v organismu považován za hlavní extracelulární kationt. Ovlivňuje stabilitu, objem a osmolaritu mimobuněčných tekutin, a tím udržuje stálost vnitřního prostředí. Sodík neboli Na udržuje acidobazickou rovnováhu, objem plazmy a přenáší nervové vzruchy. V menším množství se nachází v buňce, kde se účastní celé řady enzymatických reakcí. Příjem sodíku v lidském organismu je vždy dostačující, ze stravy je lehce dostupný a absorbovatelný. Hlavním zdrojem je především kuchyňská sůl a potravinová aditiva (Šubrtová & Matějová 2015).

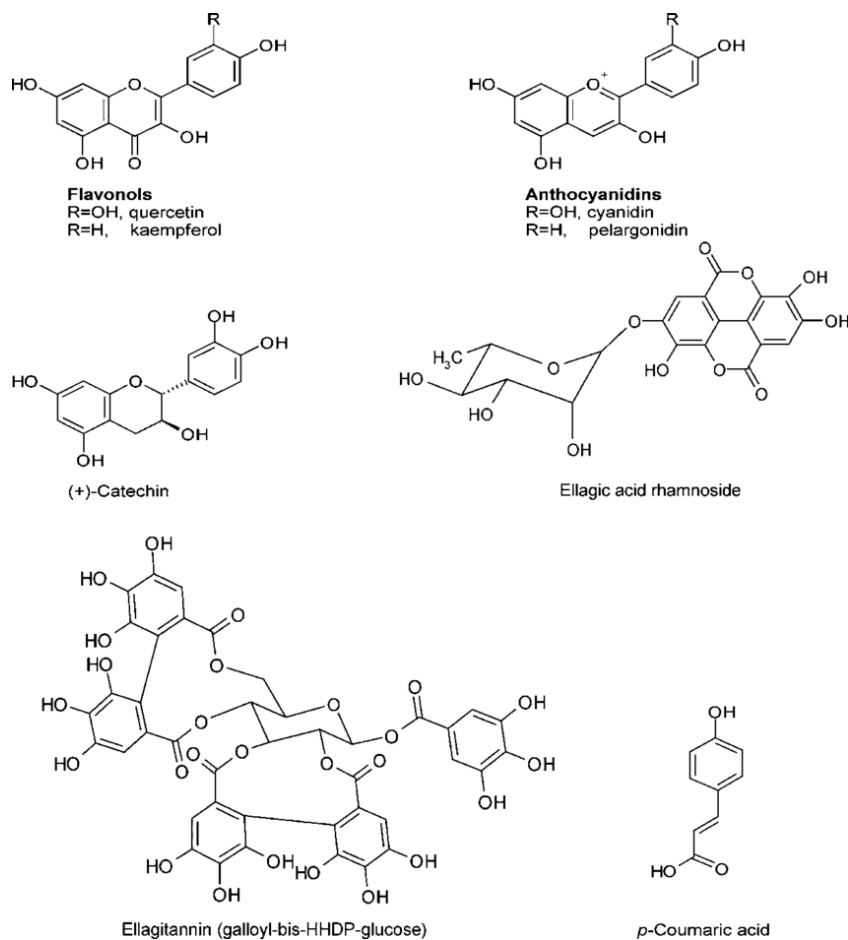
Sodík řadíme do skupiny prvků užitečných pro rostlinu, jeho význam však není jednoznačný, vždy záleží na druhu rostliny. V životním prostředí se zvyšuje obsah sodíku, a tím dochází i ke zvýšení množství Na v rostlinách. Vyšší míra Na v rostlině může ovlivnit přijímání jiných esenciálních prvků, protože Na je přijímán velmi snadno, v některých případech rychleji než draslík. V praxi je nutné dodávat sodík pouze některým druhům rostlin (Richter 2004).

3.2.4 Fenolové sloučeniny

Fenolové sloučeniny jsou látky, které se nacházejí ve všech produktech rostlinného původu. Tyto sloučeniny plní v rostlinném organismu celou řadu funkcí, ať už se jedná o ochranu rostlin před škůdci, nebo se může jednat o specifické vonné látky pro danou rostlinu. Fenoly jsou v jahodách považovány za bioaktivní látky s antioxidačním účinkem. Jedná se o aromatické metabolity, které obsahují alespoň jednu hydroxylovou skupinu vázanou na benzenový kruh. V současnosti je popsáno přes osm tisíc těchto látek (Formica 1995).

Nejvíce zastoupenou skupinou fenolických látek v plodech jahodníku jsou flavonoidy, především anthokyany, v nižší míře jsou pak zastoupeny flavonoly, flavanoly, dále pak hydrolyzovatelné taniny a fenolové kyseliny (Gündüz 2016). Flavonoidy jsou významná přírodní barviva. Některé látky jsou známé pro svoji trpkou chuť a další mají významnou biologickou aktivitu. Katechiny jsou barviva řady potravin; jedná se o antibakteriální látky s antioxidačními účinky. Flavonoly jsou nejvíce rozšířenou skupinou flavonoidů v rostlinných potravinách. V jahodách se vyskytuje kvercetin, který je jedním z nejsilnějších a nejrozšířenějších zástupců flavonolů (Andersen & Markham 2006).

Chemická struktura vybraných fenolických látek vyskytujících se v plodech jahodníku je znázorněna na obrázku 4.



Obrázek 4: Chemická struktura vybraných fenolických látek v jahodách

(available from

https://www.researchgate.net/publication/6286907_Polyphenol_Composition_and_Antioxidant_Activity_in_Strawberry_Purees_Impact_of_Achene_Level_and_Storage)

3.2.4.1 Anthokyany

Anthokyany jsou ve vodě rozpustné pigmenty nacházející se ve vakuolách některých druhů rostlin. Zbarvují se do různých barev v závislosti na pH; v kyselém roztoku bývají červené, v neutrálním fialové a v zásaditém modré. Plody obsahující flavonoidy, konkrétně anthokyany, vykazují nejvyšší antioxidační aktivitu (Gündüz 2016). Anthokyany, které jsou pro potravinářský průmysl nejvýznamnější, se řadí do šesti skupin:

- Kyanidin
- Pelargonidin
- Peonidin
- Delfinin

- Petunidin
- Malvidin

V některých druzích zeleniny a ovoce se vyskytuje pouze jeden typ tohoto pigmentu, například v jablkách se nachází pouze kyanidin, oproti tomu v jahodách najdeme anthokyany odvozené od kyanidinu a pelargonidinu. Koncentrace těchto pigmentů v jahodách je velmi variabilní a závisí na odrůdě, datumu sklizně, stupni zralosti a klimatických faktorech (Gündüz 2016; Velíšek 1999).

3.3 Metody stanovení vitamínu C a celkových anthokyanů v potravinách

Existuje mnoho metod, které jsou určeny ke stanovení vitamínu C a celkového množství anthokyanů v potravinách. Celkový obsah vitamínu C se stanovuje jako součet kyseliny askorbové a dehydroaskorbové ve vzorku. V současnosti dochází stále k rozvoji nových metod hlavně za účelem společného stanovení těchto dvou kyselin. Při výběru vhodné analytické metody je důležité brát zřetel především na selektivitu a citlivost metody, vlastnosti zkoumaných analytů, výběr vhodného detektoru a interních standardů, stabilitu a biologickou aktivitu zkoumaných látek (Nováková et al. 2008).

Trendem při výběru metody měření jsou především minimalistické tendence. Cílem je redukce množství vzorku, zkrácení doby přípravy, minimalizace purifikačního postupu, a tím i omezení ztrát získaných přečišťováním. V neposlední řadě pak stále zmenšování měřících přístrojů, což se díky vývoji techniky daří.

Chromatografické metody, zejména kapalinová chromatografie a kapilární elektroforéza, patří k nejvhodnějším technikám stanovení askorbové kyseliny. Při kombinaci těchto technik s UV spektroskopií, fluorescencí nebo elektrochemickou detekcí získáváme velmi citlivou a přesnou metodu pro stanovení vitamínu C. Další metody pro měření askorbové kyseliny jsou například oxidimetrická stanovení, spektrofotometrie, titrace a polarografie (Eitenmiller et al. 2008).

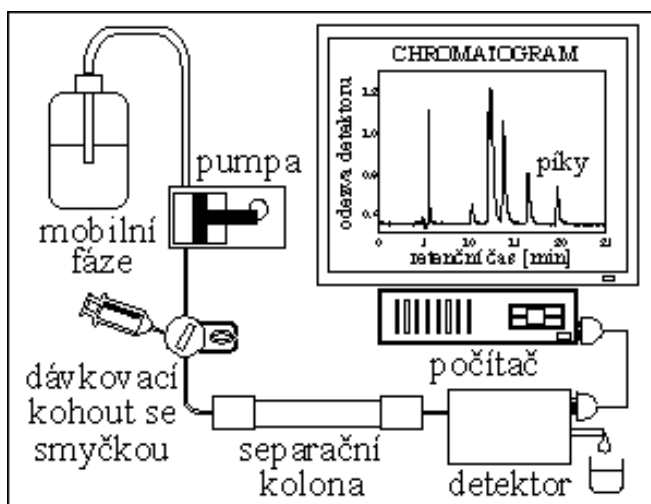
V další kapitole bude podrobně popsána metoda vysoceúčinné kapalinové chromatografie a metoda spektrofotometrie, které byly použity pro stanovení vitamínu C a celkových anthokyanů v této práci.

3.3.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) se v současné době řadí mezi nejpoužívanější a velmi univerzální metody. Jedná se o fyzikálně-chemickou separační metodu. Principem této metody je rozdělení analytu mezi dvě nemísitelné fáze. Separace složek probíhá mezi stacionární a mobilní fází. Mobilní fáze je kapalná, zatímco stacionární fáze se nachází na pevném nosiči uvnitř kolony a je nepohyblivá (Churáček 1990).

Hlavními přednostmi HPLC je především vysoká účinnost, široké spektrum použití a opakovatelnost. Tato metoda je vhodná pro stanovení látek nepolárních, organických, méně těkavých. Na začátku stanovení jsou vzorky nadávkovány do mobilní fáze, která přenáší jednotlivé analyty na kolonu. V koloně dochází k rozdělení analytů a k ustálení fyzikálně-chemické rovnováhy. Po průchodu separační kolonou jsou látky detekovány v detektoru. Výstupem celé metody je graf (chromatogram) ukazující závislost odezvy detektoru na

retenčním čase a ploše píku. Tvar píku se dá ovlivnit složením mobilní fáze nebo stacionární fáze a změnou pH mobilní fáze. Chromatografii lze rozdělit na normální a na reverzní fázi. Při normální fázi je stacionární fáze polární, zatímco při reverzní je nepolární. Stacionární fáze se nachází nejčastěji ve skleněných nebo kovových kolonách odolných vysokému tlaku. Složení mobilní fáze má vliv na účinnost kolony, retenční a kapacitní poměr, rozlišení, citlivost a dobu analýzy. Jako mobilní fáze se nejběžněji používá voda, ethanol, methanol, benzen, acetonitril. Základní detektory používané v HPLC jsou spektrofotometrické UV/VIS, DAD, refraktometrické, fluorescenční, elektrochemické a hmotnostní (Klouda 2003). Jednotlivé části kapalinového chromatografu jsou popsány na obrázku 5.



Obrázek 5: Schéma chromatografu

(available from <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/images/obr21.gif>)

3.3.2 Spektrofotometrie

Spektrofotometrie patří do skupiny optických metod. Principem této metody je interakce elektromagnetického záření a analyzované látky, kdy dochází k absorpci záření částicemi vzorku. Detekce může probíhat v UV oblasti, VIS oblasti nebo v infračervené oblasti, které se liší různou vlnovou délkou. Množstvím absorbovaného záření se mění energie molekuly a dochází ke vzniku excitovaného atomu. Část záření, které roztok propustí, následně projde detekcí v detektoru. Velmi důležitou veličinou je transmitance, která popisuje zeslabení intenzity prošlého světla, které je vždy nižší než intenzita světla dopadající na látku. Ve spektrofotometrii je důležitý Lambert-Beerův zákon, na jehož principu funguje celá metoda. Popisuje závislost koncentrace analytu na absorbanci, což je fyzikální veličina, která je vyjádřena jako záporný dekadický logaritmus transmitance (Volka 1995).

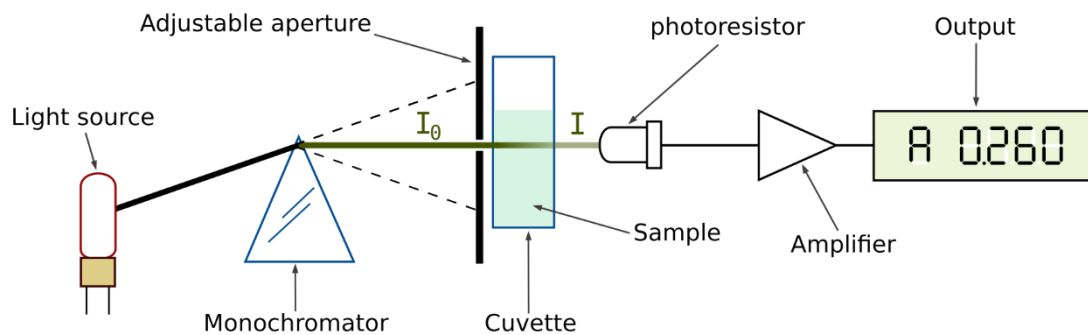
$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot l \cdot c$$

ϵ_{λ} = molární absorpční koeficient [$\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]

l = šířka kvivety [cm]

c = koncentrace látky [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

Absorpce záření se měří na spektrofotometru a výsledkem je absorpční spektrum, které je dále vyhodnoceno metodou kalibrační křivky (Volka 1995). Jednotlivé části spektrofotometru jsou popsány na obrázku 6.



Obrázek 6: Schéma spektrofotometru

(available from <https://thereaderwiki.com/en/Spectrophotometry>)

4 Metodika

Cílem této diplomové práce bylo stanovení anthokyanů a vitamínu C v různých odrudách jahod skladovaných při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu dvou týdnů, čtyř a osmi měsíců od sklizně a na konci těchto měření pak vyhodnotit, jak se změnil obsah anthokyanů a vitamínu C v různých odrudách plodů jahod. Obsah askorbové kyseliny byl stanoven HPLC-UV/VIS detekcí. Obsah celkových anthokyanů byl stanovován spektrofotometricky v okyseleném extraktu ve viditelné oblasti. Data byla vyhodnocena graficky v programu Microsoft Excel a statisticky zpracována programem Statistica 12.0.

4.1 Popis analyzovaných vzorků

Na samotnou analýzu byly použity tři odrůdy jahod. První dvě odrůdy pocházely z Demonstračního a pokusného pozemku Suchdol. Třetí odrůda pocházela z firmy Jahody SCHWENK s.r.o. z plantáže v Praze-Uhřetěvesi. Odebrání jahod k analýze proběhlo 12.6.2018. Jahody byly ten den zbaveny nečistot, naváženy, vloženy do sáčků a zmrazeny na teplotu minus $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. První analýza proběhla po dvou týdnech 26.6.2018. Druhá analýza proběhla po čtyřech měsících 18.10.2018 a třetí analýza se uskutečnila 26.2.2019. Jednotlivé odrůdy vybrané na analýzu jsou popsány v tabulce 3.



Obrázek 7: Příprava jahod k zamrazení

Tabulka 3: Vybrané odrůdy na analýzu

Odrůda	Místo sběru
Dukát	Demonstrační a pokusný pozemek Suchdol
Pegasus	Demonstrační a pokusný pozemek Suchdol
Sonata	Jahody SCHWENK s.r.o., Uhřetěves

4.2 Popis odrůd

4.2.1 Dukát

Dukát je odrůda původem polská. Vznikla křížením dvou starších plodů Gorely a Holiday. V roce 1994 byla registrována v České republice. Rostlina se řadí do skupiny odrůd s vysokým výnosem a je odolná vůči škůdcům, proto ji pěstitelé často vyhledávají. Dukát se řadí mezi polopozdní odrůdy se středně vysokým vzrůstem a s dobrou odnožovací schopností. Plody jsou oproti jiným odrůdám tmavě červené. Jsou velké s kulovitým tvarem (Dlouhá 2003).

4.2.2 Pegasus

Pegasus je rostlina původně anglického původu vzniklá křížením odrůd starších. Jedná se poměrně o novou odrůdu, která byla registrována v České republice v roce 2005. Předností této odrůdy je prodloužená sklizeň oproti ostatním typům. Plodnost je však velmi nepředvídatelná, což může být nevýhodou. Plody jsou poměrně velké při první sklizni a postupně se zmenšují. Plody jsou oproti odrůdě Dukát světle červené (Dušková 2011).

4.2.3 Sonata

Jedná se o novou jednoploidní rezistentní odrůdu původem z Nizozemska. Tato odrůda je vhodná i pro pěstování v oblastech s vyšší nadmořskou výškou. Sonata je velmi odolná proti plísni. Plody jsou světle červené, velké, kuželovitého tvaru. Je vhodná pro velkopěstitele, a také pro zahrádkáře (Štěpán 2014).

4.3 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC

4.3.1 Pomůcky

- Odměrné válce 100 ml
- Ruční mixér Braun MR 6550 MCA (Braun, Německo)
- Nálevka
- Filtrační aparatura
- Odměrné baňky 50-1000 ml
- Automatické pipety (100-1000 μ l)
- Analytické váhy
- Injekční stříkačky
- LUT Syringe mikrofiltry Nylon s porozitou 0,22 μ m (Labicom s.r.o, Česká republika)
- HPLC vialka 12x32 (2 ml) (Chromservis, Česká republika)
- Víčka na vialky

4.3.2 Chemikálie

- Deionizovaná voda pro HPLC
- Kyselina metafosforečná (Penta, ČR)
- Kyselina sírová, 96 % (Lachner, ČR)
- Kyselina L-askorbová (Penta, ČR)

4.3.3 HPLC podmínky

Vzorky byly zpracovány na chromatografu Ultimate 3000, typ kolony Waltrex C18 za následujících podmínek chromatografické separace:

- Mobilní fáze: 2,5 mM kyselina sírová
- Eluce: gradientová
- Průtok: 0,6 ml.min⁻¹
- Teplota kolony: 30 °C
- Teplota sampleru: 10 °C
- Objem nástřiku: 10 µl
- Doba analýzy: 10 minut
- Detekce: DAD

4.3.4 Příprava standardních roztoků a zásobního roztoku

Před samotnou přípravou standardů byla připravena mobilní fáze 0,14 ml kyseliny sírové, bylo doplněno po rysku deionizovanou vodou do 1 l odměrné baňky. Poté byl připraven zásobní roztok navážením 30 g kyseliny metafosforečné s následným rozpuštěním v 1 l demineralizované vody. Standardy byly připraveny s účastí analytických vah, na kterých bylo naváženo 0,1 g kyseliny askorbové. Následně byla kyselina askorbová přemístěna do odměrné baňky, která byla doplněna zásobním roztokem kyseliny metafosforečné do 100 ml. V dalším kroku bylo odpipetováno z takto připraveného roztoku postupně do šesti baněk po 50 ml: 0,05 ml; 0,25 ml; 0,5 ml; 1,25 ml; 2,5 ml a 5 ml, které byly po rysku doplněny zásobním roztokem. Nakonec byly standardy přes mikrofiltr převedeny do vialek a byla vytvořena kalibrace v rozsahu 1-100 µg.ml⁻¹.

4.3.5 Příprava vzorků k analýze

Dva týdny před začátkem měření byly jahody očištěny a odváženy pomocí analytických vah do tří pytlíků o stejné hmotnosti a uloženy do mrazáku s teplotou -18 °C. Jednotlivé odrůdy byly naváženy a a naředěny následovně:

- Pegasus 26 g vzorku jahod + 75 ml 3% HPO₃
- Dukát 32 g vzorku jahod + 96 ml 3% HPO₃
- Sonata 27 g vzorku jahod + 81 ml 3% HPO₃

Vzorky byly dále mixovány, filtrovány a pětkrát naředěny (1 ml vzorku + 4 ml 3% HPO₃). Takto naředěné vzorky byly převedeny injekční stříkačkou přes nylonový mikrofiltr do HPLC vialky, která byla vložena do chromatografu. Analyzováno bylo šest vzorků, každá odrůda po dvou vzorcích.



Obrázek 8: Filtrování vzorků

Obrázek 9: Detail filtrování

4.4 Stanovení celkových anthokyanů spektrofotometricky

4.4.1 Pomůcky a použité přístroje

- Odměrné baňky 100-1000 ml
- Odměrný válec
- Ruční mixér Braun MR 6550 MCA (Braun, Německo)
- Nálevka
- Automatické pipety (100-1000 μ l)
- Analytické váhy
- Kapátko
- Plastové zkumavky s víčky
- UV/VIS Spektrofotometr Helios gama

4.4.2 Chemikálie

- Methanol (Lachner, ČR)
- Kyselina chlorovodíková 35%, (Lachner, ČR)

4.4.3 Příprava vzorků k analýze

Do 1 litrové odměrné baňky bylo odpipetováno 3 ml kyseliny chlorovodíkové a doplněno methanolem po rysku. Jednotlivé odrůdy jahod byly rozmixovány a do každé zkumavky bylo naváženo 1,5 g vzorku. Poté bylo do každé zkumavky odpipetováno 15 ml roztoku. V následujícím kroku bylo všech 12 zkumavek (každá odrůda 4 vzorky) vloženo do ultrazvukové lázně a ponecháno v ní 15 minut. V dalším kroku byly zkumavky centrifugovány na 5000 otáček po dobu 2 minut. Poté došlo k převedení do baněk a ke zbytku ve zkumavce bylo přidáno znovu 15 ml roztoku, celý postup byl dále dvakrát opakován v ultrazvukové lázni a centrifuze. Nakonec baňky byly doplněny po rysku do 50 ml a převedeny do vialek, jedna vialka zůstala se slepým vzorkem, což byl pouze roztok methanolu a kyseliny chlorovodíkové. Následně byly vzorky postupně vloženy do spektrofotometru. Kalibrace byla provedena podle kyanidu-3-glukosidu.

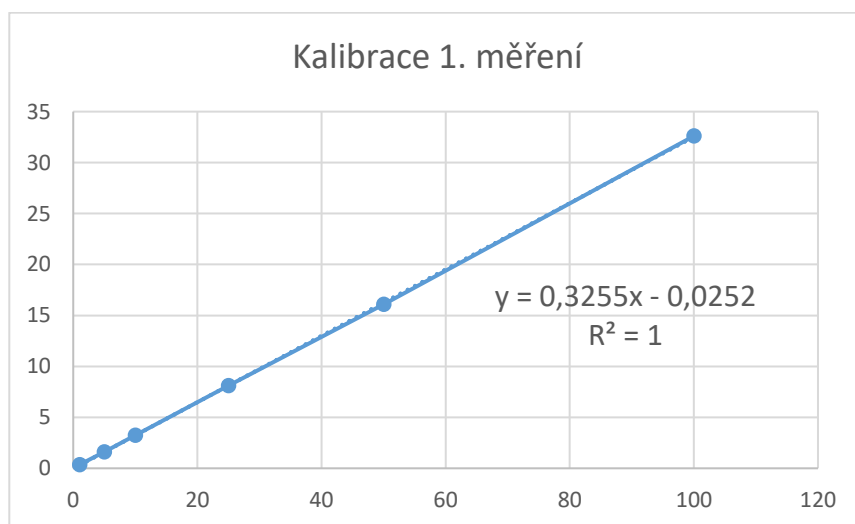


Obrázek 10: Příprava vzorků k analýze

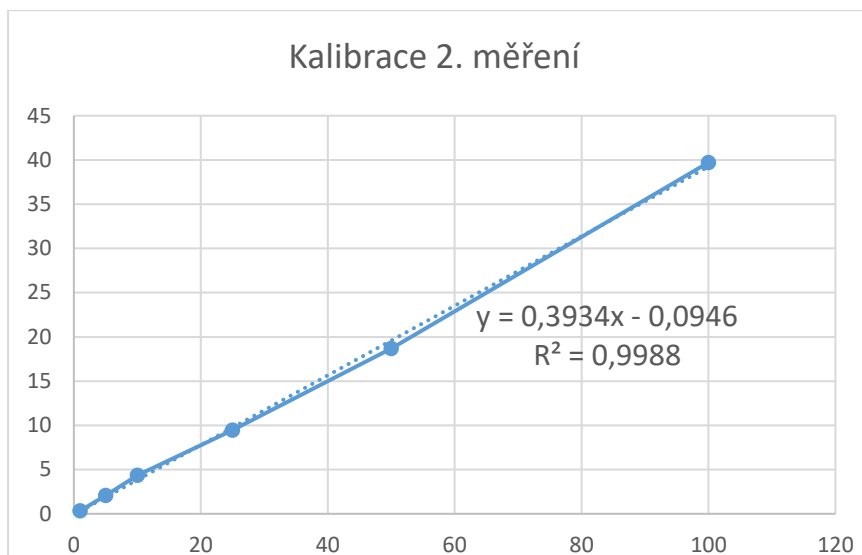
5 Výsledky

5.1 Stanovení vitamínu C metodou HPLC

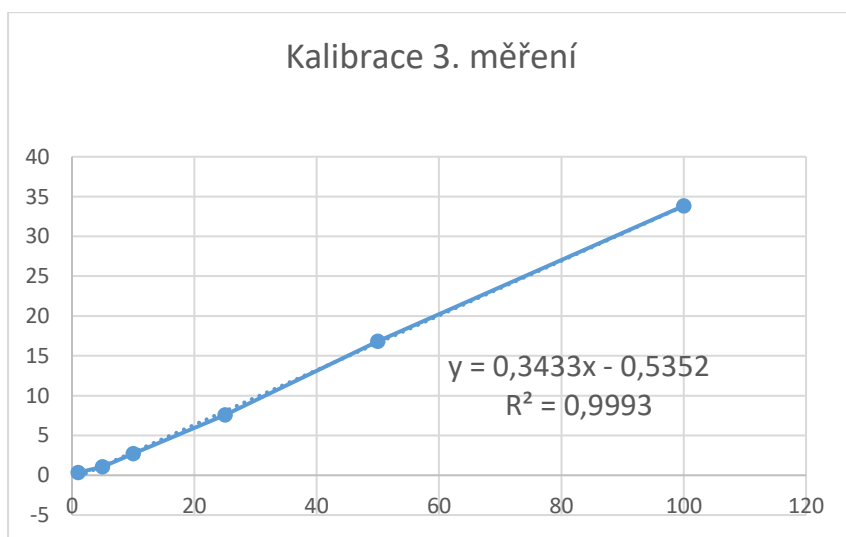
Výpočet kyseliny askorbové byl proveden v programu Excel pomocí kalibrační křivky a regresní rovnice. Za pomoci plochy pík jednotlivých standardů a vzorků byla stanovena regresní rovnice. Koncentrace kyseliny askorbové v μg byla dále pomocí původní navážky a výsledného objemu jednotlivých vzorků přepočítána na počet mikrogramů v gramu mraženého vzorku. Na grafech 2-4 jsou znázorněny kalibrační křivky jednotlivých měření.



Graf 2: Kalibrační křivka prvního měření

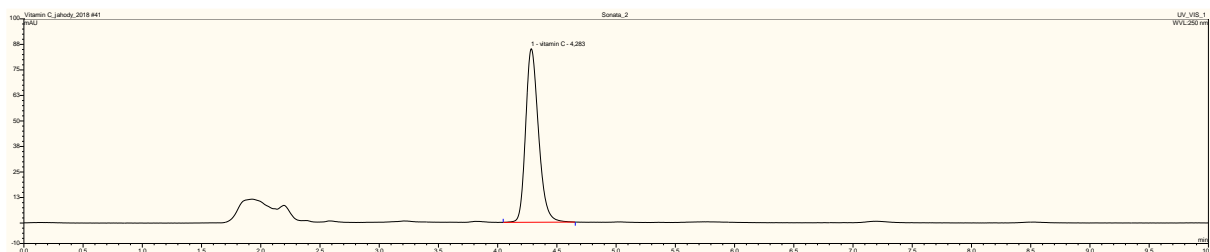


Graf 3: Kalibrační křivka druhého měření

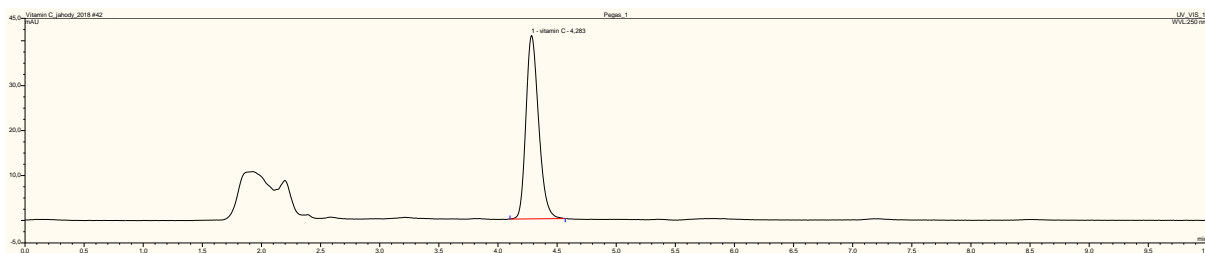


Graf 4: Kalibrační křivka třetího měření

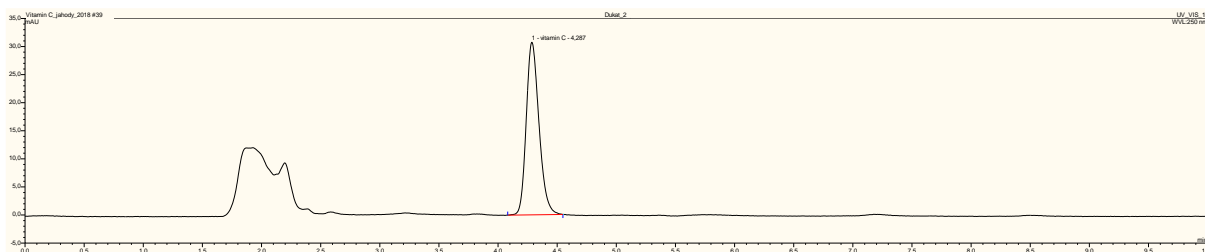
Chromatogramy z analýzy pro jednotlivé odrůdy jsou uvedené na obrázcích 11-13.



Obrázek 11: Chromatogram Sonata



Obrázek 12: Chromatogram Pegasus



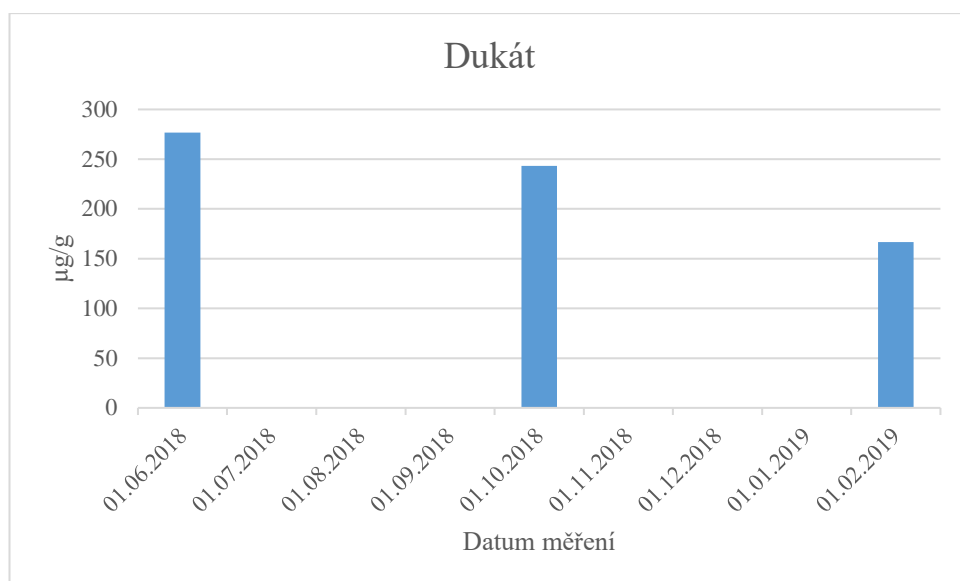
Obrázek 13: Chromatogram Dukát

5.1.1 Naměřené výsledky

5.1.1.1 Dukát

Tabulka 4: Obsah vitamínu C u odrůdy Dukát

	vitamin C $\mu\text{g/g}$ mraženého vzorku			
Dukát	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	275,289	276,8725	1,5835
		278,456		
	18.10.2018	246,2286	243,2448	2,9838
		240,261		
	26.02.2019	142,23	166,82565	24,59565
		191,4213		



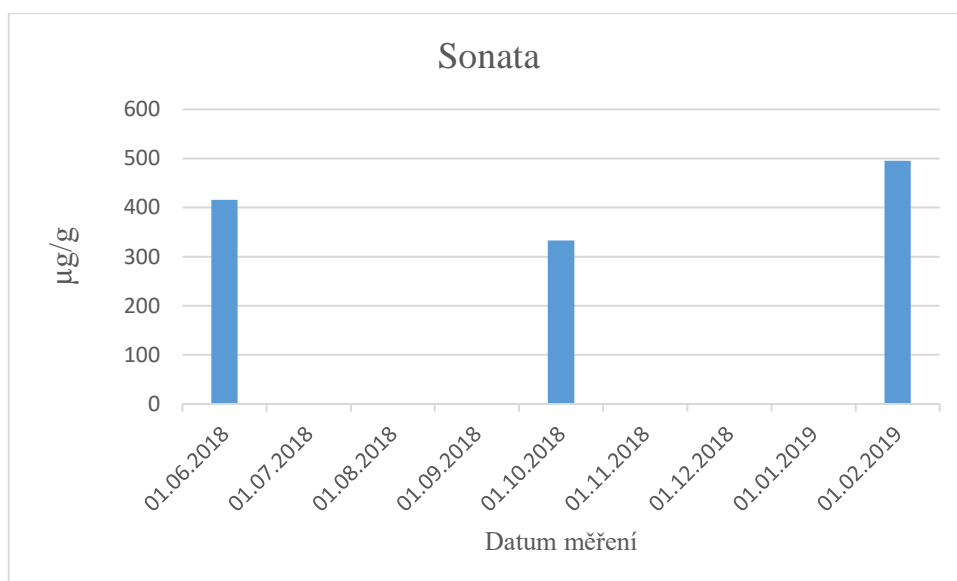
Graf 5: Obsah vitamínu C u odrůdy Dukát

Podle naměřených výsledků je patrné, že obsah vitamínu C u odrůdy dukát klesá v závislosti na délce skladování. Zatímco při prvním měření průměr naměřených hodnot byl 276,8725 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku, u druhého měření je průměr vitamínu C ve vzorku již pouze 243,2448 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku. Při posledním měření provedeném po osmi měsících skladování se průměrná hodnota vitamínu C ve vzorku snížila na 166,82565 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku.

5.1.1.2 Sonata

Tabulka 5: Obsah vitamínu C u odrůdy Sonata

vitamin C µg/g mraženého vzorku				
Sonata	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	411,261	415,914	4,653
		420,567		
	18.10.2018	327,9816	333,3134	5,33175
		338,6451		
	26.02.2019	497,92	495,575	2,345
		493,23		



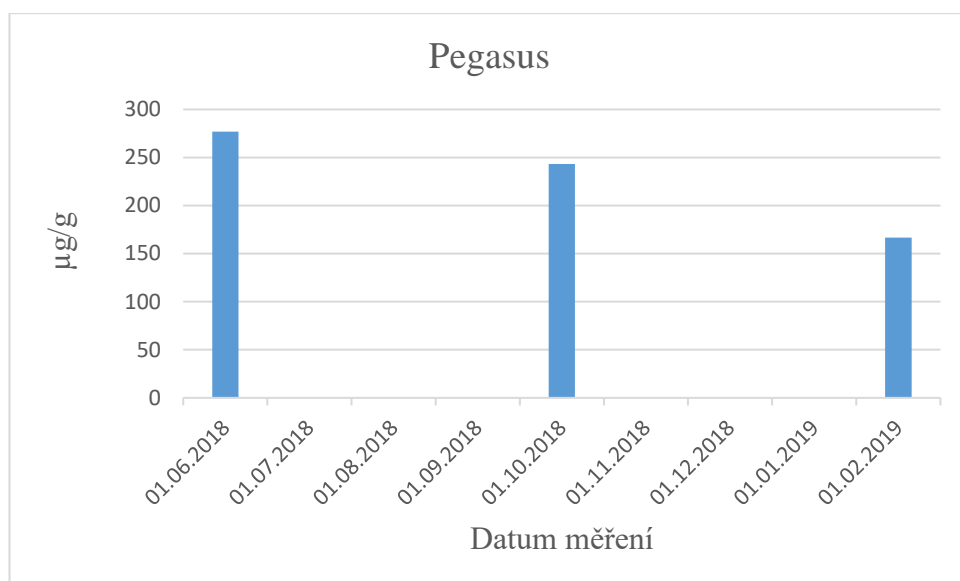
Graf 6: Obsah vitaminu C u odrůdy Dukát

U odrůdy Sonata bylo nejvyšší množství vitaminu C ve vzorku naměřeno při posledním měření, tedy po osmi měsících skladování. Při třetím měření bylo naměřeno a zprůměrováno na hodnotu 495,575 µg vitaminu C na gram mraženého vzorku. Při prvním měření byl spočítán průměr na 415,914 µg vitaminu C na gram mraženého vzorku. Druhé měření ukázalo hodnoty o něco nižší, a to průměrně 333,313 µg vitaminu C na gram mraženého vzorku.

5.1.1.3 Pegasus

Tabulka 6: Obsah vitaminu C u odrůdy Pegasus

vitamin C µg/g mraženého vzorku				
Pegasus	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	353,0192	356,8481	3,828885
		360,677		
	18.10.2018	290,9132	290,8269	0,08625
		290,7407		
	26.02.2019	237,23	237,204	0,026
		237,178		

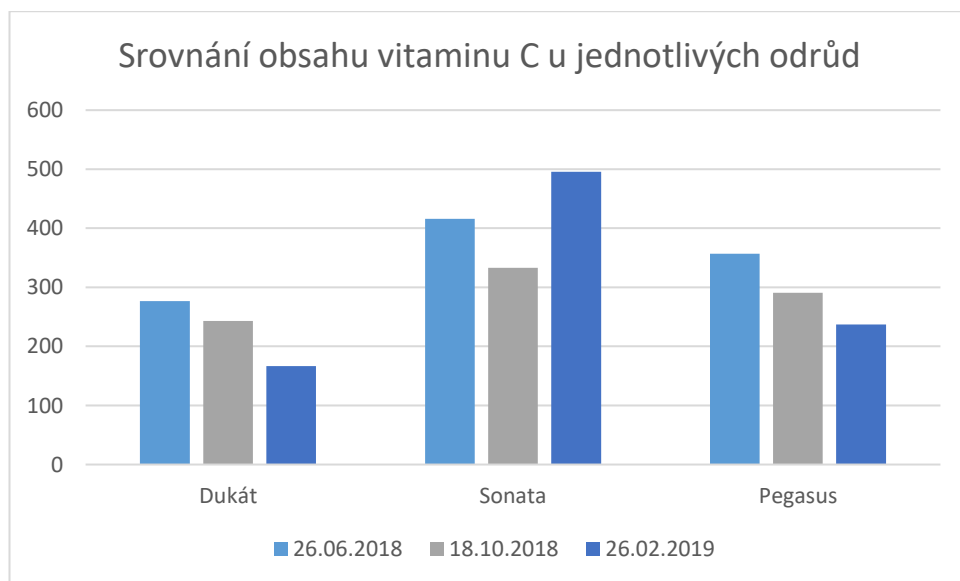


Graf 7: Obsah vitamínu C u odrůdy Pegasus

Nejvyšší průměrné množství vitamínu C u odrůdy Pegasus bylo zaznamenáno při prvním měření, šlo o hodnotu 356,8481 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku. Při druhém měření průměrná hodnota vyšla 290,8269 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku. Při posledním měření byla průměrná hodnota vitamínu C nejnižší, a to 237,204 µg vitamínu C na gram mraženého vzorku.

5.1.2 Srovnání obsahu vitamínu C u jednotlivých odrůd

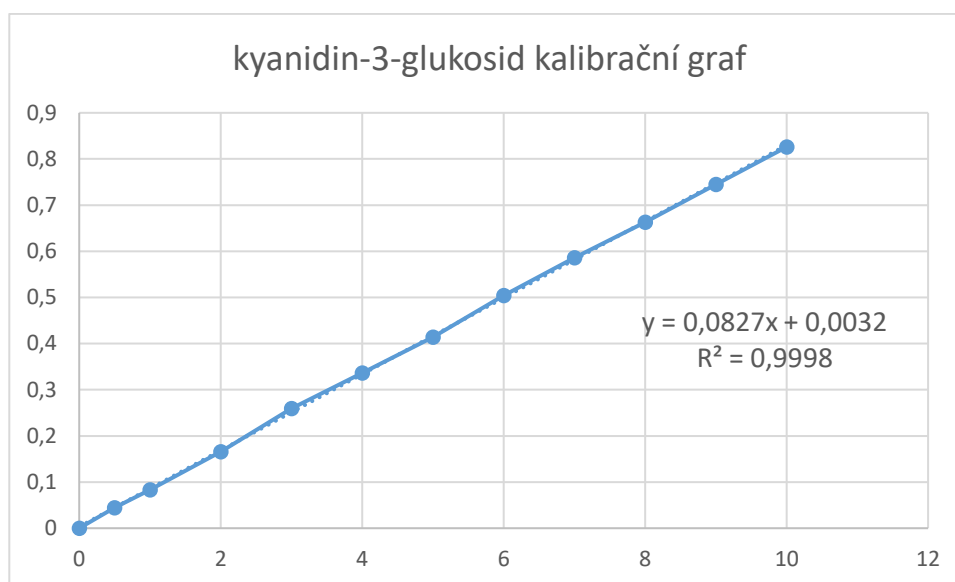
Graf 8 popisuje srovnání obsahu vitamínu C u jednotlivých odrůd. Nejvyšší průměrný obsah vitamínu C vyšel u odrůdy Sonata a nejnižší průměrný obsah byl naměřen u odrůdy Dukát.



Graf 8: Srovnání obsahu vitamínu C u jednotlivých odrůd

5.2 Stanovení celkových anthokyanů spektrofotometricky

Výpočet celkových anthokyanů (TAC) byl proveden v programu Excel pomocí kalibrační křivky a regresní rovnice kyanidin-3- glukosidu. Stanovení TAC v mg/l bylo dále pomocí původní navážky a výsledného objemu jednotlivých vzorků přepočítáno na počet miligramů v kilogramu mraženého vzorku jahod. Na grafu 9 je zobrazena kalibrační křivka kyanidin-3- glukosidu.



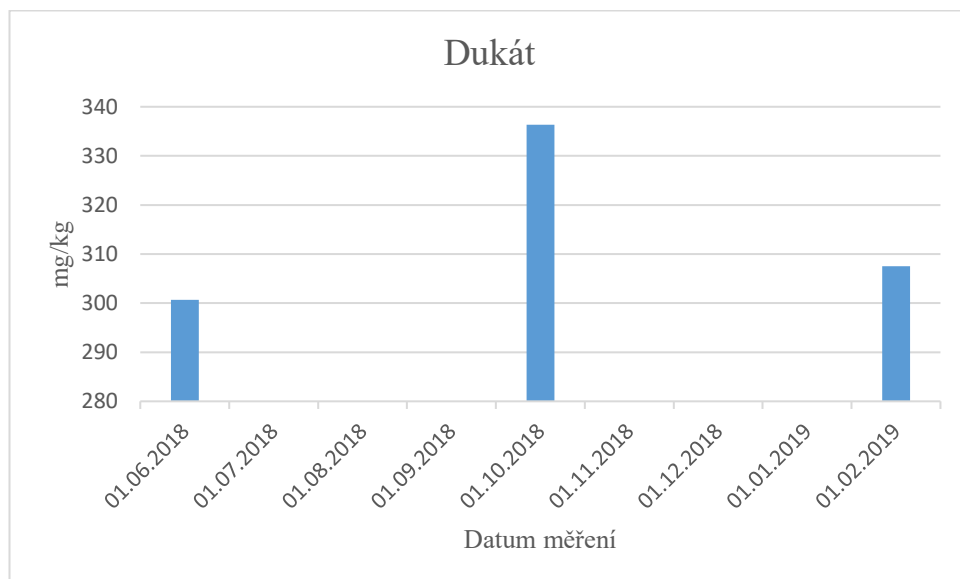
Graf 9: Kalibrační křivka kyanidin-3-glukosidu

5.2.1 Naměřené výsledky

5.2.1.1 Dukát

Tabulka 7: TAC u odrůdy Dukát

	TAC mg/kg mraženého vzorku			
Dukát	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	330,66	300,6625	18,73049
		294		
		298,66		
		279,33		
	18.10.2018	351,33	336,33	19,60802
		337,33		
		304		
		352,66		
	26.02.2019	318,66	307,4975	46,60009
		354		
		230		
		327,33		



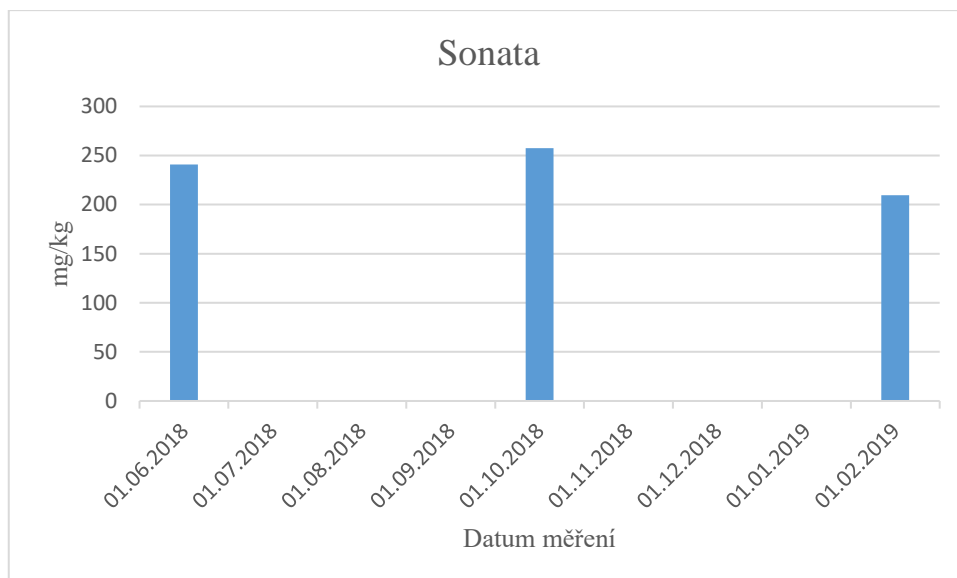
Graf 10: Průměrná hodnota TAC u odrůdy Dukát

Z naměřených hodnot u odrůdy Dukát bylo zjištěno, že nejvíce anthokyanů se nachází ve vzorku z druhého měření. Při tomto měření vyšla průměrná hodnota TAC 336,33 mg/kg mraženého vzorku. První a třetí měření ukázalo průměrné hodnoty téměř stejné, avšak o malinko více TAC bylo naměřeno při třetím měření, a to 307,4975 mg/kg vzorku. Při úvodním měření bylo naměřeno 300,6625 mg/kg vzorku.

5.2.1.2 Sonata

Tabulka 8: TAC u odrůdy Sonata

Sonata	TAC mg/kg mraženého vzorku			
	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	221,33	240,83	14,41091
		240,66		
		239,33		
		262		
	18.10.2018	286,66	257,6625	17,25764
		254,66		
		243,33		
		246		
	26.02.2019	214	209,4975	27,64432
		181,33		
		252,66		
		190		



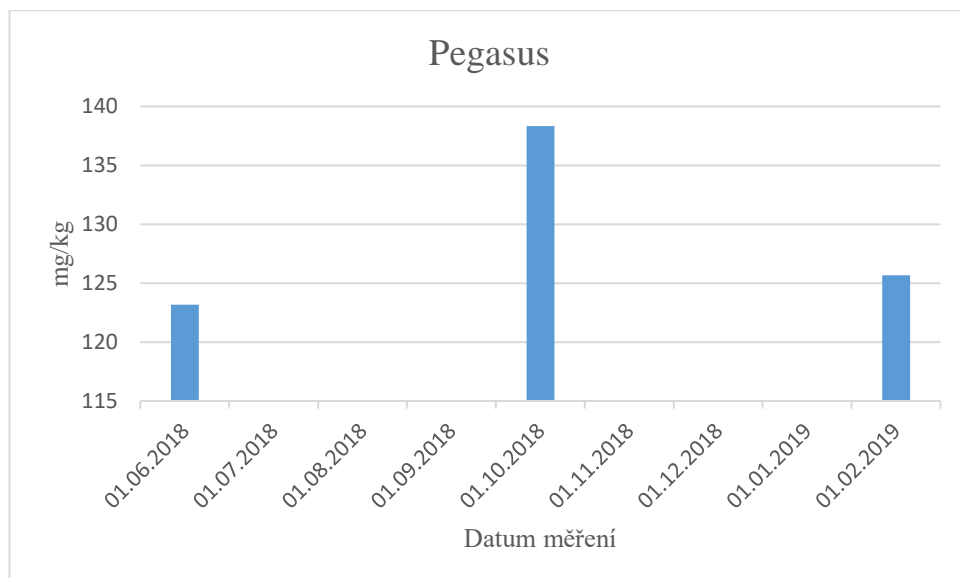
Graf 11: Průměrná hodnota TAC u odrůdy Sonata

U odrůdy Sonata jsme zaznamenali nejvíce TAC u druhého měření, a to průměrnou hodnotu 257,6625 mg/kg vzorku jahod. Při prvním měření bylo stanoveno množství jen nepatrně nižší, a to 240,83 mg/kg vzorku. Nejméně TAC bylo naměřeno při třetím měření, a to 209,4975 mg/kg mraženého vzorku.

5.2.1.3 Pegasus

Tabulka 9: TAC u odrůdy Pegasus

TAC mg/kg mraženého vzorku				
Pegasus	dat. měření		průměr	směr. od.
	26.06.2018	97,33	123,165	21,06911
		118		
		121,33		
		156		
	18.10.2018	139,33	138,33	17
		139,33		
		161,33		
		113,33		
	26.02.2019	147,33	125,6625	15,69559
		107,33		
		133,33		
		114,66		

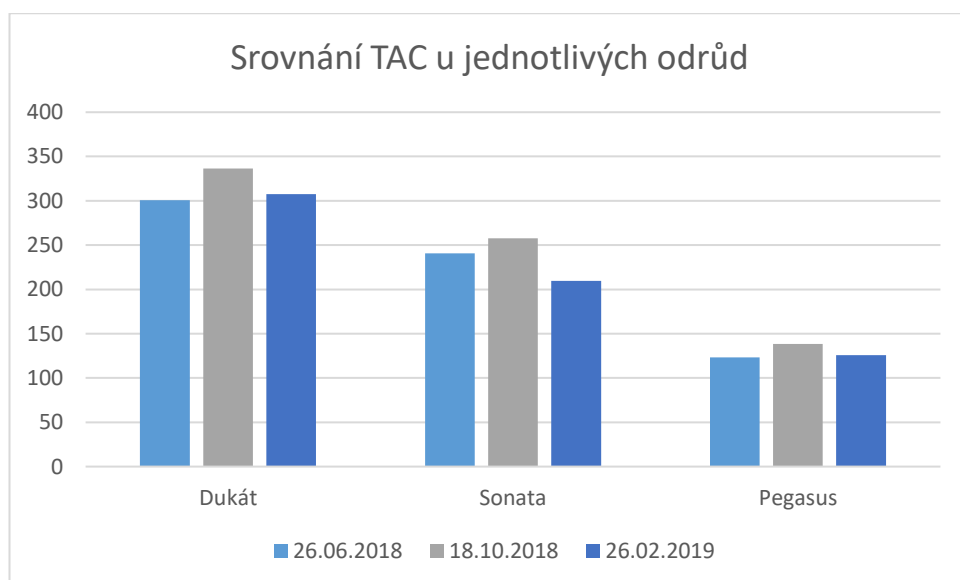


Graf 12: Průměrná hodnota TAC u odrůdy Pegasus

Při druhém měření u odrůdy Pegasus bylo naměřeno 138,33 mg/kg TAC v mraženém vzorku, což bylo nejvíce oproti prvním a třetímu měření, kde byly průměry naměřeny téměř totožné. Při třetím měření byla naměřena průměrná hodnota TAC 125,6625 mg/kg mraženého vzorku jahod. Při prvním měření bylo stanoveno 123,165 mg/kg vzorku.

5.2.2 Srovnání obsahu celkových anthokyanů u jednotlivých odrůd

Graf 13 popisuje srovnání obsahu celkových anthokyanů u jednotlivých odrůd jahod. Nejvyšší průměrný obsah anthokyanů byl zjištěn u odrůdy Dukát a nejnižší průměrný obsah byl naměřen u odrůdy Pegasus.



Graf 13: Srovnání TAC u jednotlivých odrůd jahod

5.3 Statistické vyhodnocení výsledků

Ke zpracování dat byl použit program Excel, následné statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica. Zkoumané hypotézy byly provedeny na hladině významnosti alfa 0,05. Pro samotné vyhodnocení byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Tento test má určité předpoklady, které musí být splněny. Při testování, zda je obsah askorbové kyseliny závislý na odrůdě jahod, musí být dodržena nezávislost výběrů, normální rozdělení odrůd a shoda rozptylů. V prvním bodě dochází k rozporu, protože naše pozorování jsou závislá, a proto bylo nutné aplikovat test ANOVA pro všechna tři časová měření. Normální rozdělení nemůže být zaručeno vzhledem k malému množství testovaných vzorků, avšak předpoklad normality není zcela nezbytný. Při větším množství pozorování je normalita zajištěna. Pro shodu rozptylů byl použit Barlettův test. Pro testování rozptylů byla stanovena nulová a alternativní hypotéza.

H1.10 Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 26.6.2018.

H1.1A Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 26.6.2018.

Tabulka 10: Rozptyl jednotlivých odrůd při prvním měření

	odrůda	rozptyl
26.6.2018	Dukat	275,289
	Dukat	278,456
	Sonata	411,261
	Sonata	420,567
	Pegas	353,0192308
	Pegas	360,677

Tabulka 11: P-hodnota Barlettova testu

	<i>Test</i>	<i>P-Value</i>
Bartlett's	0,693268	0,707064

P-hodnota Barlettova testu vyšla 0,707, tudíž nebylo možné zamítnout nulovou hypotézu o shodě rozptylů. Předpoklad o shodě rozptylů byl tedy pro test ANOVA splněn.

Tabulka 12: P-hodnota testu ANOVA

<i>Source</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	376,34	0,0003

Z tabulky 12 je zřejmé, že p-hodnota je 0,0003, což je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudíž zamítáme nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 26.6.2018.

U dalších dvou měření byl postup analogický.

H1.20 Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 18.10.2018.

H1.2A Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 18.10.2018.

Tabulka 13: Rozptyl jednotlivých odrůd při druhém měření

	odrůda	rozptyl
18.10.2018	Dukat	246,2286
	Dukat	240,261
	Sonata	327,9816
	Sonata	338,6451
	Pegas	290,9131731
	Pegas	290,7406731

Tabulka 14: P-hodnota Barlettova testu

	<i>Test</i>	<i>P-Value</i>
Bartlett's	4,7987	0,0907768

Tabulka 15: P-hodnota testu ANOVA

<i>Source</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	163,12	0,0009

Z tabulky 15 lze vyčíst, že p-hodnota je 0,0009, což je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudíž zamítáme nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 18.10.2018.

H1.30 Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 26.2.2019.

H1.3A Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 26.2.2019.

Tabulka 16: Rozptyl jednotlivých odrůd při třetím měření

	odrůda	rozptyl
26.2.2019	Dukat	142,23
	Dukat	191,4213
	Sonata	497,92
	Sonata	493,23
	Pegas	237,23
	Pegas	237,178

Tabulka 17: P-hodnota Barlettova testu

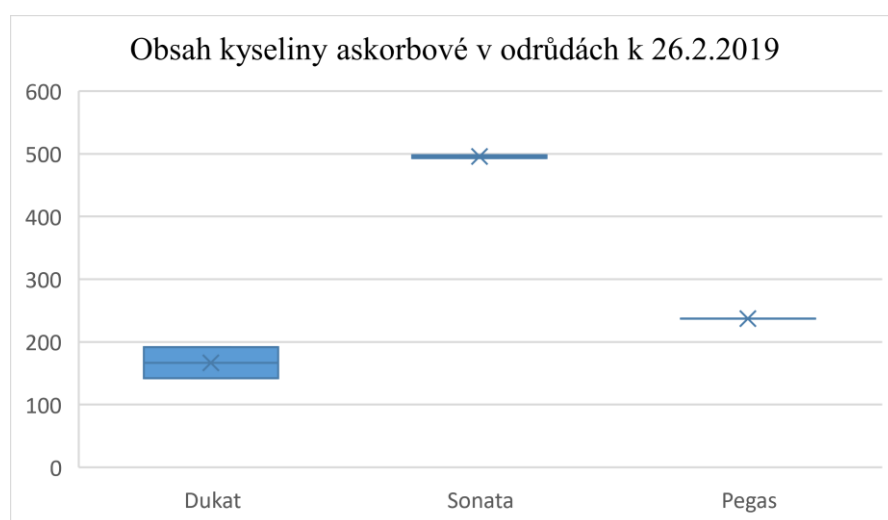
	<i>Test</i>	<i>P-Value</i>
Bartlett's	10,479	0,0053029

V tabulce 17 vidíme, že p-hodnota Bartlettova testu je 0,0053. To je menší než pětiprocentní hladina významnosti. To mohlo ovlivnit test ANOVA, protože není splněn předpoklad o shodě rozptylů.

Tabulka 18: P-hodnota testu ANOVA

Source	F-Ratio	P-Value
Between groups	147,26	0,0010

V tabulce 18 je vidět, že p-hodnota je 0,0010. To je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudíž zamítáme nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 26.2.2019. Je nutné si připomenout, že není splněn předpoklad pro shodu rozptylů, tudíž vhodnost testu nemusí být správná, a proto je na grafu 14 znázorněn Boxplot, kde lze vidět, že rozdíly jsou mezi odrůdami znatelné.



Graf 14: Obsah kyseliny askorbové v odrůdách k 26.2.2019

Pro testování druhé hypotézy byl použit t-test. Pro tento test je předpokladem normální rozdělení. Nejprve je nutné ověřit normalitu podle Shapiro-Wilkova testu. Zde je nulová hypotéza, že rozdělení je normální. Alternativní hypotézou je, že normální není.

H20 Obsah askorbové kyseliny **je** ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

H2A Obsah askorbové kyseliny **není** ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku

P-hodnota pro všechna tři měření vyšla větší než 0,05, tudíž není možné zamítnout nulovou hypotézu. Předpoklad pro párový t-test byl tímto splněn.

Pro měření 26.6.2018 a 18.10.2018 zamítáme nulovou hypotézu, byla stanovena p-hodnota 0,001. Pro další dva páry nelze hypotézu zamítnout, protože hodnoty p vyšly 0,282 mezi prvním a třetím měřením a 0,834 mezi druhým a třetím měřením. Celkově tedy nelze konstatovat, že obsah askorbové kyseliny je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

Pro hypotézu číslo tři byla stanovena nulová a alternativní hypotéza následující:
H3.10 Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 26.6.2018.
H3.1A Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 26.6.2018.

Tabulka 19: Rozptyl jednotlivých odrůd při prvním měření

	odrůda	rozptyl
26.6.2018	Dukat	330,66
	Dukat	294
	Dukat	298,66
	Dukat	279,33
	Sonata	221,33
	Sonata	240,66
	Sonata	239,33
	Sonata	262
	Pegas	97,33
	Pegas	118
	Pegas	121,33
	Pegas	156

Tabulka 20: P-hodnota Bartlettova testu

	Test	P-Value
Bartlett's	0,37303	0,829844

Vidíme, že p-hodnota Bartlettova testu je 0,8298. Tudíž nezamítáme nulovou hypotézu o shodě rozptylů. Je možné provedení testu ANOVA.

Tabulka 21: P-hodnota testu ANOVA

Source	F-Ratio	P-Value
Between groups	73,22	0,0000

Z tabulky 21 je zřejmé, že p-hodnota je 0,0000, což je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudíž **zamítáme** nulovou hypotézu a platí tedy: **Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 26.6.2018**

U následujících dvou měření byl postup analogický.

H3.20 Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 18.10.2018.

H3.2A Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 18.10.2018.

Tabulka 22: Rozptyl jednotlivých odrůd při druhém měření

	odrůda	rozptyl
18.10.2018	Dukat	351,33
	Dukat	337,33
	Dukat	304
	Dukat	352,66
	Sonata	286,66
	Sonata	254,66
	Sonata	243,33
	Sonata	246
	Pegas	139,33
	Pegas	139,33
	Pegas	161,33
	Pegas	156

Tabulka 23: P-hodnota Barlettova testu

	<i>Test</i>	<i>P-Value</i>
Bartlett's	0,06599	0,967541

Tabulka 24: P-hodnota testu ANOVA

<i>Source</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	92,09	0,0000

Z tabulky 24 je zřejmé, že p-hodnota je 0,0000, což je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudiž **zamítáme** nulovou hypotézu a platí tedy: **Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 18.10.2018.**

H3.30 Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **není** závislý na odrůdě k 26.2.2019.

H3.3A Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku **je** závislý na odrůdě k 26.2.2019.

Tabulka 25: Rozptyl jednotlivých odrůd při třetím měření

	odrůda	rozptyl
26.2.2019	Dukat	318,66
	Dukat	354
	Dukat	230
	Dukat	327,33
	Sonata	214
	Sonata	181,33
	Sonata	252,66
	Sonata	190
	Pegas	147,33
	Pegas	107,33

	Pegas	133,33
	Pegas	114,66
	Dukat	318,66

Tabulka 26: P-hodnota Barlettova testu

	<i>Test</i>	<i>P-Value</i>
Bartlett's	2,79914	0,246703

Tabulka 27: P-hodnota testu ANOVA

<i>Source</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	23,43	0,0003

Z tabulky 27 je zřejmé, že p-hodnota je 0,0003, což je menší než pětiprocentní hladina významnosti 0,05. Tudíž **zamítáme** nulovou hypotézu a platí tedy: **Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je závislý na odrůdě k 26.2.2019.**

Pro všechna tři měření byla zjištěna závislost obsahu celkových anthokyanů na odrůdě. Závěrem tedy je, že obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.

Pro testování čtvrté hypotézy byl použit obdobný postup jako u druhé hypotézy. Pro ověření hypotézy byl použit t-test. Pro tento test je předpokladem normální rozdělení. Nejprve je nutné ověřit normalitu podle Shapiro-Wilkova testu. Zde je nulová hypotéza, že rozdělení je normální. Alternativní hypotézou je, že rozdělení normální není.

H4.40 Obsah celkových anthokyanů **je** ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

H4.4A Obsah celkových anthokyanů **není** ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku

P-hodnota pro všechna tři měření vyšla větší než 0,05, a tudíž není možné zamítnout nulovou hypotézu. Předpoklad pro párový t-test byl tímto splněn.

Pro měření 26.6.2018 a 18.10.2018 zamítáme nulovou hypotézu, byla stanovena p-hodnota 0,037. Pro měření 18.10.2018 a 26.2.2019 také zamítáme nulovou hypotézu, z výsledku p-hodnoty 0,011. Pro měření 26.6.2018 a 26.2.2019 však není možné zamítnout nulovou hypotézu, protože p-hodnota vyšla 0,594. Celkově tedy nelze učinit závěr, že obsah celkových anthokyanů je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými měřeními, což bylo zapříčiněno větším průměrem u druhého měření.

6 Diskuze

Tato práce popisuje změny v obsahu kyseliny askorbové a celkového množství anthokyanů při zmrazování jahod; zkoumá, zda a jak jsou tyto změny ovlivněny délkou skladování a odrůdou jednotlivých plodů jahod. Gündüz (2016) uvádí jako hlavní faktory ovlivňující nutriční hodnoty jahod především odrůdu, strukturu a tvar jednotlivých plodů. Dalšími faktory jsou pěstební, klimatické a kulturní podmínky v daném roce, doba zrání a způsob sklizně. Celková antioxidační kapacita a množství TAC se u jednotlivých genotypů liší (Connar et al. 2002).

6.1.1 Obsah askorbové kyseliny

- Obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.
- Obsah askorbové kyseliny je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

Při prvním měření ze dne 26.6.2018 byla naměřena průměrná hodnota u odrůdy Dukát 27,68725 mg vitamínu C na 100 gramů mraženého vzorku jahod. U odrůdy Sonata byla stanovena průměrná hodnota vitamínu C 41,5914 mg/100 g vzorku. U odrůdy Pegasus byla při prvním měření stanovena hodnota vitamínu C 35,68481 mg/100 g vzorku.

Při druhém měření 18.10.2018 byla stanovena průměrná hodnota vitamínu C u odrůdy Dukát 24,32448 mg/100 g mraženého vzorku. U odrůdy Sonata byl naměřen průměrný obsah vitamínu C 33,3313 mg/100 g vzorku. Odrůda Pegasus při druhém měření vitamínu C ukázala hodnotu 29,08269 mg/100 g mraženého vzorku jahod.

U třetího měření provedeného 26.2.2019 byla změřena průměrná hodnota vitamínu C u odrůdy Dukát 16,682565 mg/100 g mraženého vzorku. U odrůdy Sonata byla stanovena hodnota vitamínu C 49,5575 mg/g vzorku. Vitamin C v odrůdě Pegasus byl stanoven na 23,7204 mg/100 g mraženého vzorku.

Pokles obsahu askorbové kyseliny u odrůdy Dukát byl po 4 měsících skladování 12 %, po 8 měsících pak o 40 % z původní hodnoty. U odrůdy Sonata byl pokles při druhém měření o 20 %, u třetího měření pak došlo k navýšení o 19 % oproti prvnímu měření. U odrůdy Pegasus byl pokles při druhém měření o 19 %, u třetího pak o 34 %.

Z výše uvedených hodnot je patrné, že obsah vitamínu C je rozdílný v závislosti na odrůdě. Nejvyšší průměrný obsah kyseliny askorbové byl naměřen u odrůdy Sonata a nejnižší průměrný obsah byl stanoven u odrůdy Dukát. Tato skutečnost byla potvrzena statistickým testováním. U odrůdy Dukát a Pegasus je také patrné, že obsah kyseliny askorbové je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku. U odrůdy Sonata tuto hypotézu nebylo možné potvrdit, protože hodnota posledního měření prokázala nejvyšší hodnotu vitamínu C ve vzorku. Tento fakt mohl být zapříčiněn nepřesností při stanovování nebo chybou měření. Celkově tedy nelze konstatovat, že obsah askorbové kyseliny je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku. Nepřesnost testování mohla být také zapříčiněna malým množstvím testovaných vzorků, a proto bylo statistické hodnocení značně složité.

Velíšek (1999) uvádí průměrný obsah 40-70 mg vitamínu C na 100 g jedlého podílu jahod. V námi testovaných vzorcích byl tedy průměrný obsah vitamínu C srovnatelný

s literaturou, možná o něco nižší, což bylo zapříčiněno zmrazením ovoce. Nejvíce vitamínu C se nachází v čerstvě sklizeném ovoci. Při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ dochází k nízkým ztrátám kyseliny askorbové, avšak k vyšším ztrátám dochází při rozmrazování. U jahod skladovaných 11 měsíců při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ dochází ke ztrátám ve výši 25 % z původního množství (Velíšek 1999).

Sahari et al. (2004) uvádějí, že nejvyšší ztráty kyseliny askorbové jsou zaznamenány v prvních 15 dnech po zamrazení. Po 15 dnech při skladovací teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl obsah askorbové kyseliny 50,6 mg/100 g vzorku. Po 90 dnech skladování při stejné teplotě byl obsah 46,4 mg/100 g vzorku. Z tohoto výzkumu je patrné, že nedochází k velkým rozdílům v obsahu vitamínu C při skladovací teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. K největším ztrátám askorbové kyseliny došlo při teplotě $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v obsahu vitamínu C při skladování při teplotách $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ani při $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$, avšak poslední dvě skladovací teploty byly přínosnější pro zachování kvalitativních vlastností ovoce, jako jsou barva, chuť a celistvost.

Tyto výsledky, které uvádějí Sahari et al. (2004), potvrzují i výsledky této diplomové práce především u odrůdy Dukát a Pegasus, u kterých docházelo k úbytku kyseliny askorbové postupně v závislosti na délce skladování.

6.1.2 Obsah celkových anthokyanů

- Obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.
- Obsah celkových anthokyanů je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku.

Při prvním měření ze dne 26.6.2018 u odrůdy Dukát bylo stanoveno celkové množství anthokyanů 300,6625 mg/kg mraženého vzorku jahod. U odrůdy Sonata jsme zaznamenali hodnotu TAC 240,83 mg/kg vzorku. Množství TAC u odrůdy Pegasus pak bylo 123,165 mg/kg vzorku.

U druhého měření, které proběhlo 18.10.2018, byla stanovena hodnota TAC u odrůdy Dukát 336,33 mg/kg vzorku mražených jahod. U odrůdy Sonata byla naměřena hodnota 257,6625 mg/kg vzorku. Odrůda Pegasus pak vykazovala množství TAC ve vzorku číslem 138,33 mg/kg vzorku. Hodnoty TAC ve druhém měření byly nejvyšší pro všechny zkoumané odrůdy.

Při posledním měření ze dne 26.2.2019 byla naměřena hodnota TAC u odrůdy Dukát 307,4975 mg/kg vzorku, což bylo velmi podobné obsahu TAC naměřeného při prvním měření. U odrůdy Sonata byla hodnota anthokyanů ve vzorku stanovena na 209,4975 mg/kg vzorku, což bylo nejnižší množství ze všech tří měření. U odrůdy Pegasus bylo průměrné množství anthokyanů stanoveno na 125,6625 mg/kg mraženého vzorku, což bylo téměř stejné jako hodnota při prvním měření.

Rozdíl celkového množství anthokyanů u odrůdy Dukát byl po čtyřech měsících skladování vyšší o 11 %, po 8 měsících pak o 2 % vyšší od původní hodnoty. U odrůdy Sonata byl vzestup při druhém měření o 6 %, u třetího měření pak došlo k poklesu o 14 % oproti původní hodnotě. U odrůdy Pegasus byl vzestup TAC při druhém měření o 12 %, u třetího pak už jen o 2 %.

Z výše uvedených hodnot je patrné, že nejvyšší průměrný obsah anthokyanů byl stanoven u odrůdy Dukát a nejnižší průměrný obsah byl naměřen u odrůdy Pegasus. Pro všechna tři měření byla zjištěna závislost obsahu celkových anthokyanů na odrůdě. Závěrem tedy je, že obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě.

Nejvyšší hodnoty TAC byly stanoveny při druhém měření. Hodnoty prvních a třetích měření byly téměř identické. Celkově tedy nelze konstatovat, že obsah celkových anthokyanů je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými měřeními, což bylo zapříčiněno větším průměrem u druhého měření. V konečném výsledku nedocházelo k velkým ztrátám anthokyanů ve vzorcích jahod.

Poiana et al. (2010) uvádějí ve svém výzkumu mírný nárůst TAC ihned po zamrazení o necelá 3 % oproti TAC v čerstvých plodech. Tato skutečnost byla pravděpodobně způsobena vyšší účinností při extrakci anthokyanů, což bylo zapříčiněno narušením buněčné stěny během procesu mrazení a tání. Poiana et al. (2010) dále uvádějí snížení TAC o 25 % oproti původní hodnotě během procesu skladování při -18 °C po deseti měsících. Oszmianski et al. (2009) uvádějí při svém pozorování při skladování po dobu šesti měsíců a teplotě -20 °C u odrůdy Elkát zvýšení TAC o 7 %, u odrůdy Kent snížení o 10 % oproti původnímu množství. Tento jev byl přičítán ztrátě vlhkosti nebo zvýšené extrakci antokyanů v důsledku změkčení pevné hmoty plodu jahodníku. Poiana et al. (2010) uvádějí, že během počátečního období skladování při nízkých teplotách dochází pouze k nízkým ztrátám anthokyanů v ovoci, častěji však nedochází ke ztrátám žádným. K významnějším degradacím docházelo až při skladování ovoce po dobu šesti měsíců a déle. Tyto výsledky vypovídají o faktu, že stabilita antokyanů během zmrazení závisí převážně na pH hodnotě, obsahu organických kyselin, koncentraci cukrů, počáteční koncentraci a počátečním obsahu kyanidinu 3- glukosidu.

Anthokyaniny snadno podléhají degradaci zejména při změně pH a za přítomnosti kyslíku. K rozkládání pigmentů dochází při zvyšování teploty a přítomnosti slunečního záření. Ideální teplota skladování se pohybuje v rozmezí 2–4 °C (Welch et al. 2008).

Lopes da Silva et al. (2007) uvádějí celkové množství anthokyanů v jahodách v rozmezí od 200 do 600 mg/kg jahod. Mezi sklizněmi jahod stejné odrůdy je vysoká variabilita, což ovlivňuje stupeň zralosti, klimatické faktory a skladování po sklizni. Nicméně tyto hodnoty odpovídají námi stanoveným hodnotám. TAC u odrůdy Pegasus bylo stanoveno pod 200 mg/kg vzorku. Tato skutečnost je pravděpodobně zapříčiněna měřeními, která probíhala již u zmrazených vzorků, kde může být hodnota o něco nižší.

7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo porovnání obsahu vitamínu C a celkového množství anthokyanů stanovených v plodech jahodníku. Jako hlavní faktory ovlivňující množství těchto látek ve vzorku byly porovnávány odrůdy a délka skladování při teplotě -18 °C. Pro účely měření byly vybrány tři odrůdy, které byly měřeny po 14 dnech, 4 měsících a 8 měsících od sklizně.

Statistické hodnocení potvrdilo hypotézu, že obsah askorbové kyseliny v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě. Druhou hypotézu, že obsah askorbové kyseliny je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku, nebylo možné potvrdit, protože mezi jednotlivými měřeními byl stanoven statisticky významný rozdíl. U odrůdy Dukát a Pegas docházelo k postupnému snížení obsahu kyseliny askorbové ve vzorku, u odrůdy Sonata bylo při třetím měření stanoveno nejvíce vitamínu C. Tento fakt mohl být způsoben chybou měření nebo špatnými podmínkami v průběhu skladování. Pro přesnější závěr by bylo vhodnější měřit více vzorků a výsledky stanovit v několika opakováních. Obsah vitamínu C se shodoval s obsahem deklarovaným v literatuře.

U statického hodnocení celkových anthokyanů ve vzorku byl závěr podobný. Bylo potvrzeno, že obsah celkových anthokyanů v plodech jahodníku je rozdílný v závislosti na odrůdě. Poslední hypotézu, která uvádí, že obsah celkových anthokyanů je ovlivněn délkou skladování plodů jahodníku, nebylo možné potvrdit. Při druhém měření došlo k vzestupu celkového množství anthokyanů ve vzorku u všech tří odrůd, u třetího měření byl pak obsah velmi podobný jako u měření prvního. Celkový obsah anthokyanů se shodoval s výsledky deklarovanými v literatuře.

8 Literatura

Aaby K, Wrolstad RE, Ekeberg D, Skrede G. 2007. Polyphenol Composition and Antioxidant Activity in Strawberry Purees; Impact of Achene Level and Storage. *Journal of agricultural and food chemistry*. **55**. 5156-66.

Abbas CA, Sibirny AA. 2011. Genetic Control of Biosynthesis and Transport of Riboflavin and Flavin Nucleotides and Construction of Robust Biotechnological Producers. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75(2). 321-360.

Andersen ØM, Markham KR. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Taylor & Francis Group. United States of America, New York.

Ball GFM. 2006. *Vitamins in foods*. 1. CRS Press Taylor & Francis Group. United States of America.

Brigelius-Flohé R. 2006. Bioactivity of vitamin E. *Nutrition Research Reviews*.19(02). 174-186. DOI:10.1017/S0954422407202938

Broulík P. 2003. *Poruchy kalciofosfátového metabolismu*. Praha Available from <http://www.medvik.cz/link/MED00098412>. (accessed April 2020)

Carr AC, Pullar JM, Moran S, Vissers MCM. 2012. Bioavailability of vitamin C from kiwifruit in non-smoking males: Determination of 'healthy' and 'optimal' intakes. *Journal of Nutritional Science*. 1.(e14). DOI: 10.1017/jns.2012.15

Connar AM, Luby JJ, Tong CBS, Finn CE, Hancock JF. 2002. Variation and heritability estimates for antioxidant activity, total phenolic content and anthocyanin content in blueberry progenies. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 1, 82–88.

Černý J, Sedlář O, Kulhánek M, Balík J, Suran P.2018. Vliv pH půdy na obsah vápníku v rostlinách ozimé řepky. Page 17 in Bokop P, Bečka D, editors. *Prosperující plodiny*. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. Vydavateľstvo SPU v Nitre. Nitra.

Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. 1998. Institute of medicine. National Academy Press. Washington, D.C.

Dlouhá J. 2003. *Pěstujeme jahodník, maliník, ostružiník*. Brázda. Praha

Dlouhá J. 2001. *Jahody: stovky dobrých rad a nových poznatků pro zahrádkáře*. 1.vyd. Víkend.

Dostál J. 2005. *Biochemie pro bakaláře*. 1. vyd. Masarykova univerzita. Brno

Dušková L. 2011. *Odrůdy jahod, které vás nezklamou*. VLTAVA LABE MEDIA a.s. Praha 5-Jinonice. Available from <https://www.ireceptar.cz/zahrada/odrudy-jahod-ktere-vas-nezklamou.html> (accessed March 2020)

Eitenmiller R, Landen WO, Ye L. 2008. Vitamin analysis for the health and food sciences. CRC Press, USA, Florida.

FAO. 2018. FAOSTAT: Production quantities of Strawberries by country Average 2010. FAO, Rome. Available from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (accessed January 2020)

Formica JV, Regelson W. 1995. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*. 33(12):1061-1080. DOI: 10.1016/0278-6915(95)00077-1.

Hendrychová T, Malý J. 2013. Vitaminy a vybrané aspekty jejich stability a biologické dostupnosti pro lékařenskou praxi. *Praktické lékařství*. 9(1). 23-27

Hlúbik P, Opltová L. 2004. Vitaminy. Grada publishing. Praha.

Holaň V, Louda D. 2012. Jak odborně pěstovat jahody. Vyd. 1. Nová Forma. České Budějovice.

Churáček J. 1990. Analytická separace látek. SNLT. Praha

Chytil F. 1999. Vitamin A: Not for vision only. *British Journal of Nutrition*. 82(3). 161-162.

Ibl V. a kolektiv. 1971. Chladicí technika v potravinářství. 1. vyd. SNTL. Praha.

Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. 2012. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* 28, 9–19.

Gündüz K. 2016. Strawberry: Phytochemical Composition of Strawberry (*Fragaria × ananassa*). In: Simmonds, M.S.J., Preedy, V.R. (Eds.), *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Academic Press.

Kholová K. 2019. Draslík v osmoregulaci rostlin. [BSc. Thesis]. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra experimentální biologie rostlin, Praha.

Klouda P. 2003. Moderní analytické metody 2. Nakladatelství Klouda Pavel. Vyd 2. Ostrava

Lopes da Silva F, Escribano-Bailón MT, Alonso JJP, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT - Food Science and Technology*. 40 (02). 374-382. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.09.018.

Mandžuková J. 2005. Léčivá síla vitaminů, minerálů a dalších látek: praktický domácí rádce. Start. Benešov.

McCance RA, Widdowson EM. 2002. McCance a Widdowson's: The Composition of Foods, 6th ed. Royal Society of Chemistry. Cambridge.

Mindell E, Mundis E. 2010. Nová vitaminová bible: vitaminy, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii. Vyd. 3. Ikar. Praha.

Ministerstvo zemědělství. 2017. Začíná sklizeň jahod. Ministerstvo pro jejich pěstování přichystalo podpory. Ministerstvo zemědělství, Praha. Available from http://eagri.cz/public/web/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2017_zacina-sklizen-jahod-ministerstvo-pro.html (accessed February 2020)

Nadulski R, Masłowski A, Mazurek A, Sobczak P, Szmigielski M, Żukiewicz-Sobczak W, Niedziółka I, Mazur J. 2019. Vitamin C and lutein content of northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice processed using freezing and thawing. *Journal of Food Measurement and Characterization*. **Food Measure** **13**, 2521–2528.

Nováková L, Solich P, Solichová D. 2008. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry*. 27- **10**, 942–958.

Oszmiański J, Wojdyło A, Kolniak J. 2009. Effect of l-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze–thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries. *LWT - Food Science and Technology*. 42 (2), 581–586.

Poiana MA, Moigradean D, Raba D, Alda LM, Popa M. 2010. The effect of long-term frozen storage on the nutraceutical compounds, antioxidant properties and color indices of different kinds of berries. *J. food agri*. 8(1), 54–58.

Richter R. 2004. Výživa rostlin. Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně. Available from http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/ca.htm#top (accessed March 2020)

Richter R. 2004. Výživa rostlin. Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně. Available from http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/uzitecne_prvky.htm#top (accessed March 2020)

Peiker J. 1962. Jahody. 1. vyd. Československá akademie věd. Praha.

Referenční hodnoty pro příjem živin. 2011. Společnost pro výživu. Praha.

Sahari MA, Boostani FM, Hamidi EZ. 2004. Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chemistry*. **86** (3). 357–363.

- Selman JD. 1994. Vitamin retention during blanching of vegetables. *Food Chemistry*. **49**(2). 137-147.
- Skibsted LH, Risbo J, Andersen ML. 2010. Chemical deterioration and physical instability of food and beverages. Boca Raton: CRC Press. Woodhead Publishing in food science, technology, and nutrition.
- Song WL, Fitzgerald GA. 2013 Niacin, an old drug with a new twist. *The Journal of Lipid Research* **54**(10). 2586-2594
- Ševčík R, Pohůnek V. 2017. Vliv technologického zpracování na osud nutričně významných látek ovoce a zeleniny. Vysoká škola chemicko technologická v Praze. Ústav konzervace potravin. 2017. Available from <http://www.vyzivaspol.cz/wp-content/uploads/2017/06/16.pdf> (accessed March 2020)
- Štěpán R. 2004. Které sazenice jahod stojí za to. Provozovatel Radek Štěpán. Available from <https://www.nasezahrada.com/ktere-sazenice-jahod-stoji-zato/> (accessed March 2020)
- Šubrtová M, Matějová H. 2015. Sodík a jeho vliv na zdraví. Lékařská fakulta, Masarykova univerzita. *Hygiena*, **60**(4). 149-154.
- Thurnham DI, Northop-Clewes ChA. 1999. Optimal nutrition: vitamin A and the carotenoids. *Proceedings of the Nutrition Society*. **58**(02). 449-457
- Uherová R. 2002. Čo vieme o vitamínoch dnes. Malé centrum. Bratislava.
- Vávrová J. 2007. Vitaminy a stopové prvky. SEKK. Pardubice.
- Velíšek J. 1999. *Chemie potravin 2*. OSSIS. Tábor.
- Volka K. 1995. *Analytická chemie II*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha.
- Wilhelm Z. 2005. Úloha hořčíku ve fyziologických funkcích a v nemoci. Habilitační práce. Masarykova univerzita, Brno.
- Welch CR, Wu Q, Simon JE. 2008. Recent advances in anthocyanin analysis and characterization. *Current Analytical Chemistry*. **4**(2). 75-101.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

HPLC – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

FAO – Organizace OSN pro výživu a zemědělství

K – Draslík

Ca – Vápník

Mg – Hořčík

P – Fosfor

ADP – Adenosindifosfát

ATP – Adenosintrifosfát

Na – Sodík

TAC – celkové množství anthokyanů