



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY

## VLIV SKLADOVACÍCH PODMÍNEK NA METABOLICKÝ PROFIL JABLEK

INFLUENCE OF STORAGE CONDITIONS ON METABOLIC PROFILE OF APPLES

DOKTORSKÁ PRÁCE  
DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

ING. KATEŘINA DUROŇOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

DOC. RNDr. IVANA MÁROVÁ CSc.

BRNO 2012

## ABSTRAKT

Cílem předložené disertační práce byla komplexní analýza změn obsahu mastných kyselin, enzymových a nízkomolekulárních antioxidantů v plodech jablek a s tím související hodnocení vnímavosti vůči původcům skládkových chorob u jablek dlouhodobě uchovávaných za různých podmínek. Hlavní část práce byla věnována studiu vlivu dlouhodobého skladování jablek v modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku a v referenční „normální“ atmosféře po dobu šesti měsíců. Další část práce byla věnována studiu vlivu skladování jablek v běžných, spotřebitelsky dosažitelných, podmínkách (uskladnění ve sklepě, v lednici a v místnosti s pokojovou teplotou) na obsah nízkomolekulárních antioxidantů. Poslední část práce byla zaměřena na studium vlivu zpracování jablek (včetně použití protektantů) a jejich následného uskladnění na obsah nízkomolekulárních antioxidačních látek. Pro testování byla vybrána jablka odrůdy Jonagored, Golden Delicious, Idared, Šampion, Granny Smith.

V rámci práce byla optimalizována metoda pro stanovení mastných kyselin v rostlinném materiálu s vyšším obsahem vosků. Z naměřených hodnot vyplývá, že jablka jsou cenným zdrojem řady významných nutričních látek typu vitaminů, provitaminů a antioxidantů. V průběhu skladování tyto látky vykazují značnou ochrannou funkci plodů. Dlouhodobé skladování, zejména v modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku (FAN), umožňuje uchovat většinu těchto nutričně cenných látek, a to v závislosti na odrůdě a podmínkách skladování. Mražení je vůči plodům jablek šetrné (zejména v přítomnosti ochranných látek), zatímco v průběhu sušení dochází k poklesu hodnot všech sledovaných antioxidantů v závislosti na teplotě a podmínkách sušení. Při volbě metody uchovávání je třeba zohlednit jak nutriční, tak i senzorické charakteristiky a spotřebitelské požadavky.

## **ABSTRACT**

The goal of presented dissertation has been complex analysis of changes in content of fatty acids, enzymatic and low-molecular antioxidants in apples and related evaluation of perception of originators of storage diseases for apples stored in various conditions. Main part of the work has been dedicated to study of the impact of storage of apples in modified atmosphere with reduced amount of oxygen and in reference “normal” atmosphere for six months. Next part of the work has been dedicated to study how apple storage in common, consumer affordable, conditions (storage in a cellar, in a refrigerator, and in room temperature) affects content of low-molecular antioxidants. For testing has been selected apple kinds Jonagored, Golden Delicious, Idared, Šampion, and Granny Smith.

Within the scope of this work has been optimized the method for determination of fatty acids in plant material with higher content of wax. The measured values imply the apples are valuable source of many important nutrition substances like vitamins, provitamins and antioxidants. During the storage process these substances exhibit considerable protective function. Long-term storage, mainly in the atmosphere with reduced amount of oxygen (FAN), enables preservation of majority of these important nutrition substances depending on the kind of apple and conditions of storage. Freezing process is conservative to apples (mainly in the presence of protective substances), while in the process of drying the values of all monitored antioxidants decrease depending on temperature and conditions of drying. Upon the choice of the storage method one must consider nutrition, sensoric characteristic and consumer demands.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

jablko, antioxidant, skladování, mastná kyselina, přirozená mikroflóra, mikrobiální kontaminace, antioxidační enzymy, sušení, mražení

## **KEYWORDS**

apple, antioxidant, storage, fatty acid, natural microflora, microbial contamination, antioxidant enzymes, drying, freezing

DUROŇOVÁ, K. *Vliv skladovacích podmínek na metabolický profil jablek*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 193 s. Vedoucí dizertační práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

Poděkování:

*Za cenné rady a všestrannou pomoc patří mé poděkování především školitelce disertační práce doc. RNDr. I. Márové, CSc. Ráda bych také poděkovala doc. Ing. M. Čertíkovi PhD. ze Slovenské Technické University v Bratislavě za možnost spolupráce na projektu Stanovení mastných kyselin v povrchových strukturách jablek, dále pak Ing. S. Obručovi PhD. za cenné rady a pomoc, celému kolektivu spolupracovníků a mé rodině za podporu během celého studia.*

*Předložená práce byla finančně podpořena z prostředků projektů - QH81056 Mze; 2B08057 NPV2 MŠMT; MSM 0021630501; FRVŠ G4 2639/2009; XBD 16001002 VUT v Brně; CZ.1.05/2.1.00/01.0012 (Centrum materiálového výzkumu FCH VUT v Brně).*

# Obsah

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Pěstování jablek v České republice .....	9
2.2	Dovoz jablek do České republiky.....	10
2.3	Vývoj plodů jablek .....	10
2.4	Faktory ovlivňující životaschopnost sklizených jablek.....	12
2.4.1	Uskladnění jablek .....	12
2.4.2	Mikrobiální kontaminace.....	16
2.4.3	Přirozené stárnutí.....	23
2.5	Metody pro posouzení vlivu skladovacích podmínek na životaschopnost jablek.....	29
2.5.1	Stanovení mikrobiálního zatížení .....	30
2.5.2	Extrakce fytoláték z rostlinného materiálu .....	30
2.5.3	Stanovení individuálních aktivních fytoláték.....	30
2.5.4	Stanovení celkových polyfenolů a flavonoidů .....	31
2.5.5	Stanovení celkových antioxidačních účinků fytoláték.....	31
2.5.6	Stanovení lipidů a mastných kyselin.....	32
2.5.7	Stanovení aktivity enzymů katalyzujících redoxní reakce .....	32
3	Cíl práce .....	34
4	Experimentální část .....	35
4.1	Použité chemikálie a přístroje .....	35
4.1.1	Chemikálie .....	35
4.1.2	Přístroje .....	36
4.2	Testovaná jablka.....	37
4.2.1	Odrůdy.....	37
4.2.2	Uskladnění .....	39
4.3	Zpracování materiálu.....	39
4.4	Metody stanovení .....	41
4.4.1	Stanovení povrchové mikroflóry .....	41
4.4.2	Stanovení celkové antioxidační aktivity .....	41
4.4.3	Stanovení celkových polyfenolů .....	42
4.4.4	Stanovení celkových flavonoidů .....	42
4.4.5	Stanovení obsahu kyseliny askorbové.....	43

4.4.6	Stanovení individuálních antioxidačních látek pomocí HPLC .....	44
4.4.7	Stanovení individuálních flavonoidů pomocí LC/MS .....	44
4.4.8	Stanovení aktivity antioxidačních enzymů .....	45
4.4.9	Stanovení lipidů a mastných kyselin.....	47
4.5	Statistické zpracování výsledků .....	48
4.5.1	Test regresní rovnicí .....	49
4.5.2	Porovnání s referenčním materiálem.....	49
4.5.3	ANOVA – analýza rozptylu.....	50
5	Výsledky a diskuze .....	51
5.1	Dlouhodobé uchovávání jablek v normální a modifikované atmosféře .....	51
5.1.1	Senzorická analýza dlouhodobě skladovaných jablek.....	51
5.1.2	Mikrobiální zatížení dlouhodobě skladovaných jablek .....	53
5.1.3	Umělá infekce jablek po dlouhodobém skladování .....	59
5.1.4	Celková antioxidační aktivita dlouhodobě skladovaných jablek .....	63
5.1.5	Obsah kyseliny askorbové v dlouhodobě skladovaných plodech jablek.....	67
5.1.6	Obsah celkových polyfenolů v dlouhodobě skladovaných plodech jablek .....	70
5.1.7	Obsah celkových flavonoidů v dlouhodobě skladovaných plodech jablek .....	73
5.1.8	Obsah individuálních antioxidačních látek v dlouhodobě skladovaných jablcích.....	76
5.1.9	Analýza antioxidačních enzymů .....	113
5.1.10	Stanovení lipidů a mastných kyselin v povrchových strukturách jablek .....	115
5.1.11	Porovnání obsahu mastných kyselin ve slupce jablek.....	118
5.1.12	Porovnání obsahu mastných kyselin v dužině jablek .....	125
5.1.13	Statistická analýza.....	131
5.2	Studium vlivu uskladnění jablek v domácích podmínkách na obsah aktivních látek v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared.....	133
5.2.1	Celková antioxidační aktivita jablek skladovaných ve spotřebitelských podmínkách. ....	133
5.2.2	Obsah kys. askorbové v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách .....	135
5.2.3	Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách .....	138
5.2.4	Obsah individuálních aktivních látek v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách .....	143
5.3	Studium vlivu sušení na obsah aktivních látek v jablcích .....	150
5.3.1	Celková antioxidační aktivita sušených jablek v závislosti na použité teplotě sušení. ....	150
5.3.2	Obsah kyseliny askorbové v jablcích v závislosti na teplotě sušení.....	151
5.3.3	Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích v závislosti na teplotě sušení....	153

5.3.4	Obsah individuálních aktivních látek v jablcích v závislosti na teplotě sušení .....	154
5.4	Studium vlivu mražení na obsah aktivních látek v jablcích .....	157
5.4.1	Celková antioxidační aktivita mražených vzorků jablek .....	158
5.4.2	Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v mražených vzorcích jablek.....	159
5.4.3	Obsah individuálních fenolických látek v mražených vzorcích jablek .....	161
6	Závěry .....	165
7	Seznam použité literatury.....	172
8	Seznam použitých zkratk .....	184
9	Přílohy .....	185
10	Životopis autora a publikační činnost .....	190

# 1 Úvod

Ovoce je přírodním zdrojem ochranných látek, které denně potřebujeme pro své zdraví. Konzumace ovoce svou různorodostí zabezpečuje přísun celého komplexu vitamínů, minerálních látek, vlákniny a dalších prospěšných látek, jejichž dostatečný a pravidelný přísun podporuje odolnost a obranyschopnost organismu. V ovoci jsou tyto látky obsaženy v biologicky ideální formě a nelze je proto zcela adekvátně nahradit uměle syntetizovanými produkty.

Jablka jsou bohatá na vlákninu a jablečný pektin, které příznivě povzbuzují střevní peristaltiku, dále obsahují jednoduché cukry (především fruktózu a v menší míře glukózu a sacharózu), které napomáhají udržovat stabilní hladinu krevního cukru. Mezi další důležité látky patří bílkoviny a lipidy zastoupené zvláště ve slupce. Neméně důležité je zastoupení minerálních látek, zejména draslíku, který je nezbytný pro udržení vody v buňkách, pro přenos nervových podnětů a činnost svalů. Ve stopových množstvích se zde vyskytuje i vápník, fosfor, železo, měď, mangan, zinek a selen, které jsou důležité pro látkovou výměnu, funkci enzymatických systémů a ochranu buněk. V jablkách jsou přítomny také vitamíny skupiny B a látky s antioxidační schopností jako je vitamin C, skupina fenolických a karotenoidních látek, které se podílí na ochraně organismu před poškozením způsobeným účinky oxidačního stresu [1-4].

Jablka jsou celosvětově široce využívanou univerzální plodinou, která může být konzumována ihned po sklizni nebo použita na výrobu řady potravinářských produktů a polotovarů. Aby bylo možné využívat čerstvé ovoce po celý rok, jsou jablka skladována v různých podmínkách a speciálních atmosférách. A právě vliv některých speciálních podmínek uchovávání na metabolismus jablek je hlavním tématem předložené práce.



## 2 Teoretická část

### 2.1 Pěstování jablek v České republice

Jablka právem patří mezi nejvýznamnější ovocné druhy. Tvoří 12 % celosvětové produkce ovoce a jsou po banánech, hroznech a pomerančích čtvrtým nejfrekventovanějším ovocným druhem. Díky adaptivním schopnostem je lze na rozdíl od jiných ovocných druhů pěstovat ve většině klimatických oblastí - od extrémně chladných míst, jako je Sibiř a severní Čína, k mnohem teplejším, například okolí Kolumbie a Indonésie. Čína, USA, Turecko, Írán, Francie, Itálie, Polsko a Rusko se řadí mezi největší světové producenty. V roce 2004 činila světová produkce jablek více než 57 000 milionů tun [5].

Jablka jsou u nás jedním z nejatraktivnějších druhů ovoce, což potvrzuje i fakt, že z celkové roční spotřeby 87 kg ovoce na jednoho obyvatele České republiky představují jablka asi 25 kg, což je současně jedna z nejvyšších spotřeb ve světě. V České republice se v současné době pěstuje ovoce na ploše cca 19 000 ha intenzivních sadů. Na této výměře se každoročně vyprodukuje průměrně 220 000 tun ovoce ročně. Kromě tohoto množství se v České republice vypěstuje ještě dalších 250 000 tun ovoce v extenzivních sadech a zahradách, které je využíváno samozásobiteli a na průmyslové zpracování [6].

Sady se zavedeným systémem integrované ochrany a zásad ekologického hospodaření zaujímají v rámci komerčního pěstování ovoce v České republice stále větší podíl; rozloha sadů s integrovanou produkcí dosahuje v současné době 11 042 ha, rozloha sadů s ekologickou produkcí 3 678 ha. Konvenční systém ovocnářství je limitován hlavně ekonomickými aspekty hospodaření, dosažením vysokých zisků bez ohledu na ochranu životního prostředí, biodiverzitu a stabilitu agroekosystémů. Používání pesticidů a minerálních hnojiv je bez omezení. Integrovaná produkce ovoce je ekonomická produkce ovoce vysoké kvality, která dává přednost ekologicky přijatelným metodám a minimalizuje nežádoucí vedlejší účinky agrochemikálií při jejich používání. Klade důraz na zvýšení ochrany životního prostředí a lidského zdraví. Pravidla hospodaření jsou zde přísně upravena dle Směrnice pro integrované systémy pěstování ovoce. Ekologický systém ovocnářství je koncipován jako nejbližší k přírodě a s respektem k jejím zákonitostem. Společným jmenovatelem je nepoužívání agrochemikálií, především průmyslových hnojiv a pesticidů, nižší intenzita obhospodařování půdy, pěstování odolných odrůd, péče o půdu a její úrodnost, podpora a využití prospěšných organismů v biologické ochraně aj. Dodržování stanovených pravidel je pod přísným dohledem příslušných kontrolních organizací [7].

Mezi nejčastěji pěstované ovocné stromy v České republice patří jabloně (*Malus domestica* Borkh), což je dáno nejen oblibou jejich plodů, ale i velmi dobrými podmínkami pro jejich pěstování. Tvoří asi polovinu produkčních sadů a rozkládají se na výměře kolem 9 000 ha [8]. V intenzivních výsadbách jabloní se každoročně vyprodukuje 140 000 tun

konzumních jablek. Hlavními odrůdami jsou Idared, Golden Delicious, Jonagold, Gloster, Šampion, Rubín atd. V současnosti se začínají ve výsadbách prosazovat nové rezistentní a vysoce tolerantní odrůdy, které byly vyšlechtěny v České republice ve VŠÚO v Holovousích, jako např. Angold, Selena, Julia, případně v Ústavu experimentální botaniky AV ČR ve Střížovicích - odrůdy Topaz, Rubinola a Goldstar [9].

## 2.2 Dovoz jablek do České republiky

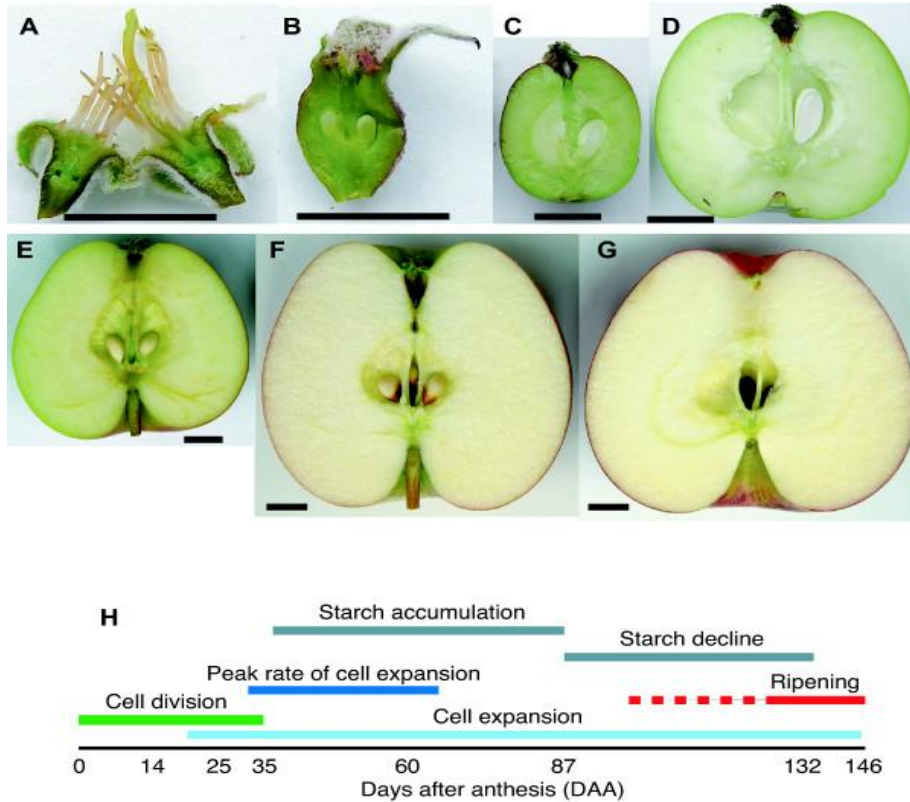
Zatímco v letech 2001 až 2005 činil průměrný roční dovoz jablek 46 200 tun, v letech 2006 až 2010 se zvýšil o 55 procent na 71 800 tun. Jablka do Česka jdou hlavně z Itálie a Polska a dále ze Slovenska, Německa a Belgie. Dovozová jablka také hladce pokryla nárůst spotřeby jablek v Česku. Spotřeba jablek při porovnání obou pětiletých období vzrostla o deset procent na 26,1 kilogramu na obyvatele a rok. Podle odhadů je podíl českých jablek v obchodních řetězcích pod 40 procent [10,11].

## 2.3 Vývoj plodů jablek

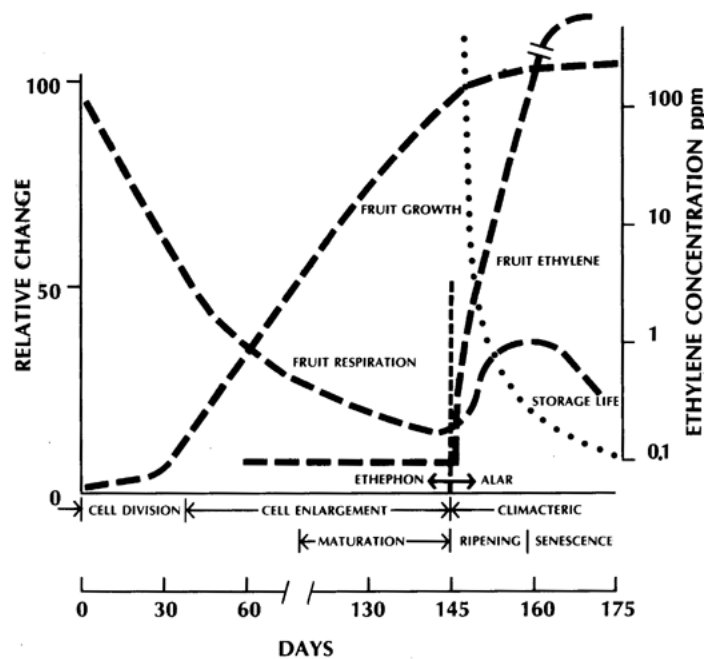
Správný vývoj plodu je velmi důležitý nejen pro sensorickou atraktivitu jablek, ale i pro další skladování a schopnost obrany proti původcům chorob. Zahrnuje sled syntézy a odbourávání mnoha látek.

Po opylení a odkvětu dochází k rychlému buněčnému dělení, které je pak zpomaleno, aby mohlo dojít k růstu samotných buněk a k akumulaci škrobů. Plody tak nabírají na svém objemu a k tvorbě daného tvaru a velikosti ovoce, jak naznačuje obrázek č. 1 (snímek A-G). Zrání ovoce většinou začíná před ukončením růstu. Během zrání je nejedlý plod přeměněn ve vizuálně a sensoricky atraktivní. Úplné dozrání pak zahrnuje soubor fyzikálních a chemických změn, jako je růst, respirace (čím více plod dýchá, tím vyšší je cukernatost plodů), enzymové syntézy, měknutí dužiny, zvýšení sladkosti odbouráváním škrobů a změny aroma a barvy (syntéza antokyanových a karotenoidních barviv ve slupce jablek, zatímco chlorofylová barviva jsou odbourávána) [12].

Ethylen jako netoxický plyn se tvoří v plodech již v preklímakterickém stádiu, avšak jeho produkce se rapidně zvyšuje během zrání, a to zejména u tzv. „klímakterických“ druhů ovoce, jako jsou jablka, meruňky, banány aj., zatímco u „neklímakterických“ druhů nedochází během zrání k výraznějším změnám syntézy ethylenu. Ethylen se nehromadí v pletivech plodů, ale volně difunduje ven z plodu [13]. Jednotlivé pochody také znázorňuje obrázek č. 2.



*Obrázek č. 1:* Fáze vývoje jablka: A ihned po odkvetení, B 14 dnů po odkvětu, C 35 dní po odkvětu, D 60 dní po odkvětu, E 87 dní po odkvětu, F 132 dní po odkvětu, G 146 dní po odkvětu, H diagram vývoje ovoce - ukazuje harmonogram důležitých fyziologických událostí. Zrání je zobrazeno přerušovanou a plnou červenou čarou (přerušovaná – preklímaterické, plná – klímaterické). Měřítko = 1 cm [13].



*Obrázek č. 2:* Průběh dýchání během zrání plodů jablek - klímaterická křivka [14]

## 2.4 Faktory ovlivňující životaschopnost sklizených jablek

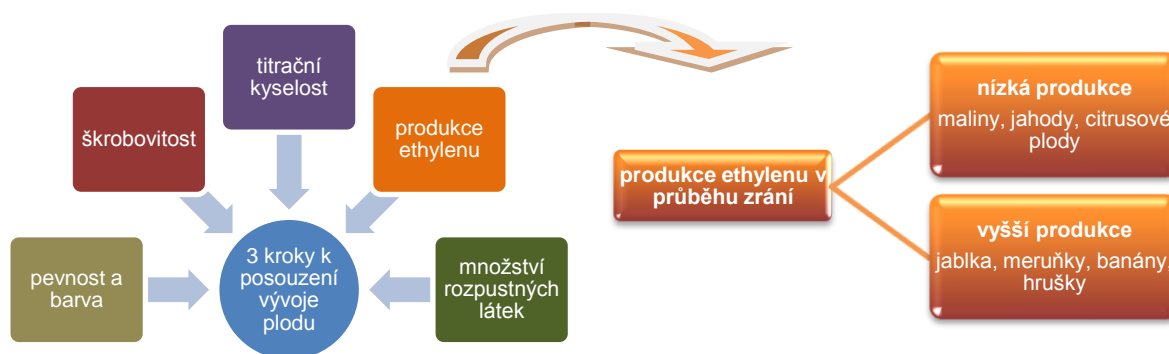
### 2.4.1 Uskladnění jablek

Pro skladování musí být jablka sklizena v preklimaktériu, kdy jsou respirace a produkce ethylenu minimální, ale ovoce je dostatečně zralé na to, aby během skladování došlo k rozvoji typické barvy, chuti, vůně a textury. Výzkumy sledující vliv ethylenu na skladování uvádějí, že jeho kontinuální působení během skladování stimuluje vznik mnoha těkavých látek, primárně esterů a alkoholů. Jejich koncentrace byla vyšší u později sklizených plodů. Metabolická aktivita plodu závisí na dostupnosti energie a stavebních látek. V utržených plodech jsou tyto látky získávány během respirace a oxidačního štěpení složitějších látek (jako jsou škrob, sacharidy a organické kyseliny) v buňkách na jednoduché molekuly oxidu uhličitého a vody. Snížení respirace a snížení metabolické aktivity plodu prodlouží jeho skladovatelnost. Metabolické procesy ale nesmí být zcela zastaveny, neboť jejich účelem je udržení života buněk. V posklizňovém období probíhá v ovoci stále transport plynů. Kyslík difunduje přes průduchy ve slupce do intracelulárního systému a je následně transportován do cytoplazmy a center, kde se spotřebovává. Oxid uhličitý vzniká v buněčných tekutinách a putuje opačným způsobem. Při nedostatku kyslíku se snaží buňky získat energii jiným způsobem, například fermentací. V tomto případě je pyruvát metabolizován na oxid uhličitý a acetaldehyd, který je pak přeměněn na ethanol. Produkce energie je v tomto případě nízká a může vést až k odumření buněk [15].

Pro úspěšné dlouhodobé uchování ovoce je třeba dodržet několik zásadních kroků. Tím prvním je bezesporu určení správné sklizňové zralosti plodů, po kterém následuje jejich citlivý sběr, odstranění poraněných a nemocných plodů a jejich rychlý transport do skladovacích prostor. Dalším, neméně důležitým krokem je zajištění vhodných podmínek pro skladování:

- nastavení a udržení vhodné skladovací teploty i vlhkosti,
- zajištění cirkulace vzduchu ve skladovacích prostorech,
- sanitace skladovacích prostor [16].

Ovoce určené pro dlouhodobé skladování je optimálně sklízeno v preklimakterickém stavu, zatímco ovoce určené k poměrně rychlé spotřebě je vhodné sklízet spíše později. K určení stupně zralosti plodů napomáhá sledování několika parametrů uvedených na obrázku č. 3 [17].



Obrázek č. 3: Parametry k posouzení vývoje plodu a sklizňové zralosti [17]

Pro jablka je doporučovaná teplota skladování v rozmezí od 0,5 do 4 °C a relativní vlhkost by se měla pohybovat mezi 90 a 95 %. Podle odrůdy, oblasti původu a technologie skladování mohou být jablka skladována po dobu jednoho až dvanácti měsíců. Modifikovaná a speciálně upravená atmosféra pro skladování jablek výrazně ovlivňuje kvalitu a prodlužuje délku skladování. Tím je zvýšena i tržní hodnota jablek. Změny a ztráty vlastností během skladování jablek ovlivňuje nejvíce odrůda, poškození a velikost plodů. Příčin vedoucích ke ztrátě kvality je daleko více, ale přesto mohou být rozděleny do dvou kategorií. V první kategorii jsou ztráty na fyzikálních ukazatelích. Hmotnostní ztráty způsobené prodáváním mohou růst v závislosti na míře mechanického poškození plodu a poškození v důsledku napadení škůdci a chorobami. Ztráta hmotnosti může také růst následkem zvýšeného odparu intercelulárně vázané vody. Do druhé kategorie ztrát patří ztráty fyziologických a organoleptických vlastností. Tyto ztráty ovlivňují změnu textury a chuti, což působí negativně na spotřebitele. Změny mohou růst díky stárnutí plodů nebo kvůli nevhodnému skladování [18].

Aby bylo možné ovoce dlouhodobě skladovat, je třeba nastavit takové podmínky, které sníží dýchání plodů na minimum. Toho lze docílit snížením teploty ve skladovacích prostorech. Zvýšení podílu oxidu uhličitého a zároveň snížení kyslíku podle určitých norem může vést k nejen k účinnějšímu potlačení růstu mikroorganismů a ochraně plodů před hmyzem, ale i výraznějšímu zpomalení biochemických reakcí (včetně oxidací) v potravinách, které vedou ke zpomalení zrání a stárnutí [18].

#### 2.4.1.1 Skladování s odlišným chemickým složením vzduchu

Toto skladování je označováno jako skladování v modifikované atmosféře (MAS – „Modified Atmosphere Storage“) a má více jak sedmdesátiletou historii (počítáno od prvních zkoušek v East Mallingu v Anglii) [19]. U nás se tato technologie začala zavádět na konci šedesátých let. Skladování s obsahem kyslíku do 4 % a obsahu oxidu uhličitého 4 až 5 % bylo označováno jako skladování v řízené či kontrolované atmosféře. Avšak postupným

zkoumáním tolerance plodů vůči kyslíku bylo zjištěno, že jsou schopny odolávat ještě nižší koncentraci kyslíku, než odpovídá řízené atmosféře. A tak byla vytvořena metodika skladování při velmi nízkých koncentracích kyslíku, označovaná jako ULO skladování („Ultra Low Oxygen“), která v polovině devadesátých let byla zavedena i v České republice.

Rozeznáváme tak několik systémů pro skladování:

- Skladování v atmosféře s 1 až 2 % kyslíku a 0,5 % oxidu uhličitého, označovaných jako ULO („Ultra-Low-Oxygen“).
- Skladování v atmosféře s 0,2 až 1 % kyslíku a 0,5 % oxidu uhličitého, označovaných jako FAN („Fluctuating ANaerobiose“).
- Skladování v atmosféře s 0,6 % kyslíku a 0,5 % oxidu uhličitého, označovaných jako BAN („Boarding ANaerobiose“) [20].

Pokud by došlo k poklesu obsahu kyslíku až na nulu a zároveň zvýšení obsahu oxidu uhličitého, ovoce by na tuto změnu zareagovalo anaerobní respirací, která je velmi nežádoucí. Tyto podmínky jsou vhodné pro skladování obilí, kdy je potlačen růst plísní a zničen hmyz. I když má skladování v modifikované a řízené atmosféře na ovoce a zeleninu velmi pozitivní vliv, velkou nevýhodou je ekonomická zátěž celého procesu. Uchovávání v řízené atmosféře nese s sebou i další určitá omezení:

- nízké hladiny kyslíku nebo vysoké hladiny oxidu uhličitého, které jsou potřebné k inhibici bakterií nebo hub, jsou pro mnohé potraviny nevhodné;
- nesprávné složení plynu se může způsobit změny v biochemických pochodech ve tkáních plodů, což může vést k fyziologickým poruchám, snížení charakteristické chuti nebo tvorbě nežádoucích produktů vlivem anaerobního dýchání;
- různé odrůdy stejného druhu reagují odlišně na dané složení plynu [21].

Konstrukce komor určených pro skladování v řízené atmosféře se navrhuje tak, aby byla zajištěna odpovídající plynotěsnost, která dovolí udržovat uvnitř komor požadované složení atmosféry. Prakticky není možné stavět naprosto plynotěsné komory; výměna plynu mezi vnitřkem komory a vnějškem je nevyhnutelná. Nicméně komory by měli být přiměřeně plynotěsné, aby bylo možné řídit hladiny kyslíku a oxidu uhličitého. Je proto důležité znát nejvyšší přípustnou rychlost unikání a mít k dispozici metodu kontroly k ověření, zda stavba vyhovuje tomuto kritériu (rychlost pronikání kyslíku do komory je přímo úměrná stupni netěsnosti) [22].

#### **2.4.1.2 Skladování v částečném vakuu**

V tomto typu skladování se snižuje množství kyslíku ve stejném poměru, jak klesá tlaku vzduchu. Hlavními výhodami jsou průběžné odstraňování ethylenu a dalších těkavých

látek z atmosféry a přesná kontrola tlaku vzduchu ( $\pm 0,1\%$ ). Nicméně, metoda není běžně aplikována vzhledem k vyšším nákladům [23].

#### **2.4.1.3 Uchovávání typu „Smart Fresh“**

Další možností, jak podpořit skladovatelnost jablek, je využití **1-methylcyklopropenu**, který brání vzniku ethylenu v plodu. Tato metoda, nazývaná také jako „Smart Fresh“, byla vyvinuta v roce 1990 na univerzitě North Carolina State [24]. Nyní se používá především pro skladování jablek, ale i dalšího ovoce - kiwi, rajčat, švestek, banánů, khaki, avokáda, melounů a hrušek. Je založena na jednorázové aplikaci 1-methylcyklopropenu, který je velmi podobný ethylenu a brání dozrávání plodů. Ošetření se provádí co nejdříve, nejpozději do 7 dní po sklizni jablek, po jejich předchozím zchlazení. V případě skladování při teplotě vyšší než 10 °C, ale nepřesahující 20 °C, musí být ošetření provedeno do 3 dnů po sklizni. Aplikuje se rozptýlením v uzavřených prostorách skladu s ovocem nebo zeleninou na 24 hodin a pak se pokračuje skladováním buď za běžných podmínek, nebo lépe v modifikované atmosféře. Díky této metodě se zvláště u jablek uchová jejich křehkost a pevnost slupky, také nedochází ke ztrátě kyselosti [24].

#### **2.4.1.4 Vakuová impregnace**

Sušící, konzervační a mrazící techniky většinou mají vliv na organoleptické vlastnosti plodů, jako je textura, barva a chuť. Jednou z technologií, které přispívají k zachování původních vlastností ovoce a zeleniny, je vakuová impregnace [25].

Vakuová technika je považována za předběžnou úpravu pro zpracované ovoce nebo zeleninu vedoucí ke zlepšení jejich kvality, kdy dochází k aktivnímu začlenění funkční složky do struktury potravin. Pasivní impregnace (namáčení rostlinných produktů v roztoku) se obvykle používá při výrobě kandovaného, sušeného a mrazeného ovoce. Ve studii z roku 1998 [26] bylo zjištěno, že použití pektinu a alginátu před zmražením umožnilo zachovat tvar, hmotnost a také barvu ovoce ve větší míře než u neošetřeného ovoce, zejména s použitím vysoce methylovaného pektinu. Nicméně, zpracování je zdlouhavé a závislé na molekulární difúzi sloučenin z roztoku dovnitř ovoce. Na druhé straně, technologie vakuové infuze je založena hlavně na rychlém hydrodynamickém přenosu hmoty. Před impregnací je potravina přenesena do vakua. To umožňuje během několika sekund nahradit vzduch uzavřený v pórech ovoce či zeleniny impregnačním roztokem. Tato technologie je vhodná jak pro celé plody, tak ji jejich části bez ohledu na pórovitost [27].

Máčení celých plodů ve vodných roztocích konzervačních přísad s vakuovou aplikací se používá k uchovávání ovoce i zeleniny, například jablek, citronů, avokáda, manga, nektarinek, rajčat a jahod. Sloučeniny používané k impregnaci jsou obvykle vápenaté soli (většinou chlorid vápenatý) a mnoho druhů rostlinných hormonů (polyaminů). Obohacení celých plodů vápníkem po sklizni má hned několik výhod. Za prvé, vápník hraje zvláštní roli



v udržování struktury buněčné stěny v ovoci a další skladovací orgány interakcí s kyselinou pektinovou v buněčných stěnách tvoří pektát vápníku. Přítomnost vápníku umožňuje udržet nebo i zvyšuje pevnost a tuhost buněčné stěny a tím celého ovoce v průběhu skladování a zrání. Za druhé, vápník interaguje s membránou buněk změnou její struktury, což má vliv na propustnost této membrány a tím na transport některých látek zapojených do procesu zrání a stárnutí. Za třetí, některé enzymatické reakce, jako je například fosforylace proteinů katalyzovaná proteinkinázou, jsou na přítomnosti vápníku závislé. Díky uvedeným skutečnostem vápník příznivě působí na oddálení procesu stárnutí plodů [27,28].

- Vakuová aplikace vápníku (3 až 4% roztoku chloridu vápenatého) byla použita na různé odrůdy jablek [29]. Například u plodů odrůdy Golden Delicious skladovaných 15 týdnů při teplotě 0° C byla zjištěna vyšší pevnost pletiv, současně s tím došlo ke zvýšení obsahu kyseliny askorbové až na dvojnásobek, zatímco produkce oxidu uhličitého a ethylenu se výrazně snížila [30]. Zvýšení kyseliny askorbové a oddálení procesu stárnutí bylo také pozorováno u plodů manga ošetřených vakuovou impregnací 4% roztoku chloridu vápenatého skladovaných při pokojové teplotě [31].
- Vakuová infiltrace plodů polyaminy (kladně nabitě molekuly) působí stejně jako vápník oddálení procesu stárnutí a měknutí tkání rostlinných produktů z důvodu schopnosti polyamidů vázat se buněčné stěny a stabilizovat membrány [32]. Při srovnávání účinku impregnace vápníkem a různými polyaminy na plátcích jahod bylo zjištěno, že látky spermidin a spermin jsou stejně účinné jako vápník. Vakuová infiltrace putrescinu nebo giberelinu zvýšila pevnost celých plodů citronů skladovaných při 15 °C a zároveň zpomalila vybarvování nezralých plodů [33,34]. Pozitivní výsledky přinesla aplikace infuzních roztoků obsahující flavonoidové glykosidy (kvercetin) a fenolické kyseliny (kyselina chlorogenová) k potlačení měknutí tkání u jablek skladovaných při teplotě 20 °C a 0 °C, a to díky inhibiční vlastnosti těchto látek na účinky enzymu beta-galaktosidázy [35].

#### **2.4.2 Mikrobiální kontaminace**

Úrodu jabloní neustále ohrožují nejrůznější škůdci a choroby. Obvykle se proti nim bojuje chemickými postřiky, avšak aplikace postřiků zvyšuje ekonomické zatížení pěstování. Nicméně existuje ještě druhá možnost, levnější a šetrnější k životnímu prostředí, a to šlechtění odolných stromů. Tato technika je však poměrná obtížná, protože jednotlivé genové zdroje je třeba detailně charakterizovat [36].

Šlechtění má za cíl buď zachovat a zdokonalovat vlastnosti stávající odrůdy nebo jejího klonu selekcí nejkvalitnějšího, výkonného množitelského materiálu (udržovací šlechtění), anebo získat zcela novou kvalitu vzájemným křížením (hybridizací) vytipovaných odrůd ovoce, u nichž je větší pravděpodobnost předávat dobré vlastnosti na potomstvo (novošlechtění). Tato činnost probíhá obvykle v úzce specializovaných pracovištích, jako jsou



výzkumné ústavy, šlechtitelské stanice, univerzity), existují však i úspěšní soukromí šlechtitelé původních odrůd (u nás hlavně jabloní, broskvoní a angreštu). Nová odrůda může vzniknout i jako nahodilý semenáč v přírodě a spontánními nebo záměrnými (cílenými) mutacemi. V České republice se šlechtěním zabývá několik pracovišť, například Ústav experimentální botaniky AV ČR nebo Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský v Holovousech. Šlechtění nových odolných odrůd nachází své uplatnění zejména v ekologickém ovocnářství v zemích Evropské unie a v USA [37].

#### **2.4.2.1 Předsklizňové choroby**

##### **Strupovitost a padlí jabloňové**

Nejvážnějšími a nejrozšířenějšími chorobami jabloní jsou strupovitost a padlí jabloňové. Původcem strupovitosti je *Venturia inaequalis*, který napadá všechny orgány stromu mimo kořenů. Na listech vytváří hnědozelené skvrny, které později zčernají, na plodech zase šedočerné skvrny. Slupka v místě napadení korkovatí a někdy i praská. Plod je tak náchylný k dalšímu onemocnění. Takto poškozené ovoce je nevzhledné a často i tvarově zdeformované. Během skladování se může na ovoci objevit i pozdní (tzv. skládková) strupovitost, kdy se na původně zdravých nenapadených plodech vytvoří drobné černé skvrnky rozesté často ve velkém množství po celém povrchu jablka. Velmi citlivou odrůdou k tomuto onemocnění se jeví Golden Delicious. Padlí jabloňové způsobuje patogen *Podosphaera leucotricha*, který je schopen přezimovat na květních pupenech jabloní. Na jaře pak napadá listové růžice, které se poté stávají zdrojem sekundární infekce. Napadené listy jsou menší, opadávají, napadené letorosty zasychají a mají malé přírůstky. Po napadení a zaschnutí větviček raší ze spících pupenů nové výhony. Jejich dřevo špatně vyžívá a může být poškozeno mrazem nebo dalšími chorobami. U silně náchylných odrůd bývají někdy napadány i plody, což se projevuje jemným rzivým síťováním plodů. K nejnáchylnějším odrůdám patří Jonathan, Idared, Coxova reneta apod. [38].



*Obrázek č.: 4a,b: Padlí jabloňové a strupovitost jablek [39,40]*

### 2.4.2.2 Posklizňové choroby

Mezi nejčastější původce posklizňových chorob ovoce patří houby, zatímco bakterie způsobují často onemocnění zeleniny, ale vzácně ovoce rostoucího na stromě. Virová onemocnění mohou rozvinout nebo posílit posklizňové choroby kořenů a hlíz některých plodin, ale prakticky nemají vliv na ovoce. Běžnými houbovými patogeny jsou zástupci třídy *Ascomycetes* a příbuzné nepravé houby. *Phycomycetes* jsou zastoupeny rody *Rhizopus*, *Phytophthora* a *Pythium*. *Basydiomycetes*, až na několik výjimek, nepatří mezi posklizňové patogeny. Houbové patogeny kolonizují povrch plodů a dovnitř plodu se dostávají dvěma způsoby:

- mechanickým poškozením plodu: prasklinami, řeznými ranami, poraněním způsobené hmyzem, otlaky a odřeninami,
- tvorbou apresorií (umožňují houbám proniknout do epidermální části ovoce) [41].

### Modrá hniloba

Nejčastější a nejdestruktivnější hnilobou jablek, hrušek a kdoulí, která se objevuje při přepravě a skladování plodů, je tzv. modrá hniloba [42]. Toto onemocnění postihuje všechny odrůdy již zmiňovaných plodů pěstovaných ve všech částech zeměkoule. Jejím původcem je *Penicillium expansum*, který proniká do plodů v místech, kde došlo k mechanickému poškození. Nejdříve vytváří světlé a měkké léze, které se při sporulaci parazita mění na modrou. *Penicillium expansum* produkuje velké množství spor, které se lehce roznáší vzduchem. Nedostatečná cirkulace vzduchu kolem skladovaných plodů zvyšuje vlhkost, která příznivě ovlivňuje rozvoj hniloby. Také teplota je důležitým faktorem pro rozvoj infekce. Zatímco skladovací teploty nejsou příliš příznivé pro rozvoj choroby, k problémům může dojít při pomalém zchlazení plodů a skladováním přezrálého ovoce [41,42].



Obrázek č. 5: Modrá hniloba jablek

## Šedá hniloba

Šedá hniloba jablek způsobuje hned za modrou hnilobou největší ztráty, a to díky rychlému rozvoji onemocnění i za nižších skladovacích teplot (na rozdíl od jiných hnilob). Infikovaná jablka uskladněná na podzim při teplotě 0 °C jsou často již v únoru nebo březnu kompletně rozložena. Původcem choroby je parazit *Botrytis cinerea*, který na plodech vytváří hnědé léze, které se později při sporulaci mění na šedé [41,42].



Obrázek č. 6a,b: Šedá hniloba jablek a hroznů vinné révy [43,44].

## Kruhová hnědá hniloba

Původcem antraknózy jablek je *Pezicula malicorticis*, který nejdříve napadá kůru stromů a poté samotné ovoce. Onemocnění je v první fázi vývoje plodu latentní a projevuje se až při zrání ovoce, kdy se na infikovaném ovoci tvoří malé kruhovitě hnědé skvrny, zvané býčí oko. Kruhová hnědá hniloba je onemocnění podobné antraknóze, které způsobuje organismus *Pezicula alba* Guthrie. Tvoří ostře ohraničené hnědé skvrny, na jejichž povrchu se tvoří tzv. acervuli (plodnice konidiového stadia). Onemocnění se projevuje většinou až v druhé polovině skladovacího období a způsobuje až 30 % ztrát [41,45,46].



Obrázek č. 7: Kruhová hnědá hniloba jablek [47]

## Hořká hniloba

Hořká hniloba, způsobená houbou *Colletotrichum gloeosporioides*, se může na nezralém ovoci projevovat ve formě malých šedých až hnědých skvrn, které se s postupem zrání plodu zvětšují a vytváří propadlé hnědé léze ohraničené červeným zbarvením. Na těchto lézích pak vytváří černé fruktifikační útvary, které při vhodných podmínkách tvoří smetanové až lososově růžové spory [48].



Obrázek č. 8: Hořká hniloba jablek [49]

## Černá hniloba

Černá hniloba primárně napadá listy a větve stromů, později se přenáší i na ovoce. Hnilobu způsobuje organismus *Physalospora obtusa* (též *Botryosphaeria obtusa*). Na infikovaných plodech se začnou vytvářet malé červené a fialové skvrny, které se postupně zvětšují a mění své zbarvení na hnědé až černé [41].



Obrázek č. 9: Černá hniloba jablek [50]

## Bílá hniloba

Bílou hnilobu způsobuje houba *Botryosphaeria dothidea*, která nejdříve tvoří malé skvrny a puchýře na kůře stromů, které se později změny ve vředy, odkud se choroba dále šíří na plody. Na ovoci pak tvoří hnědé skvrny obklopené červenými kroužky, plod bývá napaden

z kališní části. Červeně zbarvené plody často ztrácí barvu, a proto tato choroba dostala název „bílá hniloba“. Onemocnění postihuje zejména odrůdu jablek Fuji [41].



Obrázek č. 10: Bílá hniloba jablek [51]

#### **Hniloba způsobená houbou *Mucor piriformis* Fischer**

Mechanicky poraněné plody jablek mohou být napadnuty houbou *Mucor piriformis* Fischer, která způsobuje hnilobu. Tato choroba je známa také u hrušek. Napadená tkáň má světle hnědé zbarvení s ostrými okraji, kde patogen může tvořit mycelium s tmavými sporangii [41].



Obrázek č. 11: Hniloba způsobená houbou *Mucor piriformis* Fischer [52]

#### **Hniloba způsobená houbou *Alternaria alternata***

Dalším onemocněním skladovaného ovoce je hniloba, kterou způsobuje organismus *Alternaria alternata* díky své schopnosti růst i za velmi nízkých teplot. Typickým příznakem této hniloby je tvorba hnědých až černých lézí na ovocných plodech [41].





Obrázek č. 12: Hniloba způsobená houbou *Alternaria alternata* [53]

### Napadení organismem *Cladosporium herbarum*

Saprofytický organismus *Cladosporium herbarum* je běžnou mikroflórou ovocných sadů, která však může napadat poškozené plody. Napadená tkáň je pak tvrdá, suchá šedočerně zbarvená. Šíření této choroby v průběhu skladování se dá předejít odstraněním napadených a poškozených plodů [41].



Obrázek č. 13: Hniloba způsobená houbou *Cladosporium herbarum* [54]

### Hniloba způsobená organismem *Monilinia fructigena*

*Monilinia fructigena* (*Sclerotinia fructigena*) je důležitým houbovým patogenem způsobujícím před- i posklizňovou hnilobu ovoce v Evropě. V dobře fungujících ovocných sadech způsobuje ztráty menší jak 10 %, avšak v Maďarsku byly zaznamenány až 46% ztráty [55]. U skladovaného ovoce tyto ztráty činí asi 0,2 % až 1,5 % [41]. Patogen přežívá v odumřelých plodech nebo kůře stromu, kde se pak vyvíjí. Organismus napadá mechanicky poškozené plody tak, že nejdříve vytváří hnědé kruhové léze, na kterých později rostou bílá mycelia. Infekce postupuje dál, až je nakonec celý plod rozložen [41].



Obrázek č. 14: Hniloba způsobená organismem *Monilinia fructigena* [56]

V současné době je velmi obtížné nalézt ekonomickou a ekologickou rovnováhu mezi mírou chemického ošetření jablek před sklizní, podmínkami skladování a mírou poškození plodů skládkovými chorobami. Do tohoto tématu by tak mohlo vnést světlo studium ovlivnění metabolismu obraných látek plodu (látek s antioxidační schopností) a složení vybraných složek slupky - další obranné bariery, dále účinky skladovacích podmínek a kontaminujících mikroorganismů.

### 2.4.3 Přirozené stárnutí

Podstatou stárnutí je neschopnost bránit oxidačnímu poškození způsobeného volnými radikály a obnovovat důležité biomolekuly neomezeně dlouho. Tvorba kyslíkových radikálů je nevyhnutelnou součástí aerobního metabolismu. Organismus musí čelit oxidačnímu poškození svých biomolekul antioxidační ochranou.

Za normálních okolností existuje v organismu rovnováha mezi tvorbou volných radikálů a působením antioxidačního obranného systému. Tato rovnováha je žádoucí, protože převaha jednoho či druhého může vést k vážnému poškození organismu. Častěji se vyskytují stavy s vyšším výskytem volných radikálů. Ty mohou nastat jejich zvýšenou produkcí nebo snížením antioxidační obrany, v úvahu přichází i kombinace obou těchto stavů. Převaha volných radikálů se nazývá oxidační stres. Převaha antioxidantů je pro organismus rovněž škodlivá. Může blokovat životně důležité účinky volných radikálů, což může vést k poruše imunity nebo k narušení signální funkce. Může také paradoxně zvyšovat oxidační stres, např. nadbytek vitamínu C způsobuje redukci  $\text{Fe}^{3+}$  na  $\text{Fe}^{2+}$  a umožní tím účast železa ve Fentonově reakci [57].

Oxidační stres vede k poškozování různých makromolekul v organismu. Poškození lipidů může negativně ovlivnit fluiditu membrán, vést ke změně propustnosti pro ionty a také k ovlivnění enzymů vázaných na membránách. Poškozením bílkovin dochází ke ztrátě

jejich enzymové, signální či transportní funkce. Narušení DNA se může projevit jako translační chyba, inhibice proteosyntézy či mutace, která může vést i ke karcinogenezi.

Celkovou sílu všech antioxidantů v organismu, které společně bojují proti volným radikálům a jejich negativním účinkům, nazýváme antioxidační kapacita. Jednotlivé antioxidanty se mezi sebou liší v řadě charakteristik:

- mechanismus účinku (zábrana vzniku volných radikálů, odstraňování již vytvořených volných radikálů a náprava škod pomocí reparačních systémů),
- rozpustnost (lipofilní a hydrofilní antioxidanty),
- lokalizace v intra- a extracelulárním prostoru (intracelulárně lokalizované jsou antioxidační enzymy - superoxiddismutáza, kataláza, glutathionperoxidáza; extracelulárně - proteiny obsahující -SH skupiny, albumin, nízkomolekulární látky jako je kyselina askorbová, kyselina močová, bilirubin, polyfenoly, antioxidační enzymy méně, díky jejich nízké koncentraci).

Proti účinku volných radikálů se organismus chrání pomocí složitého antioxidačního systému:

#### **I. Primární antioxidační systém**

Brání vzniku nových volných radikálů eliminací iontů přechodných kovů, chelatací nebo inhibicí enzymů, které katalyzují tvorbu nových radikálů.

#### **II. Sekundární antioxidační systém**

Odstraňuje již vzniklé volné radikály. Je rozdělen do tří skupin dle účinku:

1. tzv. „scavengery“ (odstraňovače) přeměňují volné radikály na neradikálové molekuly
2. tzv. „trappery“ (lapače) přeměňují volné radikály na relativně stabilnější reaktanty
3. tzv. „quencher“ (zhášedce) přímo zhášejí volné radikály

#### **III. Terciální antioxidační systém**

Opravuje již poškozené biomolekuly a buněčné složky. Tento systém se skládá ze tří skupin enzymů:

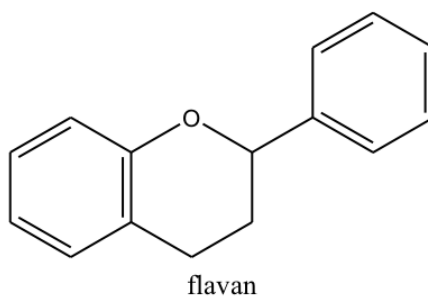
- 1) opravné enzymy v závislosti na síle poškození opravují, odstraňují nebo jen obnovují funkci poškozených úseků řetězce DNA
- 2) proteolytické enzymy katalyzují hydrolýzu peptidových vazeb v proteinech
- 3) lipolytické enzymy štěpí poškozené lipidy



Rostlinná pletiva mají několik účinných mechanismů za účelem zmírnění škod způsobených volnými radikály, které se generují jak při normálním vývoji plodu, tak i při působení stresových podmínek. Tyto mechanismy zahrnují přírodní nízkomolekulární antioxidanty, jako jsou fenolické a karotenoidní látky, kyselina askorbová a enzymatické systémy (superoxiddismutáza, kataláza, peroxidáza aj.). Enzym superoxiddismutáza tvoří první ochranou linii buněk. Odstraňuje vysoce toxický a reaktivní superoxidový radikál, který vzniká rozpadem molekulárního kyslíku. Další antioxidační enzym peroxidasa katalyzuje nespecifický rozklad peroxidu vodíku za přítomnosti donorů vodíku, na této reakci se podílí taktéž enzym kataláza, který dále zajišťuje oxidaci vodíkových donorů - alkoholů, fenolů, aminokyselin [58].

#### 2.4.3.1 Ochranné fenolické látky

Fenolické látky se vyskytují v celé rostlinné říši. V závislosti na druhu rostliny nalézáme různé zastoupení jednotlivých skupin fenolů. Ve své molekule obsahují flavanový cyklický skelet a se dělí na skupiny flavonoidů a fenolických kyselin. Flavonoidy mohou být dále rozlišovány na několik podskupin, a to flavony a isoflavony, flavanony, flavonoly, flavanoly a antokyanidy [59,60].



Obrázek č. 15: Flavanový skelet

Fenolické látky jsou často uloženy na strategicky důležitých místech, kde se sehrávají signální roli a často i přímou roli v obraně. Fenolické látky se obvykle hromadí v centrálních vakuolách epidermálních buněk, stejně jako v subepidermálních buňkách listů a výhonků. Kromě toho jsou některé fenolické látky připojeny kovalentní vazbou na stěnu rostlinné buňky. Ostatní se vyskytují ve voscích nebo na vnějším povrchu rostlinných orgánů. Některé studie se zmiňují i o ukládání flavonoidů v jádrech buněk některých druhů stromů, kdy flavonoid-DNA komplex poskytuje vzájemnou ochranu před oxidativním poškozením. Rostlinné fenoly mohou být rozděleny do dvou tříd: (i) fenolické látky, které jsou syntetizovány během normálního vývoje rostlinných pletiv a (ii) indukované fenoly, které jsou syntetizovány rostlinami v reakci na fyzické zranění, infekci nebo při stresu těžkými kovy, UV zářením, teplotou, atd. [61].

Fenolické fytolátky jsou tvořeny biosyntetickou dráhou, která zahrnuje prekurzory z šikimátové a acetát-malonátové dráhy. Prvním krokem je vazba glukózy v pentózofosfátové dráze, nevratná konverze glukóza-6-fosfátu na ribulóza-5-fosfát za účasti glukóza-6-fosfátdehydrogenázy. Konverzí na ribulolóza-5-fosfát vzniká také redukováná forma nikotinamidadenindinukleotidfosfátu (NADPH) pro buněčné anabolické reakce. V pentózofosfátové dráze se také produkuje erythróza-4-fosfát, který spolu s fosfoenolpyruvátém z glykolýzy, jsou vedeny do šikimátové dráhy [62]. Fenylalanin produkovaný šikimátovou dráhou je pak společným prekurzorem pro většinu fenolických látek u vyšších rostlin. Podobně kyselina hydroxyskořicová a zejména její estery s koenzymem A jsou společné konstrukční prvky fenolických látek, jako jsou estery a amidy kyseliny skořicové, lignin, flavonoidy a kondenzované taniny. Fenylalaninová/hydroxyskořicová dráha je označována jako „hlavní fenylypropanoidový metabolismus“. Zahrnuje reakce vedoucí od L-fenylalaninu k hydroxyskořicovým sloučeninám a jejich aktivním formám [63].

Anthokyany zodpovídají za modré, fialové a červené zbarvení rostlinných tkání. Vyskytují se především jako glykosidy anthokyanidinových chromoforů. Podobně jako jiné flavonoidy, anthokyany a anthokyanidiny (aglykony) mají antioxidační vlastnosti. Běžnými anthokyanidinovými aglykony jsou kyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin a petunidin. Například kyanidin je nejčastější anthokyanidin, který je obsažen v 90 % ovoce. Největší zastoupení kyanidinu můžeme nalézt v bobulovém ovoci, které je zbarveno sytě tmavě fialově až černě. Pro srovnání: hruška obsahuje 0,25 mg kyanidinu ve 100 g čerstvé váhy, oproti tomu borůvky obsahují až 200 mg ve 100 g. Kyanidinové glykosidy mají obvykle vyšší antioxidační vlastnosti než peonidinové či malvidinové glykosidy, pravděpodobně díky volným hydroxylovým skupinám na uhlíku C3 a C4 molekuly kyanidinu [64,65,66].

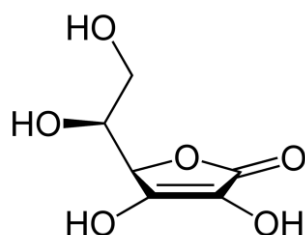
Anthokyany z potravy mohou být absorbovány jako glykosidy. Nicméně, podíl absorbovaných a vylučovaných anthokyanů do moči tvoří jen malé procento (méně než 0,1 %) z přijatého množství. Další otázkou je, jestli je tělo schopné si vytvářet zásoby anthokyanů po dlouhodobé konzumaci potravy bohaté na tyto látky. Seeram a kolektiv [67] zjistili, že kyanidinglykosidy z třešňového koláče samovolně degradují na kyselinu 3,4-dihydroxybenzoovou, 2,4-dihydroxybenzoovou a 2,4,6-trihydroxybenzoovou v roztoku při pH 7. Anthokyany při pH<3 existují jako flavyliové kationty, ale při pH 3 až 6 mohou existovat jako chinoidní báze a při pH 7 až 8 se mohou přeměnit na chalkony. Vzhledem k nestabilitě anthokyanů v neutrálním pH není jasné, zda nezměněné anthokyany zůstávají ve tkáních dostatečně dlouho na to, aby se projevíly jejich antioxidační účinky [4].

Experimentálně bylo zjištěno, že slupka jablek obsahuje 2 až 6krát více fenolických sloučenin a 2 až 3krát více flavonoidů než dužina [68]. Ve slupce jablek jsou nejvíce zastoupeny prokyanidiny, katechin, epikatechin, kyselina chlorogenová, phloridzin a kvercetin. V dužině můžeme nalézt katechin, prokyanidin, epikatechin a florizin, avšak v mnohem nižších koncentracích, naopak kyselina chlorogenová je zastoupena ve vyšší

koncentraci. Lze tedy říci, že antioxidační aktivita slupky je mnohem vyšší v porovnání s dužinou a jejím odstraněním před konzumací se ochuzujeme o hlavní část antioxidantů.

#### 2.4.3.2 Kyselina askorbová

Kyselina askorbová (spolu s polyfenolickými látkami) je další důležitou součástí antioxidačního komplexu ovoce.



Obrázek č. 16: L-kyselina askorbová [69]

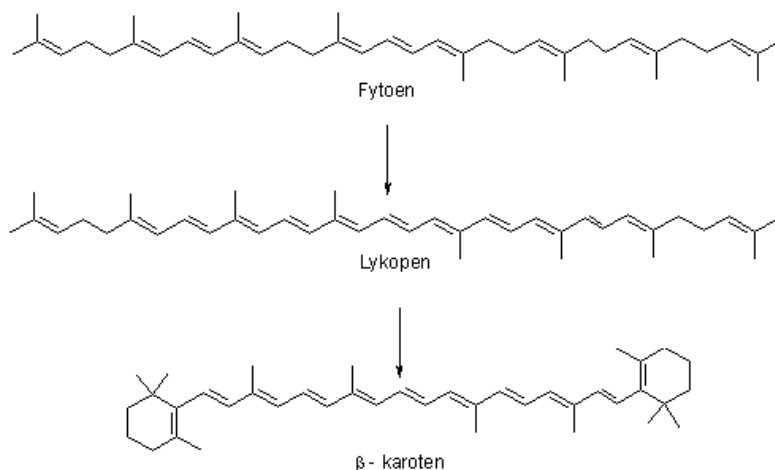
Kyselina askorbová zabraňuje hnědnutí ovoce, proto se používá k ošetření plodů před jejich dalším zpracováním. Behrens a Madere [70] našli v jablečných šťávách jako dominantní formu kyselinu askorbovou, pouze v menším zastoupení byla přítomna forma kyseliny isoaskorbové a oxidované formy kyseliny dehydroaskorbové a dehydroisoaskorbové [71].

Mechanismus biosyntézy kyseliny askorbové (askorbátu) v rostlinách byl studován mnohými vědci, ale až v roce 1998 byl poprvé akceptován následující předpoklad [72]. Během zrání ovoce dochází k řadě reakcí, jako je například přeměna barviv, syntéza cukrů a degradace buněčných stěn. Všechny tyto reakce mohou způsobit napětí (tonus) ve tkáních, které vyžaduje činnost antioxidantů (zejména askorbátu) za účelem ochrany před poškozením buněk. V důsledku toho lze očekávat postupné snižování obsahu askorbátu v plodech během zrání. Nicméně zdá se, že v některém ovoci dochází během zrání k výraznému nárůstu askorbátu (př. papája - 4násobné zvýšení během dozrávání [73]), zatímco v jiných typech hladiny askorbátu zůstávají nezměněny nebo dochází k mírnému poklesu. Mechanismy, jimiž je regulován obsah askorbátu v ovoci, jsou stále studovány, avšak důležitou roli zřejmě hraje také rovnováha mezi syntetickými a degradačními procesy, které jsou regulovány geneticky. Zvýšení či snížení obsahu askorbátu a dehydroaskorbátu také odráží účinek enzymatických i neenzymatických faktorů. Rovnováha mezi těmito faktory určuje pak konečný obsah askorbátu během zrání nebo během skladovacích procesů různých typů rostlinných tkání [74].

#### 2.4.3.3 Karotenoidy

Z chemického hlediska patří karotenoidy do skupiny tetraterpenoidů (jsou jejich synonymem) a jedná se o oligomery isoprenu. Vlastní karotenoidy se vyznačují pouze

několika variantami uhlíkového skeletu: mají buď ryze alifatický řetězec, nebo řetězec zakončený jedním či dvěma cykly (šestičlenným nebo pětičlenným). Dvojně vazby karotenoidů umožňují *cis-trans*-isomerii; většinou mají konfiguraci *all-trans*, konfigurace *cis* se vyskytuje jen ve dvojných vazbách nesubstituovaných methyly.



*Obrázek č. 17:* Lipofilní pigmenty tvořené z izoprenových jednotek [75]

Karotenoidy jsou přírodní látky se širokým spektrem biologických funkcí. Tvoří rozsáhlou skupinu žlutých, oranžových, červených a fialových pigmentů, která zajišťuje více důležitých funkcí v rostlinných tkáních. Tou první je absorpce modrého světla pro fotosyntézu, což vede k využívání sluneční energie v plném rozsahu viditelného spektra. Karotenoidy nemohou převést tuto energii přímo, ale musí ji nejdříve předat na chlorofyl. Proto se často označují jako přídatné fotosyntetické pigmenty. Druhou hlavní funkcí je funkce ochranná. Pokud molekuly chlorofylu přijmou ze záření více energie, než lze využít pro přenos elektronu, může dojít k aktivaci kyslíku, jehož některé formy mají destruktivní účinky na thylakoidy chloroplastů. Pokud je ale nadbytečná energie převedena do struktury karotenoidů, zneškodní se přeměnou na teplo. Tato schopnost karotenoidů je pro život rostlin nezbytná. Karotenoidy také chrání rostlinu před účinky UV záření. Na podzim je u listnatých stromů zastavena produkce chlorofylu, karotenoidní barviva tak získají dominantní postavení a způsobí barevnou změnu listů. Stejný proces nastává při zrání ovoce a zeleniny [76].

Biosyntéza karotenoidů probíhá v plastidech. Jejich prekurzorem (a také prekurzorem vitamínu E, který ochraňuje především membránovou složku fosfolipidů) je dvacetihlíkatý geranylgeranyldifosfát (GGDP). Enzym fytoensyntáza katalyzuje kondenzaci dvou molekul GGDP. Je tak vytvořen čtyřicetihlíkatý fytoen, který prochází čtyřmi desaturačními kroky katalyzovanými fytoendesaturázou a  $\xi$ -karotendesaturázou za vzniku lykopenu, který je

transformován účinky lykopenocyklázy na beta-karoten. Posledním krokem biosyntézy karotenoidů v rostlinných tkáních je tvorba xantofylů [77].

#### **2.4.3.4 Změny povrchových lipidických struktur v důsledku stárnutí jablek**

Lipidy a mastné kyseliny jsou důležitými strukturními a metabolickými složkami rostlinných buněk. Narušení membránových lipidů snižuje schopnost buněk přizpůsobit se extrémním teplotám a dalším stresovým podmínkám, které mohou způsobovat problémy během uskladnění ovoce. Spolu se strukturní rolí slouží mastné kyseliny a lipidy jako prekurzory důležitých regulačních a aromatických těkavých látek [78].

Ve studii zaměřené na změny složení povrchových lipidů slupky jablek během vývoje a zrání plodů bylo zjištěno, že nezralé plody více akumulují uhlovodíky a kyselinu ursolovou [79]. V průběhu dozrávání, obzvláště během období, kdy plod začíná intenzivně dýchat, dochází k postupnému hromadění mastných kyselin a alkoholů. Po dosažení respiračního vrcholu začínají mastné kyseliny klesat v důsledku biosyntézy těkavých aromatických látek, a to zapojením klíčových enzymů lipoxygenázy a hydroperoxidlyázy. Zastoupení jednotlivých mastných kyselin v průběhu zrání jablek bylo sledováno také v další práci [80]. Nejvyšší zastoupení a zároveň největší změny mastných kyselin byly nalezeny ve frakci neutrálních lipidů v porovnání s frakcí polárních lipidů. Zdůvodněním může být fakt, že mastné kyseliny polárních lipidů jsou začleněny především v membránách buněk, které se metabolismu příliš neúčastní. Největší kolísání v zastoupení bylo zjištěno u kyseliny palmitové, stearové, olejové, linolové a linolenové. Naproti tomu u kvantitativně významnějších kyselin - arachidonové a dokosadienové, byly zjištěny jen malé rozdíly [81].

Nové skladovací technologie vzbudily zájem vědců také i v oblasti změn metabolismu lipidů a syntézy těkavých aromatických látek v průběhu skladování. Rozhodujícím faktorem pro tyto procesy je správně načasovaná sklizeň. Nicméně, ve studii z roku 2002 [82] bylo zjištěno, že proces skladování jablek a dalšího ovoce (zaměřený na snížení biosyntézy ethylenu nebo skladování v atmosféře se sníženou dostupností kyslíku), má negativní dopad na tvorbu těkavých aromatických sloučenin. K detailnějšímu ujasnění této problematiky jsou však zapotřebí další studie.

## **2.5 Metody pro posouzení vlivu skladovacích podmínek na životaschopnost jablek**

Ke správnému posouzení vlivu skladovacích podmínek na uskladněné plody ovoce je velmi důležité ovoce co nejrychleji dopravit do laboratoře a zpracovat. Se změnou teploty i složení atmosféry totiž dochází ke zvýšení respirace a tím ovlivnění celkového metabolismu plodů i kontaminujících mikroorganismů.

### 2.5.1 Stanovení mikrobiálního zatížení

Ke sledování celkového mikrobiálního zatížení skladovaného ovoce je využíváno selektivních půd pro růst organismů s definovanou plochou. Takové například nabízí firma Merck pod názvem Envirocheck® Contact. Jedná se o disky nebo tyčinky potažené selektivním médiem s definovanou plochou, které jsou sterilně uzavřeny. Kontaminující organismy mohou být na tyto disky přeneseny otiskem ovoce, na jehož povrchu sledujeme mikrobiální kontaminaci, případně vložením testovacího disku do přesně definovaného objemu kapaliny (vody, pufry), ve kterém bylo ovoce smočeno. Mikrobiální zatížení je pak uváděného podle použité techniky v jednotkách cfu/cm<sup>2</sup> (pro suchou metodu) a cfu/ml (pro metodu využívající kapalinu).

Pro identifikaci jednotlivých organismů jsou využívány selektivní půdy, diagnostické imunochemické testy, mikroskopie, hmotnostní spektrometrie či polymerázová řetězová reakce [83-86].

### 2.5.2 Extrakce fytoláték z rostlinného materiálu

Dříve, než je možné stanovit jednotlivé aktivní fytolátky a jejich účinky, je třeba tyto látky z rostlinných materiálů izolovat. K rozrušení buněk a homogenizaci materiálu se využívá mechanických dezintegrátorů či ultrazvuku. Poté následuje extrakce daného analytu z takto upraveného vzorku. Nejčastějšími způsoby extrakce antioxidantních látek jsou extrakce vhodným kapalným rozpouštědlem:

- pro extrakci fenolických látek se nejčastěji využívá methanol či směs metanolu a vody [87,88],
- pro extrakci kyseliny askorbové vodný roztok kyseliny meta-fosforečné [87,89,90] či kyseliny trichloroctové [91],
- pro extrakci karotenoidů aceton [92],

Dále pak může následovat extrakce tuhou fází (Solid-Phase Extraction), extrakce pomocí Soxhletova extraktoru nebo vysokotlaká extrakce rozpouštědlem. Posledním krokem je zkoncentrování vzorku, například pomocí vakuového odpařování. Takto upravený vzorek je možné použít pro další stanovení.

### 2.5.3 Stanovení individuálních aktivních fytoláték

Ke stanovení individuálních aktivních fytoláték je hojně používána vysokoúčinná kapalinová chromatografie se spektrofotometrickou (diodové pole) nebo hmotnostní detekcí. K tomuto účelu se většinou využívají kolony C18 s reverzní fází (RP). Díky strukturní variabilitě celé skupiny fenolických látek a různorodosti jejich rostlinných zdrojů bylo navrženo značné množství izokratických i gradientových elučních soustav:

- pro eluci fenolických látek je nejvíce využíván systém acetonitril:voda s 1% kyselinou octovou pro udržení pH [88,93], případně systém methanol:okyselená [94,95] v různém poměru či tvaru gradientu,
- pro eluci karotenoidních látek se nejčastěji používá methanol, případně směs methanol:voda (95:5) [96].

Pro stanovení kyseliny askorbové byla vyvinuta metoda využívající taktéž RP-HPLC. Pro separaci jednotlivých forem askorbátu se nejčastěji používají kolony s amino-fází a k jejich eluci pak roztok octanu sodného ve směsi s acetonitrilem. Další možností je využití HPLC s elektrochemickou detekcí či mikrotitrační metody, při které askorbát reaguje s 2,6-dichlorindofenolem za vzniku lososově růžového zbarvení [97].

#### 2.5.4 Stanovení celkových polyfenolů a flavonoidů

Ke stanovení celkových polyfenolů se nejčastěji využívá jejich reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem za vzniku barevného produktu, jehož intenzita je měřena fotometricky. Standardní látkou pro toto stanovení je kyselina galová. K upřesnění stanovení celkových flavonoidů lze použít orientační spektrofotometrickou metodu s hlinitou solí a dusitanem [98,99].

Množství celkových antokyanů se taktéž měří fotometricky, avšak využívá se přirozeného zbarvení těchto látek při důsledném dodržení pH. Standardní látkou je kyanidin [94,100].

#### 2.5.5 Stanovení celkových antioxidačních účinků fytolátek

Pro analýzu účinků fytolátek bylo navrženo několik metod hodnotících různé parametry:

- a) Metody založené na hodnocení eliminace syntetických a kyslíkových radikálů, které jsou do reakční směsi přidávány nebo jsou v reakční směsi přímo generovány. Jedná se o kyslíkové radikály (hydroxyl, peroxy, superoxidový anion-radikál) nebo syntetické stabilní radikály (DPPH, ABTS<sup>•+</sup>, galvinoxyl) [101].
- b) Metody založené na hodnocení eliminace lipidové peroxidace.
- c) Metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek, kdy jsou neenzymové antioxidanty charakterizovány jako redukční činidla, která reagují s oxidanty, redukují je a tím dochází k jejich inaktivaci [102].

Pro hodnocení antioxidační aktivity ovoce a jiných potravin jsou používány především metody měření TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential) [102].

Metody založené na eliminaci syntetických radikálů testují schopnost vzorku zhaset radikály, jako je například kationradikál ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonová kyselina)] nebo radikál DPPH (difenylpicrylhydrazyl). Antiradikálová aktivita vzorku je pak porovnávána s antiradikálovou aktivitou standardu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) - Trolox Equivalent Antioxidant Capacity. Měření celkové antioxidační aktivity je prováděno fotometricky, kdy je sledován úbytek radikálu. Byla též vypracována metoda kombinující HPLC separaci látek s následnou reakcí s kationradikálem ABTS nebo DPPH, nebo je možné reakci pozorovat pomocí elektronové spinové rezonance [102]. Metody byly využity i v dalších pracích [87,100,103,104].

Metoda ORAC využívá schopnost látek zpomalit nebo zcela zastavit tvorbu peroxylových radikálů vyvolanou pomocí látky AAPH [2,2'-azobis(2-isobutyrimidamid)-dihydrochlorid]. Detekce je založena na sledování úbytku fluorescence beta-fykoerytrinu [87,100,103,104]. Metoda FRAP je založena na redukci železitých komplexů [2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin)], které jsou téměř bezbarvé. Redukcí na železnaté komplexy při pH 3,6 dochází ke tvorbě fialového zbarvení, které je měřeno fotometricky. Přestože reakce neprobíhají za fyziologických podmínek (díky nízkému pH) byla tato metoda využita v řadě studií [105-107].

### **2.5.6 Stanovení lipidů a mastných kyselin**

Ke stanovení lipidů v jednotlivých odrůdách jablek byla ve studii z roku 2007 [108] použita extrakce pomocí směsi methanolu a chloroformu v poměru 2:1 (v/v) po předchozí homogenizaci vzorku a inaktivaci lipáz a s následným přečištěním v roztoku chloridu sodného nebo draselného a odpařením rozpouštědel ve vakuu. Zhang, Thian [109] použili stejnou extrakční směs, avšak v opačném poměru, tj. směs methanol:chloroform (1:2). Song a Bangereth ve své práci využili k extrakci Soxhletův extraktor, v němž extrahovali lipidy směsí hexan:izopropanol v poměru 3:2. Takto připravený surový lipidový preparát byl převeden na methylestery mastných kyselin a analyzován pomocí plynové chromatografie s plamenově fotometrickým či hmotnostním detektorem [80].

### **2.5.7 Stanovení aktivity enzymů katalyzujících redoxní reakce**

K zachování enzymatické aktivity vzorků je nutné co nejrychleji zastavit metabolické funkce ve zkoumaném rostlinném materiálu. Toho lze dosáhnout rychlým zmražením na velmi nízkou teplotu. Homogenizace vzorku musí taktéž probíhat při nízkých teplotách. Ve studii z roku 2000 [110] byl k extrakci použit fosfátový pufr s přísádkem polyvinylpyrollidonu. Ve studii [111] byl taktéž použit fosfátový pufr s přísádkem polyvinylpyrollidonu a Tritonu X100. Supernatant byl pak dále použit pro další stanovení, případně byl zařazen krok přečištění enzymu.



Ve studiích [81,112] byla aktivita lipoxygenázy měřena spektrofotometricky jako přírůstek absorpance v UV oblasti v průběhu času. Reakce spočívá v tvorbě a detekci hydroperoxidů s využitím kyseliny linolové jako substrátu. Song a Bangeth [80] použili ke stejné reakci metodu polarografie s kyslíkovou elektrodou.

Aktivita enzymu polyfenoloxidázy byla ve studiích [110,112,113] měřena spektrofotometricky s využitím katecholu jako substrátu.

Aktivitu superoxidismutázy lze měřit na základě schopnosti enzymu inhibovat fotochemickou redukci nitrobluetetrazolium (NBT) při vlnové délce 560 nm po světelné expozici po dobu 10 minut za použití fluorescenční lampy [58,114].

Peroxidáza katalyzuje redukci peroxidu vodíku na vodu. Jako donor elektronů pro vodík slouží bezbarvé sloučeniny guaiacol [111,115] a 3,3'-dimethoxybenzidin [116], které se v průběhu reakce barví. Intenzita zbarvení je měřena obvykle fotometricky.

Stanovení aktivity katalázy je založeno na fotometrickém měření úbytku známé koncentrace peroxidu vodíku [117]. Kromě fotometrického měření je možné stanovit koncentraci zbylého peroxidu titračně pomocí manganistanu draselného [118,119]. Stanovení aktivity je možné rovněž provádět pomocí polarografie, kde je pomocí kyslíkové elektrody měřen přírůstek kyslíku v reakční směsi [120].

### 3 Cíl práce

Cílem práce je komplexní sledování změn několika skupin metabolitů v plodech jablek v průběhu dlouhodobého uchovávání v regulované atmosféře. Účelem práce je zejména posouzení změn nutriční hodnoty plodů v průběhu uskladnění a změn obsahu pozitivních látek typu vitaminů, provitaminů, antioxidantů a dalších skupin. Součástí práce je sledování změn složení povrchových vrstev plodů a vnímavost k infekci skládkovými chorobami. Charakteristika problematiky úkolu:

- Průběžná rešerše ke studované problematice
- Experimentální práce
  - optimalizace metod separace jednotlivých tříd flavonoidů a dalších antioxidantů v biologickém materiálu,
  - analýza změn enzymových a nízkomolekulárních antioxidantů v ovoci v průběhu uchovávání,
  - analýza povrchových lipidů v průběhu dlouhodobého uchovávání,
  - analýza povrchové mikroflóry a povrchová mikroskopie,
  - průběžné vyhodnocení a interpretace výsledků.

## 4 Experimentální část

### 4.1 Použité chemikálie a přístroje

#### 4.1.1 Chemikálie

- Aceton p.a. (Lachema, ČR)
- Acetonitril ULC/MS (Biosolve, USA)
- Diethylether p.a. (Lach-Ner, s r.o., ČR)
- Ethanol pro UV spektrofotometrii (Lach-Ner, s r.o., ČR)
- Folin-Ciocaltauovo činidlo (fa RNDr. Jan Kulich, Hradec Králové, ČR)
- Kyselina m-fosforečná (Sigma-Aldrich, SRN)
- Kyselina o-fosforečná, p.a. (Lach-Ner, s r.o., ČR)
- Methanol G CHROMASOLV (Sigma-Aldrich, SRN)
- Methanol, p.a. (Lach-Ner, s r.o., ČR)
- Nutrient Broth w/1% Peptone (Himedia, ČR)
- Peroxid vodíku 30%, p.a. (Sigma-Aldrich, SRN)
- Polyvinylpyrolidon (Sigma-Aldrich, SRN)
- Triton X-100 (Serva, SRN)
- Trolox (Sigma-Aldrich, SRN)
- 2,6-dichlorindofenol (Serva, SRN)
- 4-methylkatechol (Sigma-Aldrich, SRN)
- standardní látky
  - beta-karoten (Sigma-Aldrich, SRN)
  - epikatechin (Sigma-Aldrich, SRN)
  - epikatechin galát (Sigma-Aldrich, SRN)
  - florizin (Sigma-Aldrich, SRN)
  - chlorogenová kyselina (Sigma-Aldrich, SRN)

- kaempferol (Sigma Aldrich, SRN)
- katechin (Sigma-Aldrich, SRN)
- katechingalát (Sigma-Aldrich, SRN)
- kyselina askorbová (Sigma-Aldrich, SRN)
- lykopen (Sigma-Aldrich, SRN)
- morin (Sigma-Aldrich, SRN)
- prokyanidin B2 (Sigma-Aldrich, SRN)
- kvercetin (Sigma-Aldrich, SRN)
- rutin (Sigma-Aldrich, SRN)
- diagnostické sety
  - Envirocheck Contact YM(R) a TVC kit (Mercury Lab, Izrael)
  - Ransod kit (Randox Laboratories, USA)
  - Total antioxidant status kit (Randox Laboratories, USA)

#### 4.1.2 Přístroje

- Analytické váhy (AND HR-120)
- Centrifuga (Hettich Zentrifugen Mikro 200, D; Janetzki T23, Polsko)
- Sestava HPLC (Ecom spol. s.r.o., ČR)
  - Degaser - DG 3014
  - Detektor - LCD 2084
  - Pumpa, programátor gradientu - Beta 1026
  - Termostat - LCO 102 LONG
- LC/PDA/ESI-MS soustava
  - Hmotnostní spektrometr ESI/IT LCQ Advantage MAY, Finnigan (USA)
  - PDA Plus Detektor Finnigan SURVEYOR (Švýcarsko)
  - Pumpa MS Pump Plus Finnigan SURVEYOR (Švýcarsko)

- Termostat LCO 101, Column Oven
- Mikroskop optický (Intraco micro, ČR)
- Mixér tyčový (Braun, ČR)
- Očkovací box (Bioair instruments)
- Odšťavňovač (Rohnson, ČR)
- Spektrofotometr UV/VIS Helios  $\alpha$ ;  $\gamma$  (Unicam, VB)
- Třepačka (Labicom s.r.o. RS 10 basic, ČR)
- Ultrazvuk (Powersonic PS 02000, SR)
- Vakuová odparka (Ika labortechnik HB4 basic, D)

## 4.2 Testovaná jablka

Plody specificky uskladněných jablek byly získány od spolupracující instituce – Ústavu posklizňové technologie zahradnických produktů (UPTZP) MZLU v Lednici (prof. Ing. Jan Goliáš, DrSc.) v období 2007 až 2008 a 2008 až 2009.

Ve druhé a třetí části studie zaměřené na analýzu změn aktivních látek v celých a zpracovaných plodech jablek skladovaných v domácích podmínkách bylo pracováno s odrůdami Golden Delicious a Idared získanými v obchodní síti.

### 4.2.1 Odrůdy

Pro studii vlivu skladovacích podmínek na metabolický profil jablek bylo vybráno pět odlišných odrůd jablek.

#### 4.2.1.1 *Golden Delicious*

Golden Delicious je odrůda jablek pocházející z USA, kde vznikla jako náhodný semenáč koncem minulého století. Nejvíce je zastoupena v teplejších oblastech Moravy a v teplejších místech v Čechách. Plody jsou střední, vysoce kulovité, mírně žebnaté. Základní barva je světle zelená, v době zralosti přechází v žlutou, někdy s nevýrazným růžovým líčkem. Slupka je tenká, suchá, hladká, matně lesklá a otláčuje se. Dužina je nažloutlá, pevná a křehká konzistence, navinule sladká, šťavnatá, aromatická a velmi dobrá. V teplých oblastech se sklízí koncem září, ze středních poloh až v druhé polovině října. Konzumní zralost dosahuje v listopadu a vydrží do března až dubna. Během skladování vyžaduje vyšší relativní vzdušnou vlhkost. Mezi hlavní nedostatky patří velká citlivost

na strupovitost a vysoké nároky na výběr stanoviště i plochy. Vyžaduje intenzivní chemickou ochranu [121,122].

#### **4.2.1.2 *Granny Smith***

Odrůda *Granny Smith* pochází z Austrálie (z konce 19. století). Plody stromů pěstovaných v českých podmínkách jsou středně velké. Čerstvá jablka jsou příjemně křupavá a díky své pevnosti se výborně hodí pro tepelné zpracování, neboť drží tvar. Slupka je pevná, sytě zelená, málokdy bývá světlejší. Dozrává pozdně a hodí se výborně k uskladnění. Stromy jabloně *Granny Smith* jsou dobře mrazuvzdorné. Pro bohatou sklizeň v plné chuti potřebují jabloně velmi slunečné a teplé umístění a také živnou, vlhkou avšak dobře propustnou půdu [123].

#### **4.2.1.3 *Idared***

Odrůda byla vyšlechtěna v USA křížením odrůd „*Wagenerovo*“ a „*Jonathan*“. Plody jsou středně velké, kulovité. Základní barva je zelenožlutá, v době zralosti překrytá jasně červenou barvou. Podle počasí se vybarvuje až do tmavě fialové barvy. Slupka je tlustá, tuhá, hladká, lesklá. Otláčuje se až po delším skladování. Dužina má bílou barvu, konzistence je křehká, navinule sladká chuť, šťavnatá, bez aromatu. Sklízí se v první a druhé dekádě října. Konzumně dozrává v prosinci. Při dobrém skladování vydrží až do června. Velmi dobře se skladuje, netrpí skládkovými chorobami. Mezi nedostatky patří silná náchylnost k chorobám, větší citlivost na mraz, v horších půdních a klimatických podmínkách při nedostatečném vyžráním plodů jen průměrná chuť [124,125].

#### **4.2.1.4 *Jonagored***

Odrůda byla vyšlechtěna v USA křížením odrůd „*Golden Delicious*“ x „*Jonathan*“. Plody jsou středně velké až větší, nejčastější hmotnost plodu je 130 až 192 g. Tvar plodů je dosti pravidelný, kulovitý až vysoce kulovitý. Slupka je slabě masná, hladká a středně pevná. Základní barva je zpočátku zelenavě žlutá, později žlutá. Krycí barva je oranžově červená a je nanášena mramorováním a nepravidelným žíháním v průměru asi na 50 % povrchu. Dužina je dosti jemná, středně pevná, chruplavá a šťavnatá. Barvu má žlutavou. Chuť má sladce navinulou, mírně aromatickou, výbornou. Stromy jsou středně citlivé k zimním i jarním mrazům. Strupovitostí trpí středně, padlím silněji. Sklizňová zralost nastává nejčastěji začátkem října. Plody dobře drží na stromě. Při opožděné sklizni se však zkracuje jejich skladovatelnost. Konzumní období se pohybuje od prosince do března. Plody se poměrně dobře skladují. Úrodná, vzhledná a chuťově výborná odrůda, vhodná do teplejších stanovišť s lepšími půdami a dostatkem vláhy nebo závlahy [126,127].

#### **4.2.1.5 *Šampion***

Odrůda jabloně *Šampion* byla vyšlechtěna křížením odrůd „*Golden Delicious*“ x „*Coxova reneta*“ v České republice. Plody dorůstají velikosti střední až velké a nabývají kulovitě až kulovitě kuželovitě tvaru. Jejich slupka je hladká, středně tlustá a také někdy mírně rzivá, která je zbarvena žlutě a z 30 až 60 % překryta jasně červenou krycí barvou nanášenou převážně formou žíhání. Dužina je krémová, chruplavá a šťavnatá. Chuť je

harmonická, sladce navinulá. Jabloň silně trpí strupovitostí avšak vůči padlí je dosti odolná. Stromy brzy vstupují do plodnosti a jsou velmi úrodné. Dobře plodí i na vzrůstných podnožích. Doba zrání jablek nastává asi 2 týdny před odrůdou „Golden Delicious“. Uskladněné plody jablek v chladárně vydrží až do února. Plody jsou vhodné k přímé konzumaci, ke konzervaci, sušení i průmyslovému zpracování [128].

#### 4.2.2 Uskladnění

V první části práce byla jablka uskladněna po dobu šesti měsíců ve skladech s normální atmosférou a plynotěsných komorách s modifikovanou atmosférou „FAN - fluctuating anaerobiose“ s obsahem 0,5 % oxidu uhličitého a 1 % kyslíku.

Ve druhé části jsme simulovali skladování jablek v různých domácích podmínkách po dobu osmi týdnů:

- v laboratoři při 20,4 °C a vlhkosti 38,0 %,
- ve sklepech při 9,0 °C a vlhkosti 38,4 %,
- v lednici při 8,0 °C a vlhkosti 33,4 %.

#### 4.3 Zpracování materiálu

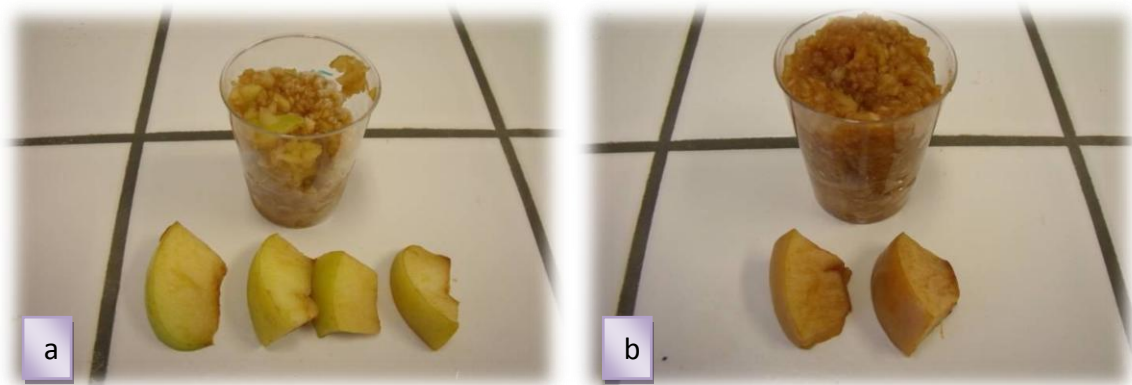
Před stanovením jednotlivých charakteristik bylo nutné upravit vzorky jablek do takové formy, která by vyhovovala požadovanému stanovení a současně aby daný parametr byl stabilní. Pro určení celkových parametrů (TAS, celkové polyfenoly a flavonoidy) byly vybrány reprezentativní vzorky celých jablek rozmělněny a převedeny do určitého množství methanolu ochlazeného na 6 °C a centrifugován (10 000 ot./min.). Pro stanovení kyseliny askorbové byla jablka rozmělněna ve třecí misce s mořským pískem a s 2% kyselinou metafosforečnou, poté byl roztok centrifugován (10 000 ot./min.). Individuální nízkomolekulární antioxidanty byly stanovovány podobně jako vitamín C, k okyselení však byla použita 2% ortofosforečná kyselina pro přímý nástřik na kolonu. Ke stanovení individuálních antioxidačních látek bylo také využito extrakčních technik (ethylacetát pro extrakci flavonoidů, směs acetonu a diethyleteru pro extrakci karotenoidů) s následným zkoncentrováním analytů pomocí vakuové rotační odparky.

Pro sušící proces byly plody jablek nakrájeny na 0,5 cm plátky zbavené jádřince a sušení bylo modelově provedeno ve dvou spotřebitelsky dostupných a široce využívaných zařízeních:

1. elektrická sušička Eta 030190000 Karina s regulovaným rozvodem teplého vzduchu pomocí zabudovaného ventilátoru vybavená sušícími rošty po dobu 6 hodin při teplotě 43 °C a 9 hodin při teplotě 61 °C,

- elektrická trouba se zajištěným odvodem páry, kde byla nastavena sušící teplota na cca 85 °C; proces byl několikrát přerušen, abychom mohli plátky jablek na plechu otočit a zajistit tak rovnoměrný odvod vody z ovoce.

Pro testování vlivu mražení na obsah aktivních látek jsme zamrazili celé plody, tak i zpracované na plátky jablek a plátky s impregnací a taktéž surovou dřeň a dřeň s přídavkem sacharózy. Při přípravě plátků byly plody jablek rozpůleny a každá část byla rozdělena přibližně na pět stejných plátků příčně přepůlených a z nich odstraněn jádřinec. K impregnaci plátků byl použit roztok: 37,9 % glukózy, 15,2 % sacharózy, 1,0 % kyseliny askorbové, 0,25 % chloridu vápenatého a 0,25 % chloridu sodného, který se nechal působit 30 minut [129,130]. Dřeň s přídavkem sacharózy byla vytvořena rozmixováním jablek zbavených jádřinců a přidáním 10 gramů sacharózy na 100 gramů dřene. Celé plody a plátky byly po opracování zabaleny do plastových uzavíratelných sáčků, dřene byly uloženy v uzavřených plastových kelímcích a ihned zamrazeny.



*Obrázek č. 18a,b:* Dřeň a plátky jablek odrůdy Golden Delicious vyjmuté z mrazicího boxu po 0,5 h (a) a po 5,5h (b) [131].

Zvláštní důraz na rychlé zpracování byl kladen při stanovení enzymů. Sledované antioxidační enzymy rychle reagovaly se vzdušným kyslíkem a přecházely do oxidované formy. Proto byla jablka rychle nastrouhána na plastovém struhadle, poté k nim byly přidány dva gramy polyvinylpyrolidonu a jeden mililitr Tritonu X-100. Takto připravená hmota byla zamrazena přidáním tekutého dusíku a rozmělněna na prášek pomocí vychlazeného tloučku v třecí misce. Na zmražení poloviny průměrně velkého jablka bylo spotřebováno asi 0,5 litru dusíku.

Pro stanovení lipidů a mastných kyselin byla oddělena zvlášť dužina a slupka jablek pomocí skalpelu. Poté takto upravený materiál byl několikrát extrahován a mechanicky oddělen. Z těchto extraktů poté bylo extrakční činidlo odstraněno pomocí vakuové rotační odparky a získán tak surový lipid.



Všechny čerstvě připravené výsledné preparáty byly ihned analyzovány a po celou dobu těchto analýz uchovávány v lednici.

#### 4.4 Metody stanovení

Před stanovením, jednotlivých analytů ve vzorcích jablek, byl nejdříve gravimetricky stanoven obsah sušiny. Nejprve byla vybrána a skalpelem oddělena část ovoce určená k danému stanovení. Po nakrájení na menší kousky bylo ovoce zváženo a sušeno při 60 °C po dobu čtyř hodin. Po usušení bylo ovoce vyjmuto, ochlazen v exikátoru na laboratorní teplotu a znovu zváženo.

##### 4.4.1 Stanovení povrchové mikroflóry

K určení počtu životaschopných zárodků bakterií a hub na povrchu jablek je možné použít komerční jednorázové testy Envirocheck® Contact TVC a Envirocheck® Contact YM(R). Lze si vybrat mezi otiskovou metodou a metodou ponoření vzorku (do definovaného objemu sterilní vody/pufry a následným ponořením diagnostického proužku s živným médiem). V naší studii byla využita otisková metoda, kdy se proužek s diagnostickou kultivační půdou s definovaným obsahem otiskl na povrch jablek. Po kultivaci mikrobů za definovaných podmínek výrobcem se podle předlohy (opět dodané výrobcem) odečetla hodnota kolonií tvořících jednotek v 1 cm<sup>2</sup>. Pro kultivaci mikroorganismů jsou k dispozici následující živné půdy:

- živný agar s 0,05 % trifenylnitroimidazoliumchloridu
- živný agar doporučený Am. Public Health Association pro testování potravin
- CASO agar s 0,05 % trifenylnitroimidazolium chloridu
- Bengálský chloramfenikolový agar

##### 4.4.2 Stanovení celkové antioxidační aktivity

ABTS je inkubován s enzymem peroxidázou a peroxidem vodíku tak, aby produkoval radikálový kation ABTS<sup>+</sup>, který má relativní stabilní modrozelenou barvu. Antioxidanty v přidávaném vzorku ihned při inkubaci ABTS s peroxidázou a peroxidem vodíku způsobují potlačení produkce barvy, která je úměrná jejich koncentraci.

##### *Postup:*

Celková antioxidační aktivita je měřena pomocí kitu TAS Randox dle doporučení výrobce. Do květy jsou pipetovány roztoky dle následujícího rozpisu:

Měřené vzorky/ použité roztoky	Slepý vzorek	Vzorek standardní l.	Vzorek jablek
Deionizovaná voda	10 µl	8 µl	8 µl
Standard TROLOX	-	2 µl	-
Vzorek jablek	-	-	2 µl
Chromogen	500 µl	500 µl	500 µl

Do kyvety je pipetován slepý vzorek podle rozpisu a změří se jeho absorpance ( $A_1$ ) proti vzduchu při 600 nm. Poté se do kyvety přidá 100  $\mu$ l substrátu a po třech minutách je měřena absorpance ( $A_2$ ). Stejně se postupuje při měření vzorků standardní látky (TROLOXU) a upravených vzorků jablek (kap. 4.3).

*Výpočet:*

Hodnota antioxidační aktivity je vypočítána podle následujících vzorců:

$$faktor = \frac{C_{s \text{ tan dardu}}}{(\Delta A_{blank} - \Delta A_{s \text{ tan dartního vzorku}})} \quad ABTS = faktor \cdot (\Delta A_{blank} - \Delta A_{vzorku \text{ jablek}})$$

$\Delta A$  se vypočítá jako  $A_2 - A_1$  daného vzorku. Výsledná hodnota antioxidační aktivity se udává v mmol/l a přepočítá se na mmol ve 100 g suchého podílu (sušiny).

#### 4.4.3 Stanovení celkových polyfenolů

Polyfenoly reagují s Folin–Ciocaltauovým činidlem a vytváří se modré zbarvení roztoku. Tato změna zbarvení je sledována fotometricky. Jako standard slouží kyselina galová o koncentraci 6 mol/l.

*Postup:*

Do zkumavky je pipetován 1 ml Folin-Ciocaltauova činidla. Přidá se 1 ml vody a 50  $\mu$ l vzorku (kap. 4.3). Obsah zkumavky je důkladně promíchán a ponechán 5 minut v klidu. Poté se přidá 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Obsah zkumavky je promíchán a ponechán 15 minut stát. U takto připraveného vzorku se měří absorpance proti slepému vzorku při 750 nm. Slepý vzorek je připraven stejně, pouze místo vzorku je do zkumavek pipetováno 50  $\mu$ l destilované vody. Pro kalibraci je použit roztok kyseliny galové o základní koncentraci 6 mol/l. Z výsledků je získána závislost absorpance na koncentraci kyseliny galové.

*Výpočet:*

Obsah polyfenolů ve vzorku je počítán z rovnice kalibrační křivky kyseliny galové. Koncentrace celkových polyfenolů je přepočítána na obsah polyfenolů v mg na 100 g suchého podílu.

#### 4.4.4 Stanovení celkových flavonoidů

Změnu zbarvení roztoků  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$  a  $\text{NaOH}$  vyvolává přítomnost flavonoidů. Tato změna zbarvení je sledována spektrofotometricky. Jako standard slouží katechin o koncentraci 1 mol/l.

#### *Postup:*

Do zkumavky je pipetováno 0,5 ml vzorku (kap. 4.3), 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku NaNO<sub>2</sub>. Obsah zkumavky je promíchán a ponechán 5 minut v klidu. Do zkumavky je pak přidáno 0,2 ml 10% roztoku AlCl<sub>3</sub>, promícháno a ponecháno 5 minut stát. Poté se přidá 1,5 ml roztoku NaOH o koncentraci 1 mol/l a 1 ml destilované vody. Obsah zkumavky se promíchá. Po 15 minutách se měří absorbance proti slepému vzorku při 510 nm. Slepý vzorek je připraven stejným způsobem, pouze místo vzorku bylo do zkumavky pipetováno 0,5 ml destilované vody. Pro kalibraci je použit základní roztok katechinu o koncentraci 1 mol/l. Z výsledků je získána závislost absorbance na koncentraci katechinu.

#### *Výpočet:*

Obsah flavonoidů ve vzorku byl počítán z rovnice kalibrační křivky katechinu. Koncentrace celkových flavonoidů je přepočítána na obsah flavonoidů v mg na 100 g suchého podílu (sušiny).

#### **4.4.5 Stanovení obsahu kyseliny askorbové**

Kyselina askorbová se titruje v prostředí kyseliny metafosforečné odměrným roztokem modrého 2,6-dichlorindofenolu. Prvním přebytkem odměrného roztoku se vzorek zbarví do lososově růžové barvy.

#### *Postup:*

25 ml standardu kyseliny askorbové se odváží do 25 ml odměrné baňky. Odměrná baňka se doplní 2% kyselinou metafosforečnou. Z tohoto roztoku je pipetován 1 ml do titrační baňky, přidáno 10 ml 2% kyseliny metafosforečné a titruje se odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu do slabě růžového zbarvení. Poté je stanoven obsah kyseliny askorbové ve vzorku (kap. 4.3).

Pro toto stanovení se jablka rozmělní ve třecí misce s mořským pískem a s 2% kyselinou metafosforečnou, poté je takto upravený materiál centrifugován (10 000 ot./min.) dokud se dostatečně neoddělí pevné složky od kapalných. Eluát obsahující kyselinu askorbovou ze vzorku jablek je titrován odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu do slabě růžového zbarvení (lososově růžová).

#### *Výpočet:*

Obsah vitamínu C ve vzorku se vypočítá přímou úměrou a přepočítá na mg ve 100 g suchého podílu (sušiny).

$$c_{vz.} = \frac{V_{titr.vz.} \cdot c_{st.}}{V_{titr.st.}}$$

#### 4.4.6 Stanovení individuálních antioxidačních látek pomocí HPLC

Analyzovaný vzorek se aplikuje na kolonu do proudu mobilní fáze, která ho kolonou unáší za současného zachycení jednotlivých složek vzorku sorbentem. Rozdělené složky dále putují do detektoru a záznamového zařízení, které jim přiřadí kvalitativní a kvantitativní hodnoty. Mírou zadržení (retence) složky a zároveň její kvalitativní charakteristikou je její retenční čas  $t_R$ , podle kterého ji lze srovnáním s retenčními časy standardů identifikovat.

##### *Postup:*

Pro stanovení katechinů se používá izokratická eluce mobilní fází methanol:voda v poměru 45:55, pro analýzu flavonoidů izokratická eluce mobilní fází metanol:acetonitril:voda v poměru 20:30:50, pro analýzu kyseliny askorbové izokratická eluce mobilní fází 0,05 M octan sodný:acetonitril v poměru 95:5 a pro analýzu karotenoidů izokratická eluce mobilní fází methanol. Vzorek připravený dle kapitoly č. 4.3 (10 či 20  $\mu\text{l}$ ) se nastříkne na kolonu (C18 Eclipse XDB 5  $\mu\text{m}$ , 4,6 x 150 mm – pro stanovení flavonoidů a karotenoidů; Zorbax NH<sub>2</sub> 5 $\mu\text{m}$ , 4,6 x 150 mm – pro stanovení askorbové kyseliny) vyhřívané na 30 °C (45 °C karotenoidy) v termostatu a nechá se unášet mobilní fází do analyzátoru, kde jsou jednotlivé složky detekovány na UV/VIS detektoru při vlnových délkách 254 nm, 280 nm, 370 nm, 450 nm, případně analyzovány pomocí HPLC/PDA/MS.

##### *Výpočet:*

Z výsledného chromatogramu jsou zjištěny plochy a retenční časy píků a ty se porovnají s kalibračními křivkami analyzovaných látek. Výsledky obsahu látek stanovených pomocí HPLC jsou uváděny v mg ( $\mu\text{g}$ ) na 100 g suchého podílu (sušiny).

#### 4.4.7 Stanovení individuálních flavonoidů pomocí LC/MS

Vzorky analyzujeme pomocí systému s dvojitou detekcí HPLC/UV-VIS/MS. Podmínky analýzy: gradientová eluce; průtok mobilní fáze 0,5 ml/min; kolona pro HPLC s reverzní fází (C18, Restek), teplota kolony 25 °C; detekce PDA, záznam spekter MS<sup>1</sup> a MS<sup>2</sup>. Vzorky jablek byly upraveny podle kapitoly 4.3. Pro měření byly použity mobilní fáze:

- mobilní fáze s izokratickou elucí
  - 1% kys. octová:methanol (55:45)
  - 1% kys. octová:methanol:acetonitril (50:30:20)
- mobilní fáze s gradientovou elucí - podle následujícího rozpisu:
  - 1. až 3. minuta analýzy gradient  $\Rightarrow$  kys. octová (60 až 57 %):acetonitril (40 až 43 %)

- 3. až 23. minuta analýzy gradient  $\Rightarrow$  kys. octová (57 až 55 %):acetonitril (43 až 5 %)
- 23. až 33. minuta analýzy gradient  $\Rightarrow$  kys. octová (55 až 45 %):acetonitril (45 až 55 %)
- 33. až 53. minuta analýzy  $\Rightarrow$  kys. octová (45 %):acetonitril (55 %)

Hmotnostní analyzátor byl naladěn na epikatechin. Příslušný ion ( $m/z = 291$ ) byl zjištěn v kladném módu. Ladící metoda byla nastavena následovně - množství sušícího plynu 40 arb; napětí na kapiláře ESI 5 kV; teplota na vstupní kapiláře 250 °C; napětí na vstupní kapiláře 40 V.

#### 4.4.8 Stanovení aktivity antioxidačních enzymů

##### 4.4.8.1 Superoxiddismutáza

Xanthinoxidáza generuje z xanthinu superoxidový radikál, který reaguje s 2-(4-jodofenyl)-3-(4-nitrofenol)-5-fenyltetrazolium chloridem za vzniku červeně zbarveného roztoku formazanu. SOD vychytává vzniklé superoxidové radikály a brání tak tvorbě červeného komplexu.

##### Postup:

Ke stanovení aktivity superoxiddismutasy v celých plodech jablek byl využit kit Ransod od firmy Randox. Tato souprava se používá na stanovení SOD ve vzorcích krve při teplotě 37 °C. Z opakovaných pokusů bylo zjištěno, že se tento kit dá použít i při laboratorní teplotě a na stanovení SOD ve vzorku jablek. Nejprve je připraven roztok rozpuštěním cca 0,1 g pod dusíkem zmraženého jablka v 10 ml fosfátového pufru. Jelikož vzorek může obsahovat i nerozpustné části jablka, musí být předem centrifugován 10 minut při 10 000 ot./min. Z takto připraveného vzorku je pipetováno 50  $\mu$ l do kyvety s 1,7 ml substrátu [směs xanthinu a 2-(4-iodofenyl)-3-(4-nitrofenol)-5-fenyltetrazolium chloridu]. Obsah kyvety se dobře promíchá a nakonec se přidá 250  $\mu$ l xanthinoxidázy a změří se absorbance roztoku při vlnové délce 505 nm proti vzduchu po 30 sekundách ( $A_1$ ) a pak po třech minutách ( $A_2$ ) od přidavku enzymu. Obdobně se postupuje i v případě měření absorbance korekce na přítomnost rozpouštědla ( $S_1$ ), pouze místo vzorku jablek bylo do kyvety pipetováno 50  $\mu$ l rozpouštědla Ransod.

##### Výpočet:

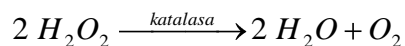
Nejprve jsou vypočtena procenta inhibice příslušející danému roztoku dle vzorce:

$$\Delta A_{\text{vzorku} / \text{min}} = \frac{A_2 - A_1}{3} \quad \Delta A_{S_1 / \text{min}} = \frac{A_2 - A_1}{3} \quad \% \text{ inhibice} = 100 - \frac{\Delta A_{\text{vzorku} / \text{min}} \cdot 100}{\Delta A_{S_1 / \text{min}}}$$

50% inhibice odpovídá jedné mezinárodní jednotce SOD. Přímou úměrou se vypočítá aktivita SOD v mezinárodních jednotkách i v katalách v cca 0,1 g dusíkem mraženého jablka. Tato hodnota je přepočítána na aktivitu v  $\mu$ katalách ve 100 g sušiny jablek.

#### 4.4.8.2 Kataláza

Kataláza mění peroxid vodíku na vodu a kyslík podle následující reakce:



U stanovení aktivity enzymu katalázy je měřen úbytek peroxidu vodíku v roztoku o známé koncentraci v závislosti na čase.

##### *Postup:*

Nejprve smícháme asi 1 g dusíkem zmraženého jablka s 10 ml fosfátového pufru. Vzorek je centrifugován 10 minut při 10 000 ot./min. Z takto připraveného roztoku vzorku je odebráno do kyvety 0,1 ml. Objem je následně doplněn fosfátovým pufrem nebo roztokem peroxidu na 3 ml a je měřena absorbance po 1,5 minutě od přidavku enzymu na spektrofotometru při vlnové délce 240 nm proti fosfátovému pufru.

##### *Výpočet:*

Z hodnoty absorbance je vypočtena konečná koncentrace peroxidu po působení enzymu (Lambert-Beerův zákon). Z rozdílu počáteční a konečné koncentrace peroxidu je pak vypočteno látkové množství přeměněného substrátu, z kterého byla zjištěna aktivita enzymu v připraveném roztoku. Přímou úměrou je vypočtena aktivita v  $\mu$ katalách ve 100 g sušiny jablek.

#### 4.4.8.3 Polyfenoloxidáza

Roztok methylkatecholu reaguje s kyslíkem a PPO za vzniku oranžového roztoku benzochinonu, který se následně pomalou reakcí s vodou mění na hnědý melanin. Změna koncentrace methylkatecholu je měřena pomocí spektrofotometru.

##### *Postup:*

K 1 ml vzorku jsou pipetovány 2 ml methylkatecholu a měří se absorbance roztoku při vlnové délce 400 nm proti fosfátovému pufru po 30 sekundách (A1) a po 2,5 minutách (A2) od přidání enzymu (vzorku).

##### *Výpočet:*

K výpočtu se používá Lambert-Beerův zákon. Je vypočítán rozdíl absorbance vzorku po 30 sekundách a po 2,5 minutách působení enzymu a od této hodnoty je odečten rozdíl absorbance methylkatecholu, jehož rozklad je způsoben vzdušným kyslíkem. Ze získané hodnoty je vypočtena, pomocí molárního absorpčního koeficientu, koncentrace a následně látkové množství úbytku methylkatecholu. Z této hodnoty je vyjádřena aktivita enzymu v mezinárodních jednotkách a v  $\mu$ katalách ve 100 g sušiny jablek.

#### 4.4.9 Stanovení lipidů a mastných kyselin

Lipidy z rostlinných materiálů lze po vhodné úpravě materiálu a extrakci separovat pomocí chromatografických technik. V předložené práci byly využity zejména dvě chromatografické techniky – tenkovrstvá chromatografie a plynová chromatografie.

##### *Postup:*

Vzorek ovoce je homogenizován ve třecí misce a poté dvakrát extrahován po dobu 30 minut 20 ml hexanu. Získané extrakty jsou spojeny a k nim byla přidána destilovaná voda (1,2násobek objemu extraktu) a celý objem se protřepává 1 minutu. Poté následuje odstředění (10 min., 3 000 ot./min) a po vytvoření rozhraní se pomocí vývěvy odstraní vrstva obsahující vodu, příp. směs vody a metanolu. Zbývající chloroformová či hexanová vrstva je přefiltrována přes bezvodý síran sodný a odpařena pomocí vakuové rotační odparky na suchý lipid. Takto připravený vzorek se převede na methylestery mastných kyselin.

Při použití tenkovrstvé chromatografie pro separaci jednotlivých skupin lipidů se odpovídající množství suchého vyextrahovaného lipidu (150 až 200 ug) čárově nanese na stacionární fázi a v uzavřené nádobě se ve vertikální poloze podrobí separaci mobilní fází (hexan:diethyleter smíchané v poměru 80:20) na jednotlivé frakce. Tyto jednotlivé frakce (někdy i soubor frakcí, které se překrývaly) pak byly postupně odseparovány (vyškrabány z plotny) a převedeny na methylestery mastných kyselin. Na přípravu methylesterů MK byl použit postup dle Christophersona a Glasse (Christoperson a Glass, 1969) popsany níže.

Na přípravu methylesterů MK se používá postup dle Christophersona a Glasse [132]. K 1 ml roztoku 10 mg (příp. 20 až 30 mg) lipidu v heptanu se přidá 0,1 ml 1M methanolátu sodného v benzenu, vnitřní standard C 17:0 a po 20 minutách se přidá roztok methanolké HCl do odbarvení roztoku (cca 0,3 ml). Poté se odebere horní vrstva methylesterů mastných kyselin a analyzuje se.

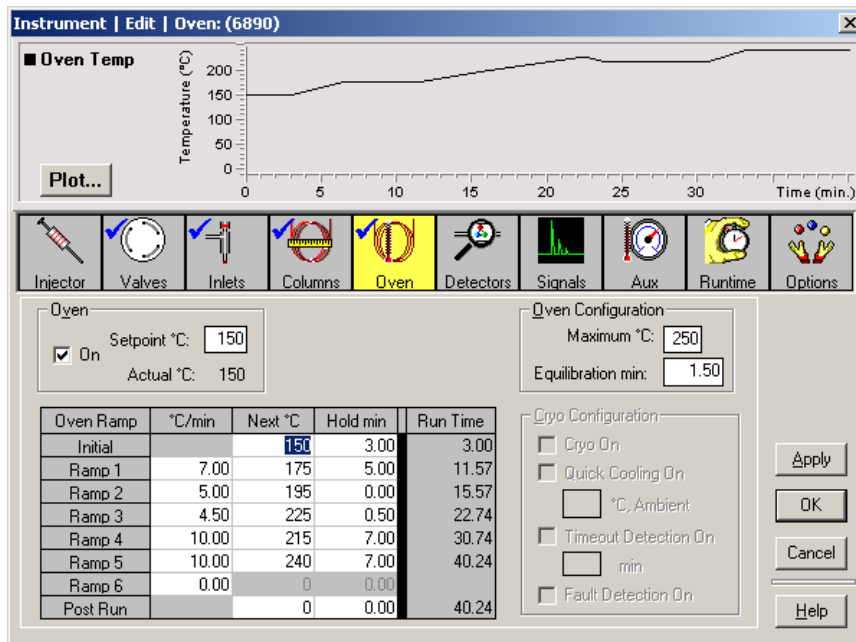
##### *Vyhodnocení:*

Pomocí plynového chromatografu s FID či MS detekcí.

Nastavení podmínek separace [133,134]:

- plynový chromatograf GC 6890N Apparatus (Agilent Technologies)
- kolona DB23 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$
- nosný plyn vodík s konstantním průtokem 2,7 ml.min<sup>-1</sup>
- teplota injektoru 230 °C
- splitovací poměr 10:1
- doba stanovení 40,24 minut
- objem vzorku 1  $\mu\text{l}$
- splitovací poměr 10:1
- teplotní program: 150 °C po dobu 3 minut, vzestup na 175 °C (7 °C/min), konst. teplota 175 °C po dobu 5 minut, vzestup na 195 °C (5 °C/min), vzestup na 225 °C

(4,5 °C/min), konst. teplota 225 °C po dobu 30 sekund, pokles na 215 °C (10 °C/min), konst. teplota 215 °C po dobu 7 minut, vzestup na 240 °C (10 °C/min), konst. teplota 240 °C po dobu 7 minut.



Obrázek č. 19: Teplotní gradient GC

## 4.5 Statistické zpracování výsledků

Výsledky opakovaných měření jsou v důsledku nahodilých chyb rozmístěny v okolí nejpravděpodobnější střední hodnoty. Odhadem této střední hodnoty je aritmetický průměr  $\bar{x}$ , kde  $n$  je počet analýz a  $x_i$  (pro  $i = 1, 2, 3...n$ ) jsou jednotlivé naměřené hodnoty. Rozptýlení jednotlivých hodnot  $x_i$  okolo průměru  $\bar{x}$  je charakterizováno hodnotou směrodatné odchylky,

$$s_x = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

kde  $\nu$  je počet stupňů volnosti (zde  $\nu = n-1$ ). Odhad hodnoty  $s_x$  se může počítat pomocí rozpětí  $R$ , které je definováno jako rozdíl mezi nejmenší a největší hodnotou kvalitativního znaku. Pro výpočet  $s_x$  analyzuje  $m$  vzorků podobného složení, přičemž každý vzorek se analyzuje  $n_A$ -krát, přičemž obsahy stanovované složky v těchto vzorcích mají být rozloženy v celém rozsahu  $x_{\min}$  až  $x_{\max}$ . Pro směrodatnou odchylku, je-li nezávislá na obsahu, platí

$$s_x = \frac{R}{d_2}$$



kde  $x_{ji}$  je  $i$ -té stanovení  $j$ -tého vzorku,  $x_j$  je průměr stanovení.

Provádí-li se dvě paralelní stanovení na  $m$  vzorcích, je směrodatná odchylka vyjádřena:

$$\frac{R}{\sqrt{2}}$$

kde  $R_j = |x_{j1} - x_{j2}|$  je rozpětí, tj. rozdíl obou paralelních stanovení, provedených na  $j$ -tém vzorku. Pro odhad  $s_x$  pomocí rozpětí  $R$  však musí být k dispozici tolik hodnot, aby  $v = 1/2n_A \geq 10$ .

#### 4.5.1 Test regresní rovnicí

Pomocí tohoto testu se zjišťuje, zda je výše prokázaná soustavná chyba konstantní, nebo proporcionální, tj. závislá na obsahu analytu. Pro několik standardních vzorků s referenční hodnotou  $x_i$  se určí velikost hodnot  $y_i$  a jejich závislost se vyjádří formou lineární regrese mezi  $m$  nalezenými hodnotami  $y_i$  a referenčními hodnotami  $x_i$

Pokud budou obě metody (resp. nalezená a referenční hodnota) poskytovat stejné výsledky, bude závislost  $y_i$  na  $x_i$  lineární s nulovým úsekem  $a = 0$  a jednotkovou směrnici  $b = 1$ . Je-li hodnota  $a$  nenulová, jedná se o chybu konstantní, je-li hodnota  $b$  odlišná od 1, jedná se o soustavnou chybu.

#### 4.5.2 Porovnání s referenčním materiálem

Podmínkou pro použití tohoto srovnání k určení přesnosti metody je dostupnost referenčního materiálu s deklarovanou koncentrací ( $x_{ref}$ ) a deklarovanou shodností danou směrodatnou odchylkou ( $s_{ref}$ ).

Při tomto postupu vyhodnocení musí být dodržena následující kritéria:

- I. opakovaně se analyzuje referenční materiál v počtu opakování 6 až 10
- II. vypočte se směrodatná odchylka ( $s$ ) a průměrná hodnota ( )

vypočtené hodnoty se porovnají deklaroványými hodnotami, přičemž pro statistické vyhodnocení se používá interval spolehlivosti. Pokud platí nerovnost:

, je správnost metody pro danou matici a koncentrační úroveň prokázána.

K validaci správnosti metody je třeba použít tolik referenčních materiálů, aby se pokryl celý koncentrační rozsah a všechny matrice, na které se metoda používá [135].

### 4.5.3 ANOVA – analýza rozptylu

ANOVA je technika umožňující posouzení jednotlivých zdrojů variability v datech. U opakovaných měření existují vždycky nějaké odchylky. Tyto náhodné odchylky mohou způsobit, že se obtížně zjišťuje významnost rozdílu mezi skupinami replikátu (paralelních měření). Základní myšlenkou analýzy rozptylu je v tomto případě, zda a jak může být v sadě výsledků paralelních stanovení statisticky rozpoznáno rozdělení do skupin (např. podle analytika, laboratoře, postupu atd.) Celkový rozptyl celé sady dat je dán kombinací rozptylu mezi skupinami a uvnitř skupin. ANOVA umožňuje separovat jednotlivé zdroje rozptylu a dílčí rozptyly vzájemně porovnat za účelem určení, zda jsou rozdíly mezi nimi (statisticky) významné. Nebo jinak, ANOVA nám umožňuje odpovědět na otázku, zda jednotlivé skupiny reprezentují výběry z jednoho základního souboru (tedy z téže populace) [136].

Existuje řada metod analýzy rozptylu. Nejjednodušší z nich je tzv. jednofaktorová ANOVA (jednostupňová ANOVA, ANOVA s jednoduchým tříděním) anglicky označovaná jako one-way ANOVA. Použije se tehdy, jestliže přichází v úvahu pouze jeden faktor (který nabývá tří nebo více úrovní) a pro každou úroveň máme skupinu paralelních stanovení. Dvoufaktorová analýza rozptylu (dvoustupňová ANOVA, ANOVA s dvojitým tříděním) anglicky označovaná jako two-way ANOVA se použije např. tehdy, jestliže výše uvedený příklad rozšíříme o druhý faktor, kterým bude např. koncentrace (tedy každý analytik provede  $n$  paralelních stanovení na každém z  $k$  vzorků, přičemž vzorky mají různé koncentrace analytu. Pro ještě složitější situace existují rovněž postupy pro multifaktorovou ANOVA (MANOVA) [136].

## 5 Výsledky a diskuze

### 5.1 Dlouhodobé uchovávání jablek v normální a modifikované atmosféře

Pro dlouhodobé uchovávání jablek v modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku (FAN) a normální atmosféře bylo vybráno pět odrůd jablek (Jonagored, Idared, Šampion, Granny Smith a referenční odrůda Golden Delicious). Skladování probíhalo ve dvou skladovacích obdobích 2007/2008 a 2008/2009, ve kterých byly vzorky ve dvou měsíčních intervalech (u testů v období 2007/2008 byly vzorky odebrány po dvou a šesti měsících skladování) analyzovány pro zjištění změn zastoupení aktivních látek, antioxidační kapacity, mikrobiální kontaminace a pro studium změn mastných kyselin v povrchových strukturách. V průběhu celého skladování ve FAN i RA se množství vody, resp. sušiny jablek výrazně neměnilo ( $14 \pm 0,3$  % sušiny v závislosti na typu odrůdy). Veškeré následující výsledky jsou vztaženy na 100 g sušiny jablek.

#### 5.1.1 Senzorická analýza dlouhodobě skladovaných jablek

V období 2007 až 2008 byla uskladněna a testována jablka odrůd Jonagored, Golden Delicious a Idared. Skupina 21 respondentů byla rozdělena do dvou věkově odlišných skupin:

- senioři: celkem 13, věk  $68,50 \pm 7,16$  (10 žen/3 muži)
- junioři: celkem 8, věk  $27,13 \pm 3,63$ ; (6 žen/2 muži)

Jablka byla hodnocena na začátku uskladnění, po 2 a po 6 měsících skladování, a to vizuálně (barva, slupka - ztráta vody, přítomnost povrchových vad...) a sensoricky (chuť - sladká, kyselá, celková; aroma – plné, nevýrazné...; textura) s ohledem na spotřebitelskou přijatelnost.

- Jablka odrůdy Jonagored před uskladněním byla chuťově vyzrálá, sladká s vyváženou kyselou chutí. Slupka byla zbarvena červenožlutě. Ve čtvrtém měsíci skladování byla jablka z normální atmosféry (RA) velmi sladká, naopak kyselá chuť výrazně poklesla. Jablka měla zvrásněnou slupku a byla více probarvena do červena. U plodů uchovávaných v modifikované atmosféře (FAN) byly tyto změny méně intenzivní. Slupka byla téměř bez zvrásnění a s větší plochou žlutého zbarvení. Chuťově také více atraktivní než plody z RA. V šestém měsíci uchovávání v RA byla jablka vzhledově neatraktivní, slupka byla silně zvrásněna se žlutým žilkováním a místy počínající houbové infekce. Dužina plodů měla kašovitou konzistenci. Chuťově byly plody velmi nedobré s absencí kyselé chuti. Jablka z FAN měla také zvrásněnou slupku, avšak ne v takové míře jako plody z RA. Plody byly taktéž nevalné chuti, avšak dužina byla více kompaktní, než u plodů z RA.

- Jablka odrůdy Golden Delicious se v průběhu skladování zbarvovala ze sytě zelené do červeno žluté barvy. V průběhu prvních dvou měsíců byla jablka mírně kyselé chuti, s tmavším zabarvením slupky. V šestém měsíci skladování byla na plodech z RA zaznamenána hniloba a taktéž hnilobná pachutí i u nenapadených plodů, avšak ne tak výrazně jako u odrůdy Šampion. Jablka z FAN vykazovala mírné zvrásnění slupky a chuť povadlých jablek.
- Jablka odrůdy Idared byla od začátku skladování konzumačně nezralá, velmi kyselá a škrobovitá a jen s mírnou intenzitou sladké chuti, barevně bledě žluto červená. Ve druhém měsíci skladování měla jablka uchovávaná v RA sladší chuť než na začátku skladování, škrobovitá chuť byla výrazně menší, kyselá však nadále intenzivní. Vybarvení slupky se téměř nezměnilo. Jablka z FAN byla více podobná plodům ještě před uskladněním. Chuťově nezralá, málo sladká, silně kyselá a škrobovitá. V šestém měsíci skladování v RA byla jablka vizuálně stále atraktivní, slupka bez známek zvrásnění. Sladká chuť byla více výrazná než ve druhém měsíci, avšak ne přeslazená a s kyselou chutí téměř vyvážená. Jablka však byla poněkud prázdné chuti s náznaky hořkých pachutí. Jablka skladovaná ve FAN byla sensoricky vyzrálá. Sladká chuť byla mírně výrazná, kyselá více, avšak bez náznaků hořkosti. Slupka i dužina byla velmi kompaktní a křupavá.

V období 2008 až 2009 byly pro testování vybrány odrůdy jablek – Šampion, Granny Smith a referenční odrůda Golden Delicious. Skupina 16 respondentů byla rozdělena do dvou věkově odlišných skupin:

- senioři: celkem 3, věk  $52,44 \pm 2,28$  (3 ženy/0 muži)
- junioři: celkem 13, věk  $23,05 \pm 3,71$ ; (9 žen/4 muži)

Jablka byla hodnocena na začátku uskladnění, po 2, 4 a po 6 měsících skladování, a to vizuálně (barva, slupka - ztráta vody, přítomnost povrchových vad...) a sensoricky (chuť - sladká, kyselá, celková; aroma – plné, nevýrazné...; textura) s ohledem na spotřebitelskou přijatelnost.

- Jablka odrůdy Šampion byla již před uskladněním velmi atraktivní, chuťově výrazná a sladká s plným vybarvením slupky. Ve čtvrtém měsíci skladování v RA byla velmi zvrásněná a některá se známkami hniloby. Jablka z FAN vykazovala jemné zvrásnění slupky. V šestém měsíci skladování byla jablka z RA výrazněji nahnilá, chuťově velmi nedobrá-spíše nejedlá, s hnilobnou pachutí. Jablka z FAN měla velmi zvrásněnou slupku, byla seschlá a chuťově taktéž nedobrá.

- Jablka odrůdy Golden Delicious měla stejně jako v předchozím testovacím období velmi podobné sensorické vlastnosti. Ve čtvrtém měsíci skladování byla jablka po vizuální a chuťové stránce velmi dobrá z obou atmosfér, jablka z RA byla více vyzrálá a sladší.
- Jablka odrůdy Granny Smith byla na počátku skladování a ve druhém měsíci skladování v obou atmosférách ve velmi dobré kondici bez hnilobných procesů, zvrásnění slupky, sytě zelená. Chuťově dosti škrobová. V jablcích z FAN byla škrobová chuť více výrazná. V šestém měsíci skladování byla kvalita plodů z obou atmosfér skoro nezměněna. Jablka byla bez otlaků a zvrásnění slupky. Chuťově velmi dobrá, bez škrobové chuti. Plody z RA byla více sladká než z FAN.

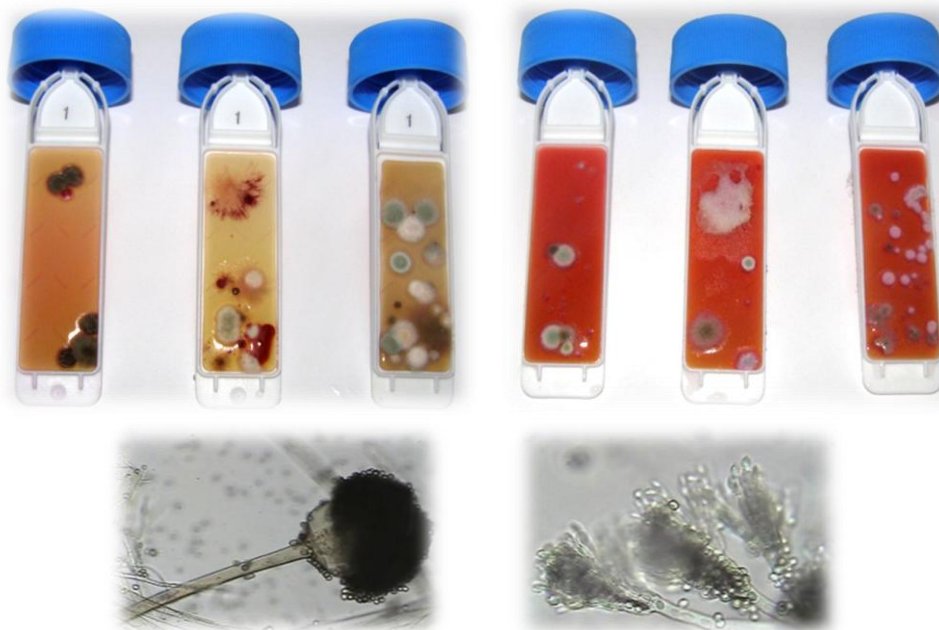
### 5.1.2 Mikrobiální zatížení dlouhodobě skladovaných jablek

Kontaminace jablek patogeny, narušení povrchových vrstev a složení mikroflóry ve skladovacích prostorách má velký vliv na životaschopnost plodů. Ve spolupráci s ÚSFCH FCH VUT v Brně bylo pořízeno pomocí světelného mikroskopu s horním osvětlením několik obrázků povrchových ruptur slupek. Tyto defekty, které jsou okem nezjistitelné, představují možnou bránu vstupu patogenů dovnitř plodů.



*Obrázek č. 20:* Snímky ze světelného mikroskopu zachycující povrch slupky jablka odrůdy Idared (zvětšení 10x; 20x; 40x)

Pro stanovení mikrobiálního zatížení jablek jsme využili kontaktních disků od firmy Merck, Envirocheck TVC – pro celkové stanovení počtu zárodků mikrobů na povrchu slupky a Envirocheck YM® pro stanovení počtu zárodků hub. Stanovení probíhalo před uskladněním jablek, ve čtvrtém měsíci a na konci skladovacího procesu u plodů uchovávaných v normální i modifikované atmosféře. Postup stanovení je uveden v kapitole 4.4.1. Míra kontaminace je vyjádřena jako množství jednotek tvořící kolonie na přesně definovaném objemu plochy (cfu/cm<sup>2</sup>).



*Obrázek č. 21:* Ukázka povrchové mikroflóry jablek odrůdy Jonagored inkubované na kontaktních discích Envirocheck (Merck) TVC a YM®; mikroskopie hub disků YM® jablek odrůdy Jonagored (světelný mikroskop)

## ŠAMPION

Celkový počet zárodků bakterií na povrchu jablek odrůdy Šampion se při porovnání jablek uskladněných v RA a FAN příliš nelišil v průběhu celého skladování. Ve čtvrtém měsíci byl zaznamenán úbytek zárodků oproti měření, které proběhlo před uskladněním plodů. V šestém měsíci pak byly zaznamenány vyšší hodnoty. Na povrchu jablek umístěných v RA po dobu šesti měsíců bylo nalezeno 3,5 cfu bakterií v 1 cm<sup>2</sup> (b. chloramfenikolový agar). Jablka skladovaná ve FAN obsahovala až 10,25 cfu bakterií v 1 cm<sup>2</sup> (tabulka č. 1).

Při testování houbové kontaminace jablek odrůdy Šampion jsme získali velmi podobné výsledky jako pro bakteriální kontaminaci - při porovnání jablek uskladněných v RA a FAN se množství zárodků hub v průběhu celého skladování příliš nelišilo. Před uskladněním jablek bylo množství zárodků velmi nízké, v šestém měsíci pak byl zaznamenán nárůst hodnot (tabulka č. 2).

Tabulka č. 1: Celkový obsah zárodků bakterií zjištěných na slupce jablek odrůdy Šampion

Doba skladování		Před skladováním		4. měsíc		6. měsíc	
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridu	1,75	10,25	0	0	3,5	3,5
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	3,5	0	0	0	0
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridu	1,75	3,5	0	3,5	3,5	17
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	0		3,5		3,5	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridu	1,75	10,25	0	0	3,5	3,5
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	3,5	0	0	3,5	3,5
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridu	1,75	3,5	0	3,5	10,25	10,25
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	0		0		10,25	

Tabulka č. 2: Celkový obsah zárodků hub zjištěných na slupce jablek odrůdy Šampion

Doba skladování		Před skladováním		4. měsíc		6. měsíc	
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	1,45
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0	2,3	2,3	6
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0,6	0,3	3,3
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	4,15		2,3		6	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	4,15
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0,6	6	2,3	4,15
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	2,3	0	4,15
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	4,15		6		4,15	

## GOLDEN DELICIOUS

Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala na počátku a ve čtvrtém měsíci skladování velmi podobná množství zárodků bakterií. V šestém měsíci pak byly naměřeny vyšší hodnoty. Mírně vyšší bakteriální zatížení bylo nalezeno u jablek skladovaných v modifikované atmosféře (tabulka č. 3).

Ve čtvrtém měsíci skladování jablek odrůdy Golden Delicious došlo ke snížení houbové kontaminace (b. chloramfenikolový agar) z 6 na 0,6 cfu/cm<sup>2</sup>. V průběhu dalších dvou měsíců došlo k opětovnému zvýšení na 2,3 cfu/cm<sup>2</sup>. Avšak i na ostatních diagnostických půdách byla zjištěna vyšší kontaminace, než v předchozích obdobích. Rozdíly mezi mírou kontaminace a druhem skladování nebyly nalezeny (tabulka č. 4).

*Tabulka č. 3:* Celkový obsah zárodků bakterií zjištěných na slupce jablek odrůdy Golden Delicious

Doba skladování		Před skladováním		4. měsíc		6. měsíc	
		24h	48h	24h	48h	24h	48h
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>						
	živný agar s 0,05% trifenyltetrazoliumchloridem	0	0	0	0	0	0
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	4	0	0	1,75	1,75
	CASO agar s 0,05% trifenyltetrazoliumchloridem	0	10,25	0	3,5	3,5	3,5
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	0		3,5		10,25	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>						
	živný agar s 0,05% trifenyltetrazoliumchloridem	0	0	0	0	3,5	3,5
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	4	0	0	1,75	1,75
	CASO agar s 0,05% trifenyltetrazoliumchloridem	0	10,25	3,5	17	10,25	10,25
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	0		3,5		17	



Tabulka č. 4: Celkový obsah zárodků hub zjištěných na slupce jablek odrůdy Golden Delicious

Doba skladování		Před skladováním		4. měsíc		6. měsíc	
		24h	48h	24h	48h	24h	48h
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>						
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	2,3
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0	0,6	1,45	2,3
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	1,45
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	6		0,6		2,3	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>						
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	2,3
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0,6	2,3	1,45	2,3
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0,6	0	1,15
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	6		0,6		2,3	

## GRANNY SMITH

Na povrchu jablek odrůdy Granny Smith, stejně jako u ostatních odrůd, byl na počátku skladování nalezen jen nízký počet zárodků bakterií. V průběhu skladování se jejich počet mírně navyšoval v obou skladovacích prostředích. Nepatrně vyšší hodnoty byly naměřeny u jablek skladovaných v modifikované atmosféře (tabulka č. 5).

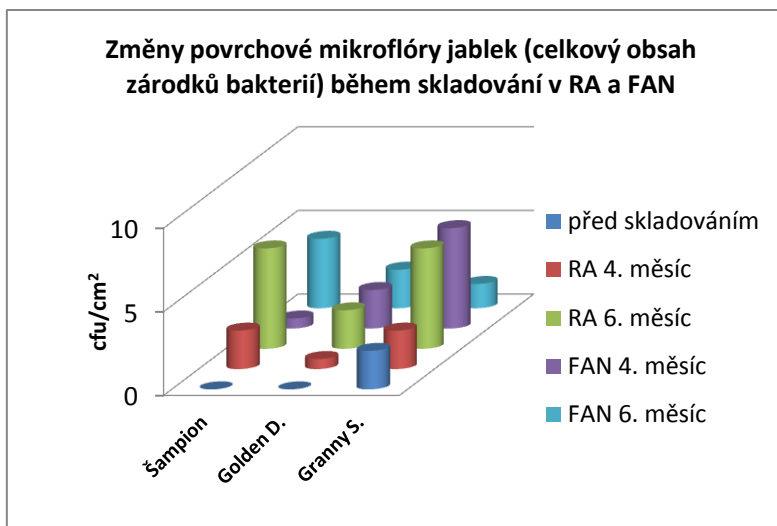
Množství houbových zárodků zjištěných pomocí B. chloramfenikolového agaru se v průběhu skladování jablek v RA nezměnil, na rozdíl od jablek skladovaných ve FAN. Jak vyplývá z hodnot uvedených v tabulce č. 6, vyšší houbová kontaminace povrchu byla zjištěna pomocí většiny diagnostických půd u plodů uskladněných v normální atmosféře (tabulka č. 6).

Tabulka č. 5: Celkový obsah zárodků bakterií zjištěných na slupce jablek odrůdy Granny Smith

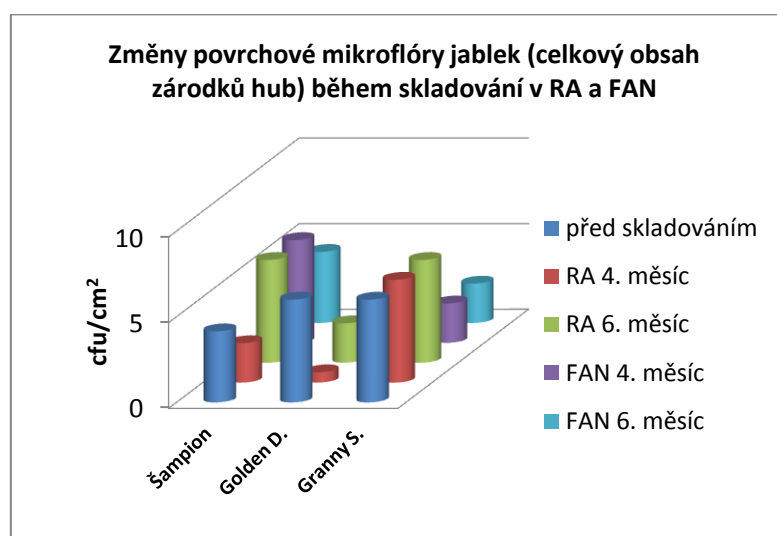
Doba skladování		Před skladováním		2. měsíc		4. měsíc	
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	1,75	3,5
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0	0	1,75	1,75
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	3,5	3,5	17	1,75	10,25
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	3,5		3,5		3,5	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	3,5	17	1,75	3,5
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	0	0	0	0	1,75
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	3,5	0	3,5	3,5	10,25
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	3,5		17		17	

Tabulka č. 6: Celkový obsah zárodků hub zjištěných na slupce jablek odrůdy Granny Smith

Doba skladování		Před skladováním		2. měsíc		4. měsíc	
Normální atmosféra	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>		
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	0,3
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	2,3	0	2,3	2,3	6
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	1,45
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	6		6		6	
Modifikovaná atm.	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>	<b>24h</b>	<b>48h</b>
	živný agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0	0	0,3
	živný agar doporučený Am. Public Health As. pro testování potravin	0	2,3	2,3	6	1,45	1,45
	CASO agar s 0,05% trifenylnitroimidazoliumchloridem	0	0	0	0,6	0	2,3
	<b>Doba kultivace/CFU.cm<sup>-2</sup></b>	<b>168h</b>		<b>168h</b>		<b>168h</b>	
	Bengálský chloramfenikolový agar	6		2,3		2,3	



Obrázek č. 22: Množství bakteriálních zárodků na slupce jablek

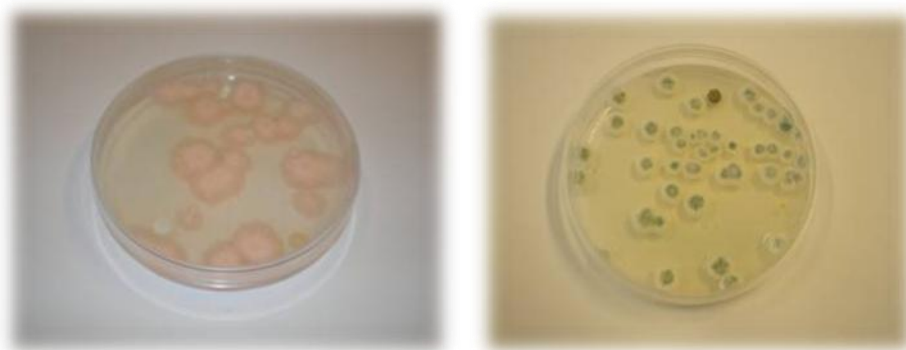


Obrázek č. 23: Množství houbových zárodků na slupce jablek

### 5.1.3 Umělá infekce jablek po dlouhodobém skladování

Abychom zjistili, jak jsou jablka po dlouhodobém skladování (6 měsíců) v rozdílných podmínkách odolná vůči infekci, byla provedena umělá infekce vpichem pod slupku plodu a to dvěma různými druhy patogenů. Prvním z nich byla houba *Gloeosporium album*, získaná z MZLU Lednice, jako příklad běžného skládkového patogena, způsobujícího až 30% ztráty [41,45,46]. Druhým patogenem byla houba rodu *Penicillium* izolovaná z místa přirozené infekce jablek dovezených ze skladu. Peniciliové houby, zejména *Penicillium expansum*, způsobují taktéž velké škody na ovoci. Modrá hniloba (*Penicillium expansum*) postihuje všechny odrůdy jablek pěstovaných ve všech částech světa a je jednou z nejdestruktivnějších chorob. Pro tento test jsme vybrali neporušená jablka odrůd Jonagored, Golden Delicious a Idared po šesti měsících skladování v normální a v modifikované atmosféře. Po infikování

byla jablka umístěna do lednice o teplotě 8 °C a v pravidelných intervalech byl měřen poloměr místa (cm) kruhově se šířící infekce.



Obrázek č. 24: Zásobní Petriho misky s *Gloeosporium album* a *Penicillium*

Tabulka č. 7: Umělá infekce jablek houbou *Gloeosporium album* po dobu osmi týdnů

Čas od počátku infekce		1 týden	3 týdny	5 týdnů	8 týdnů
Normální atmosféra	<b>Odrůda/místo napadení</b>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>
	Jonagored	0,34 ± 0,05	0,61 ± 0,08	2,21 ± 0,22	-
	Golden Delicious	0,21 ± 0,04	0,42 ± 0,02	2,44 ± 0,46	-
	Idared	0,34 ± 0,04	0,52 ± 0,03	1,32 ± 0,19	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/místo napadení</b>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>
	Jonagored	0,32 ± 0,03	0,70 ± 0,05	1,60 ± 0,27	-
	Golden Delicious	0,25 ± 0,03	0,52 ± 0,05	1,97 ± 0,18	-
	Idared	0,36 ± 0,04	0,49 ± 0,04	0,94 ± 0,16	-

Infekce houbou *Gloeosporium album* byla úspěšná ve všech plodech jablek. Během tří týdnů se infekce šířila ve všech odrůdách jablek velmi podobně i nezávisle na typu předchozího uskladnění. První týden kruhově šířící se infekce dosáhla poloměru 0,2 až 0,4 cm a ve třetím týdnu 0,4 až 0,7 cm. V pátém týdnu skladování byly rozdíly mezi plody uskladněnými v RA a FAN, stejně jako rozdíly mezi jednotlivými odrůdami, mnohem výraznější. U jablek odrůdy Jonagored byl poloměr kruhové infekce stanoven na 2,2 cm v plodech z RA a 1,6 cm v plodech z FAN. U odrůdy Golden Delicious byl poloměr infikovaného místa 2,4 cm na plodech z RA a 2,0 cm na plodech z FAN. Nejméně se infekce šířila v jablcích odrůdy Idared – 1,32 cm na plodech z RA a 0,94 na plodech z FAN. V osmém týdnu skladování poloměr infikovaného místa nebylo možné stanovit, protože infekce zasáhla celé plody (zejména plody z RA).

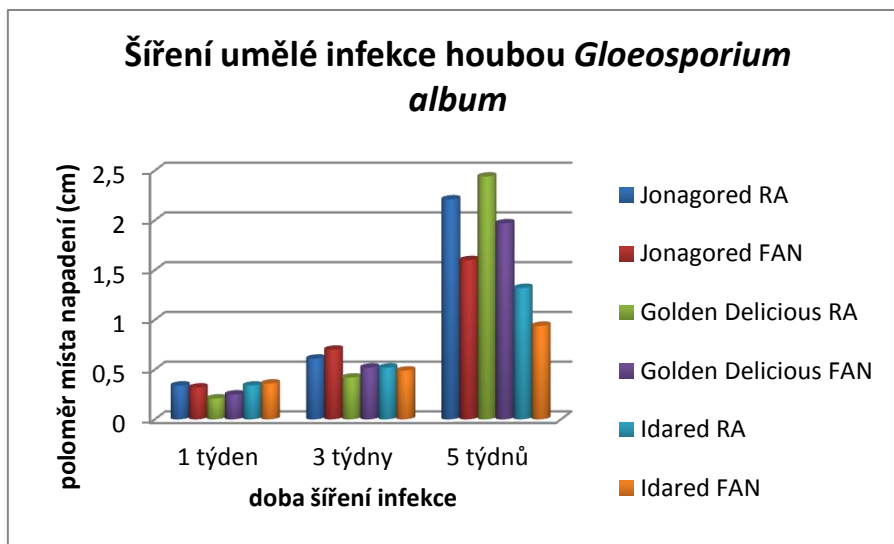


Obrázek č. 25: Šíření infekce houby *Gloeosporium album* v jablcích Jonagored a Golden Delicious

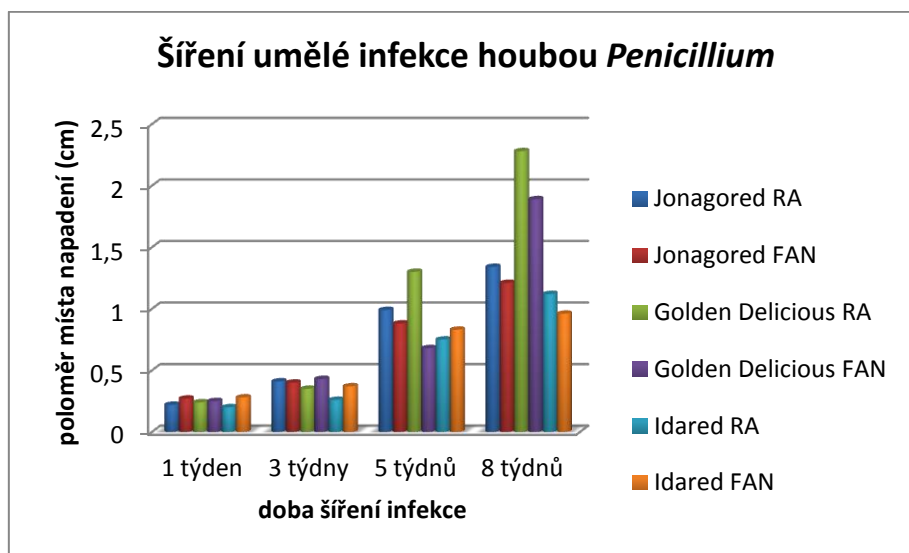
Tabulka č. 8: Umělá infekce jablek houbou *Penicillium* po dobu osmi týdnů

Čas od počátku infekce		1 týden	3 týdny	5 týdnů	8 týdnů
Normální atmosféra	<b>Odrůda/místo napadení</b>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>
	Jonagored	0,22 ± 0,02	0,41 ± 0,04	0,99 ± 0,28	1,34 ± 0,37
	Golden Delicious	0,24 ± 0,02	0,35 ± 0,05	1,30 ± 0,12	2,28 ± 0,45
	Idared	0,20 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,75 ± 0,21	1,12 ± 0,18
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/místo napadení</b>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>	<i>cm</i>
	Jonagored	0,27 ± 0,03	0,40 ± 0,07	0,88 ± 0,21	1,21 ± 0,40
	Golden Delicious	0,25 ± 0,02	0,33 ± 0,03	0,68 ± 0,17	1,89 ± 0,33
	Idared	0,28 ± 0,04	0,37 ± 0,05	0,83 ± 0,09	0,96 ± 0,21

Infekce houbou rodu *Penicillium* se taktéž uchytila ve všech plodech jablek. Ve srovnání s předchozím testem s patogenní plísní *Gloeosporium album*, se infekce šířila podstatně pomaleji. V osmém týdnu šíření infekce byl u jablek Golden Delicious naměřen poloměr místa kruhové infekce 2,3 cm u plodů z RA a 1,9 cm u plodů z FAN. V jablcích odrůdy Jonagored byly naměřeny hodnoty – 1,3 cm RA a 1,2 cm FAN a v jablcích odrůdy Idared 1,1 cm RA a 1,0 cm FAN.



Obrázek č. 26: Srovnání velikosti infikovaného místa kruhově šířící se infekce (*Gloeosporium album*) jablek v průběhu 5 týdnů skladování v lednici při teplotě 8 °C.



Obrázek č. 27: Srovnání velikosti infikovaného místa kruhově šířící se infekce (*Penicillium*) jablek v průběhu 5 týdnů skladování v lednici při teplotě 8 °C.

Kontaminace jablek patogeny, narušení povrchových vrstev a složení mikroflóry ve skladovacích prostorách mají velký vliv na životaschopnost plodů. Pomocí diagnostických půd Envirocheck TVC a YM® jsme zjistili, že jablka uskladněná v modifikované atmosféře mají na svém povrchu více bakteriálních zárodků, než jablka uskladněná v normální atmosféře, k čemuž přispívá nižší koncentrace kyslíku. Ze stejného důvodu jsme přepokládali nižší kontaminaci povrchu zárodky hub jablek skladovaných v modifikované atmosféře, avšak tento předpoklad byl zjištěn jen u jablek odrůdy Granny Smith. U ostatních odrůd jablek byly

hodnoty srovnatelné s RA. Množství zárodků hub zjištěných pomocí kultivace na bengálském chloramfenikolovém agaru se nejprve během čtyř měsíců skladování snížilo, pravděpodobně z důvodu zhoršení podmínek (snížení teploty, snížení množství kyslíku). Kontaminace opět narostla v šestém měsíci, kdy se měnila nejen struktura slupky jablek, ale také kondice jablek.

Abychom zjistili, jak se jablka po dlouhodobém skladování (6 měsíců) v rozdílných podmínkách umí ubránit infekci, byla provedena umělá infekce dvěma druhy patogenů (*Gloeosporium album*- sbírkový kmen, *Penicillium* – izobát ze skladu jablek). Penicilliové houby, zejména *Penicillium expansum*, způsobují taktéž velké škody na ovoci. Pro tento test byla srovnána jablka odrůd Jonagored, Golden Delicious a Idared odebraná po šesti měsících skladování v normální i modifikované atmosféře. Jablka po dlouhodobém skladování podléhala rychlejšímu šíření infekce způsobenou patogenem *Gloeosporium album* než houbou rodu *Penicillium*. Jablka dlouhodobě skladovaná v modifikované atmosféře odolávala infekci lépe než jablka uskladněná v normální atmosféře. Nejvíce vnímavou odrůdou k infekci mikroblem *Gloeosporium album* je odrůda Jonagored, k penicilliové infekci pak odrůda Golden Delicious.

#### **5.1.4 Celková antioxidační aktivita dlouhodobě skladovaných jablek**

Celková antioxidační aktivita charakterizuje oxidačně-redukční potenciál analyzovaného vzorku (jablek). Vypovídá o schopnosti jablek vylučovat volné radikály, které se přirozeně tvoří v průběhu celého života plodů. Pokud není udržována rovnováha volných radikálů na úkor antioxidantů, dochází k oxidačnímu stresu a tím rychlejšímu odumírání plodů [137].

Antioxidační aktivita byla měřena pomocí kitu Randox (Randox Laboratories, USA). Postup stanovení je uveden v kapitole 4.4.5. Celková antioxidační aktivita je vyjadřována jako látkové množství TROLOXu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-karboxylové kyseliny) ve 100 g sušiny jablek.

Tabulka č. 10: Celková antioxidační aktivita jablek (TAS) dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007-2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda jablek/TAS</b>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>
	Jonagored	3,62 ± 0,31	5,18 ± 0,43	4,23 ± 0,33
	Golden Delicious	4,56 ± 0,34	5,72 ± 0,35	2,64 ± 0,42
	Idared	4,28 ± 0,37	4,68 ± 0,41	4,36 ± 0,35
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda jablek/TAS</b>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>
	Jonagored	3,62 ± 0,31	-	4,20 ± 0,37
	Golden Delicious	4,56 ± 0,34	-	4,45 ± 0,43
	Idared	4,28 ± 0,37	-	5,21 ± 0,27

Hodnoty celkové antioxidační aktivity jablek v průběhu šesti měsíců skladování kolísaly. Po 1,5 měsíci skladování ve standardní atmosféře došlo u všech odrůd jablek ke zvýšení celkové antioxidační aktivity. U odrůdy Jonagored došlo k navýšení o třetinu, u odrůdy Golden Delicious o pětinu a u odrůdy Idared o necelou desetinu. V šestém měsíci skladování ve standardní atmosféře došlo k poklesu aktivity. U odrůdy Jonagored tento pokles činil 22 %, u plodů odrůdy Golden Delicious 117 % a plodů Idared 7 % (ve srovnání s aktivitou ve 2. měsíci). Plody uchovávané v modifikované atmosféře vykazují v šestém měsíci skladování vyšší hodnoty antioxidační aktivity než plody uchovávané v normální atmosféře. Od začátku skladování došlo u odrůdy Jonagored skladované v RA ke zvýšení celkové antioxidační aktivity o 17 %, u plodů z FAN o 16 %. U odrůdy Golden Delicious skladované v RA došlo k poklesu aktivity o 42 % avšak u plodů z FAN pouze k poklesu o 2 %. U plodů jablek odrůdy Idared došlo u obou skladování ke zvýšení celkové antioxidační aktivity. U plodů z RA došlo k navýšení o 2 %, u plodů z FAN o 22 %.

Ze získaných výsledků je patrné, že v modifikované atmosféře dochází ke zpomalení metabolických procesů v uchovávaných plodech, změny pozorované po 6 měsících uchování ve FAN odpovídají změnám pozorovaným ve standardní atmosféře za cca poloviční dobu uchování.

Pro detailnější představu o změnách celkové antioxidační aktivity jablek byla následující rok provedena další studie s jinými dvěma odrůdami jablek pěstovaných v ČR a s referenční odrůdou Golden Delicious.

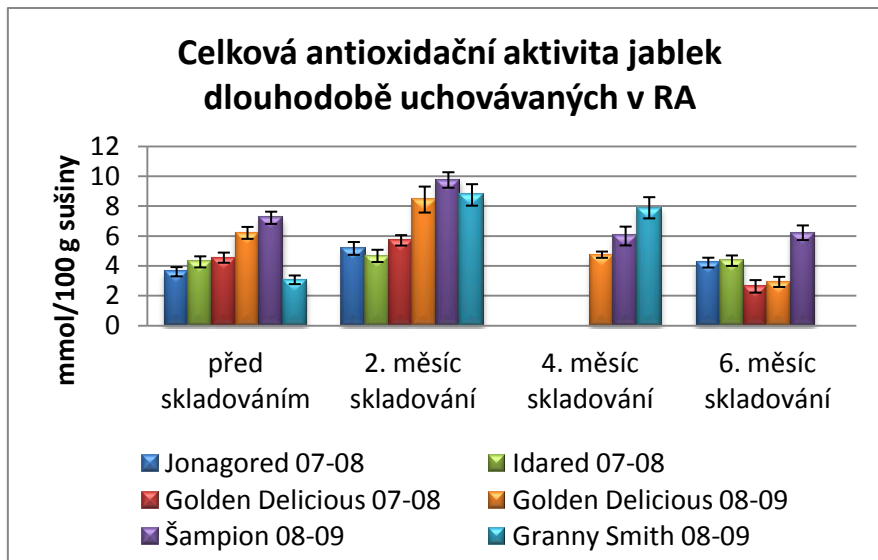


Tabulka č. 11: Celková antioxidační aktivita (TAS) jablek dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

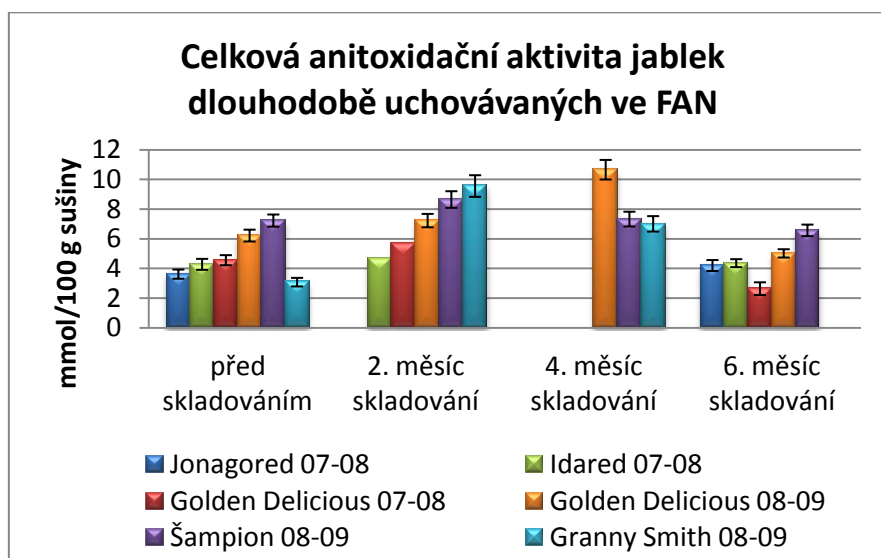
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda jablek/TAS</b>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>
	Šampion	7,23 ± 0,41	9,76 ± 0,52	6,01 ± 0,63	6,23 ± 0,49
	Golden Delicious	6,22 ± 0,40	8,45 ± 0,87	4,76 ± 0,21	2,94 ± 0,34
	Granny Smith *	3,08 ± 0,29	8,76 ± 0,72	7,90 ± 0,71	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda jablek/TAS</b>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>	<i>mmol/100g sušiny</i>
	Šampion	7,23 ± 0,41	8,65 ± 0,56	7,33 ± 0,50	6,57 ± 0,39
	Golden Delicious	6,22 ± 0,40	7,23 ± 0,45	10,66 ± 0,66	5,02 ± 0,28
	Granny Smith *	3,08 ± 0,29	9,56 ± 0,73	7,01 ± 0,52	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna.

Stejně jako u předchozí studie z let 2007 až 2008 došlo ke kolísání hodnot celkové antioxidační aktivity jablek v průběhu šesti měsíců skladování. Celková antioxidační aktivita plodů odrůdy Šampion uskladněných v normální atmosféře, v průběhu druhého měsíce, vzrostla o třetinu z hodnoty 6,2 mmol/100 g sušiny, poté došlo k jejímu poklesu o třetinu. V závěru skladování (6. měsíc) celk. antioxidační aktivita opět mírně vzrostla (o 4 %) na hodnotu 2,9 mmol/100 g. Plody uchovávané v modifikované atmosféře vykazují podobný nárůst a pokles hodnot, avšak bez mírného vzrůstu hodnot na konci skladování. Větší fluktuace hodnot antioxidační aktivity je patrnější u plodů z RA (6,0 až 9,8 mmol/100 g sušiny) oproti plodům z FAN (6,6 až 8,7 mmol/100 g sušiny). Průměrná hodnota TAS jablek odrůdy Golden Delicious ihned po sběru byla stanovena 6,2 mmol/100g sušiny a je tak nižší než u odrůdy Šampion (7,2 mmol/100 g sušiny). U plodů skladovaných v RA došlo v průběhu druhého měsíce skladování ke zvýšení na 8,5 mmol/100 g (o cca třetinu) a poté snížení na 4,8 mmol/100 g (o 44 %), které dále pokračovalo až na hodnotu 2,9 mmol/100 g. U plodů skladovaných ve FAN hodnota TAS rostla v průběhu 4 měsíců. Nejdříve došlo ke zvýšení na 7,2 mmol/100 g sušiny (o 16 %) a poté na 10,7 mmol/100g sušiny. Ke konci skladování byl zjištěn pokles hodnot na 5,0 mmol/100 g sušiny (odpovídá poklesu v RA za cca 4 měsíce skladování). Jablka odrůdy Granny Smith s pozdější dobou sběru měla před skladováním nejnižší hodnoty celkové antioxidační aktivity 3,1 mmol/100 g sušiny. V průběhu skladování v obou atmosférách došlo nejdříve k výraznému zvýšení aktivity (RA 8,7 mmol/ 100 g sušiny; FAN 9,6 mmol/ 100g sušiny) a poté k mírnému snížení (RA 7,9 mmol/100g sušiny; FAN 7,0 mmol/100g sušiny).



*Obrázek č. 28:* Celková antioxidační aktivita jablek dlouhodobě skladovaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 29:* Celková antioxidační aktivita jablek dlouhodobě skladovaných v modifikované atmosféře

Celkově lze uzavřít, že v modifikované atmosféře dochází ke zpomalení metabolických procesů spojených s antioxidačními ději. Průběh změn antioxidační aktivity závisí na odrůdě, ale v podstatě je u všech jablek podobný: po uskladnění dochází zpočátku k nárůstu TAS (zřejmě vlivem pokračování procesů zrání a mobilizace antioxidačních systémů) a poté k postupnému poklesu – v RA je po 6 měsících hodnota TAS nižší než na počátku uchovávání, ve FAN se blíží výchozím hodnotám.

Porovnáním hodnot celkové antioxidační aktivity z obou studií, konzumní zralosti a s přihlédnutím k výsledkům ze senzorní analýzy lze říci, že se hodnoty celkové antioxidační aktivity zvyšovaly do počátku konzumní zralosti. V průběhu již zmíněné

konzumní zralosti došlo k jejich postupnému poklesu. Opětovné zvýšení hodnot bylo zaznamenáno u konzumně přezrálých plodů, které vykazovaly známky otlacení a jejichž slupka byla svráštělá, někdy s náznakem infekce. U plodů skladovaných v modifikované atmosféře byl celý proces stárnutí pozorován se zpožděním 1 až 2 měsíců v porovnání s plody uchovávanými v normální atmosféře, což vysvětluje nižší obsah kyslíku ve skladovací atmosféře a tím pádem pomalejší výměnu plynů a celkové snížení metabolismu plodů.

### 5.1.5 Obsah kyseliny askorbové v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Kyselina askorbová byla stanovována pomocí přímé titrace roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu. Stanovení bylo ověřeno metodou kapalinové chromatografie s fotometrickou detekcí (NH<sub>2</sub>-C18 kolona). Postup stanovení je uveden v kapitole 4.4.2. Obsah kyseliny askorbové je vyjádřen v mg kyseliny ve 100 g sušiny jablek.

*Tabulka č. 12:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda jablek</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	13,21 ± 2,28	12,97 ± 1,25	9,24 ± 2,03
	Golden Delicious	21,23 ± 1,98	20,33 ± 2,95	11,52 ± 3,42
	Idared	18,94 ± 2,96	18,27 ± 1,89	16,92 ± 1,40
Modifikovaná atmosféra		<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	13,21 ± 2,28	-	12,17 ± 1,14
	Golden Delicious	21,23 ± 1,98	-	17,64 ± 1,99
	Idared	18,94 ± 2,96	-	17,59 ± 2,97

Před skladováním se hladina kyseliny askorbové pohybovala v rozmezí 13,2 až 21,2 mg/100 g sušiny. Její největší zastoupení bylo nalezeno u plodů odrůdy Golden Delicious, zatímco nejmenší u odrůdy Jonagored. V průběhu skladování došlo k postupnému úbytku askorbátu. U jablek odrůdy Jonagored skladované v RA došlo v průběhu prvních dvou měsíců ke snížení hladiny o 0,2 mg/100 g sušiny a ke konci skladování dosáhla hodnoty 9,2 mg/100 g sušiny (pokles o cca třetinu). U jablek skladovaných v modifikované atmosféře došlo ke konci skladování k poklesu pouze na hodnotu 12,7 mg/100 g sušiny (o 4 %). Jablka odrůdy Golden Delicious na počátku skladovacího procesu obsahovala největší množství kyseliny askorbové, avšak na konci procesu vykazovala největší úbytek. U jablek skladovaných v RA došlo k poklesu z hodnoty 21,2 mg/100g sušiny na hodnotu 11,5 mg/100 g sušiny (o polovinu) a u plodů z FAN na hodnotu 17,6 mg/100 g sušiny (o 17 %). Jablka odrůdy Idared na počátku skladování obsahovala 18,9 mg/100 g sušiny, na konci skladovacího procesu došlo k mírnému poklesu

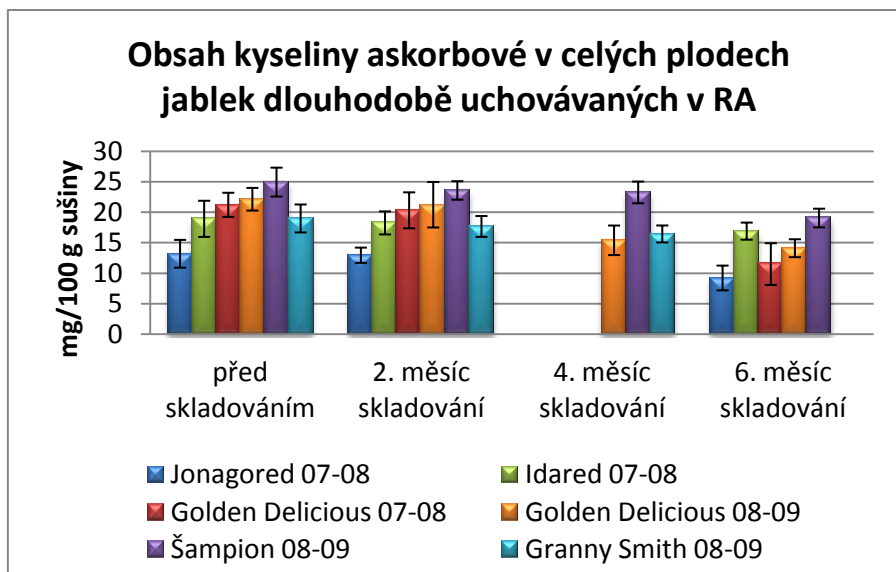
na hodnotu 16,9 mg/100 g sušiny (o desetinu) pro plody z RA a 17,6 mg/100 g sušiny (o 7 %) pro plody z FAN.

*Tabulka č. 13:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

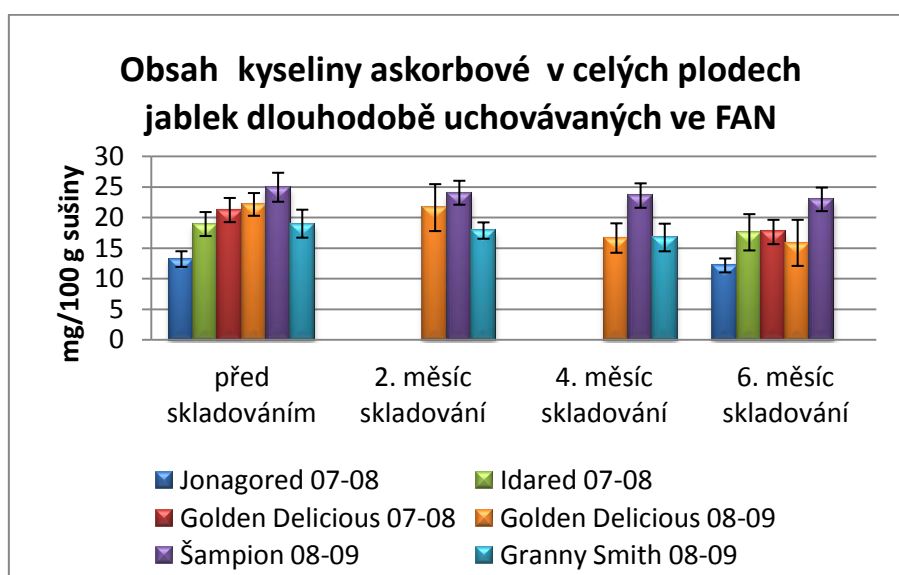
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/kys. askorbová</b>	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny
	Šampion	24,96 ± 2,37	23,59 ± 1,52	23,27 ± 1,78	19,07 ± 1,53
	Golden Delicious	22,15 ± 1,86	21,25 ± 3,73	15,42 ± 2,42	14,12 ± 1,47
	Granny Smith*	19,00 ± 2,29	17,69 ± 1,71	16,46 ± 1,39	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/kys. askorbová</b>	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny
	Šampion	24,96 ± 2,37	24,06 ± 1,96	23,60 ± 2,00	22,98 ± 1,93
	Golden Delicious	22,15 ± 1,86	21,63 ± 3,84	16,65 ± 2,41	15,86 ± 3,77
	Granny Smith*	19,00 ± 2,29	17,87 ± 1,34	16,74 ± 2,26	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Hladina kyseliny askorbové v průběhu skladování postupně klesala u všech testovaných odrůd, stejně jako v testech z období 2007/2008. Plody uchovávané v modifikované atmosféře si uchovaly vyšší hladinu kyseliny než plody skladované v normální atmosféře. V průběhu celého skladování došlo u jablek odrůdy Šampion k poklesu obsahu kyseliny askorbové z hodnoty 25,0 mg/100 g sušiny na hodnotu 19,1 mg/100g sušiny (o čtvrtinu) pro RA a na hodnotu 23,0 mg/100 g sušiny (o necelou desetinu) pro FAN. Opět jako u testů z let 2007/2008 jablka odrůdy Golden Delicious na počátku skladovacího procesu obsahovala největší množství kyseliny askorbové, avšak na konci procesu vykazovala největší úbytek. U jablek skladovaných v RA došlo k poklesu z hodnoty 22,2 mg/100 g sušiny na 14,1 mg/100 g sušiny (o cca třetinu), u plodů z FAN na hodnotu 15,9 mg/100 g sušiny (o necelou třetinu). Jablka odrůdy Granny Smith na počátku skladovacího procesu obsahovala nejméně kyseliny askorbové 19,0 mg/100 g sušiny. V průběhu skladování došlo k jejímu snížení v plodech z RA na hodnotu 16,5 mg/100 g sušiny (o 13 %) a u plodů z FAN na velmi podobnou hodnotu 16,7 mg/100 g sušiny (o 12 %).



*Obrázek č. 30:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 31:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích dlouhodobě skladovaných v modifikované atmosféře

Jablka ve sklizňové zralosti vykazovala nejvyšší hladiny kyseliny askorbové - 13 až 25 mg/100 g sušiny. S postupným dozríváním ve skladovacích prostorech došlo k jejímu postupnému úbytku, který byl výraznější u plodů uchovávaných v normální atmosféře. Nejvíce bohatou odrůdou na kyselinu askorbovou se jeví odrůda Golden Delicious, avšak na rozdíl od ostatních testovaných odrůd, u ní došlo k největšímu úbytku v průběhu celého skladování. Nejlépe si hladinu kyseliny askorbové uchovala jablka odrůd Jonagored a Šampion, která dozrávala ve skladech nejkratší dobu.

Ze získaných výsledků je tedy patrné, že jablka si i při dlouhodobém uchovávaní zachovávají obsah askorbátu. I po 6 měsících uchovávaní neklesla hladina askorbátu

v plodech více než o cca třetinu - v závislosti na odrůdě. V regulované atmosféře byl pokles hodnot ještě nižší. Průběh změn askorbátu byl ověřen u téže odrůdy (Golden Delicious) dva roky po sobě a v obou letech vykazuje prakticky stejný profil. V celých plodech je zřejmě kyselina askorbová stabilizována vazbou na přirozené struktury nebo aktivitou jiných antioxidačních mechanismů, takže i uskladněná jablka si uchovávají poměrně vysoký obsah vitamínu C, což přispívá k jejich nutriční kvalitě.

### 5.1.6 Obsah celkových polyfenolů v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Obsah celkových polyfenolů byl stanovován po jejich extrakci pomocí kolorimetrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Postup je uveden v kapitole 4.4.3. Obsah celkových polyfenolů je vyjádřen jako množství standardní látky kyseliny galové ve 100 g sušiny (mg/100 g sušiny).

*Tabulka č. 14:* Obsah celkových polyfenolů v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/celk. polyfenoly</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	204,84 ± 22,82	553,95 ± 48,37	187,17 ± 39,72
	Golden Delicious	480,60 ± 27,96	631,73 ± 60,63	259,02 ± 34,87
	Idared	466,67 ± 29,96	604,89 ± 48,28	537,05 ± 49,88
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/celk. polyfenoly</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	204,84 ± 22,82	-	246,49 ± 66,27
	Golden Delicious	480,60 ± 27,96	-	598,31 ± 73,96
	Idared	466,67 ± 29,96	-	701,08 ± 53,08

Odrůda Jonagored se z testovaných odrůd jeví jako nejchudší na polyfenoly. Zatímco jablka Jonagored obsahovala 205 mg/100 g sušiny, jablka odrůd Idared a Golden Delicious obsahovala více než dvojnásobek polyfenolů - 467 až 481 mg/100 g sušiny. Do doby, než jablka dosáhla konzumní zralosti, se obsah celkových polyfenolů navyšoval, poté došlo opět k jeho posupnému úbytku. Jablka odrůdy Jonagored v průběhu prvních dvou měsíců skladování v RA navýšila obsah celkových polyfenolů skoro o dvojnásobek, jablka odrůdy Golden Delicious o třetinu a stejně tak i jablka odrůdy Idared. Na konci skladování došlo u odrůd Jonagored a Golden Delicious k výraznému poklesu polyfenolů na hodnoty 187 až 259 mg/100 g sušiny. U odrůdy Idared nebyl pokles tak výrazný (537 mg/100 g sušiny). Plody uchovávané v modifikované atmosféře si uchovaly poměrně vysoké množství celkových polyfenolů. Tyto hodnoty převyšují obsah celkových polyfenolů před skladovacím

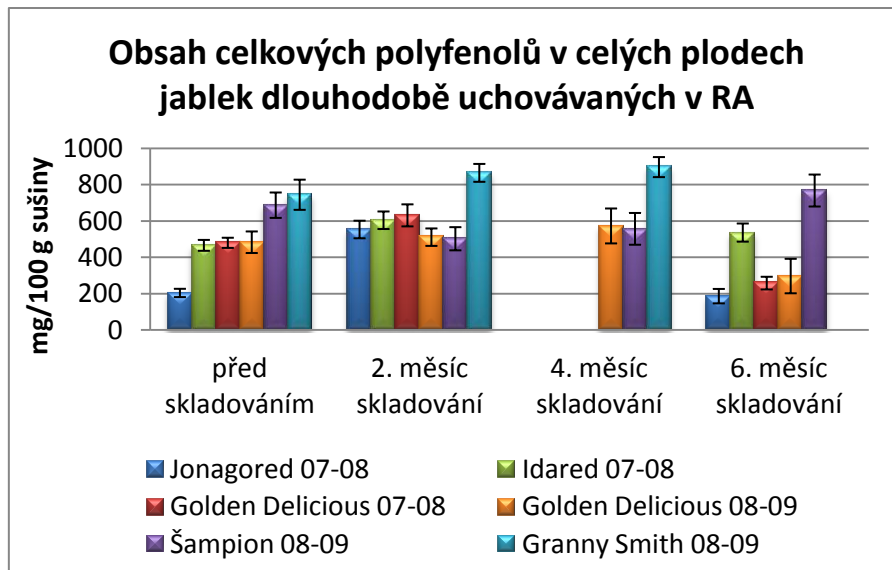
procesem. U odrůdy Jonagored došlo ke zvýšení na hodnotu 246 mg/100 g sušiny, u odrůdy Golden Delicious na 598 mg/100 g sušiny a u odrůdy Idared dokonce na hodnotu 701 mg/100 g sušiny.

*Tabulka č. 15: Obsah celkových polyfenolů v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009*

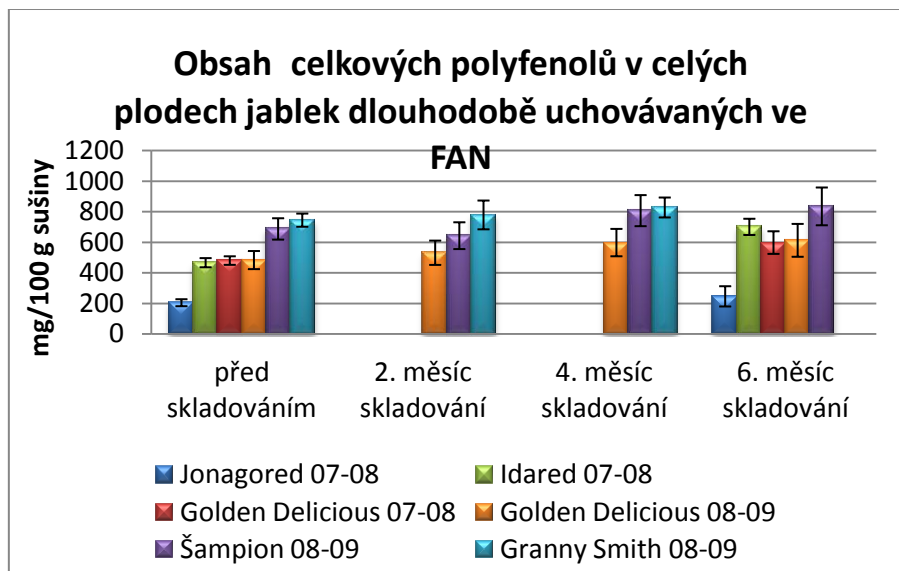
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/celk. polyfenoly</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	687,65 ± 69,83	503,07 ± 63,77	557,52 ± 87,40	768,36 ± 87,88
	Golden Delicious	483,86 ± 59,29	511,72 ± 48,09	573,53 ± 96,03	297,80 ± 94,84
	Granny Smith*	745,09 ± 82,98	865,49 ± 49,24	897,25 ± 55,12	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/celk. polyfenoly</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	687,65 ± 69,83	643,52 ± 87,64	807,38 ± 101,63	835,21 ± 123,66
	Golden Delicious	483,86 ± 59,29	531,74 ± 79,49	598,35 ± 89,52	613,02 ± 107,50
	Granny Smith*	745,08 ± 42,98	779,30 ± 94,13	827,98 ± 65,25	-

\*plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Jablka odrůdy Granny Smith si po celou dobu skladování a zrání v obou atmosférách vytvářela zásobu polyfenolů. Před skladováním se hodnota celkových polyfenolů pohybovala kolem hodnoty 745 mg/100 g sušiny. Na konci skladování se zvýšila na 897 mg/100 g sušiny u plodů z RA a na 828 mg/100 g sušiny u plodů z FAN. Velmi podobných hodnot dosáhly i plody odrůdy Šampion na konci skladování v modifikované atmosféře, zatímco v normální se pohybovaly kolem hodnoty 768 mg/100 g sušiny. Jablka odrůdy Golden Delicious skladované v RA nejdříve polyfenoly akumulovala, poté však došlo k jejich úbytku až na hladinu 298 mg/100 g sušiny a je tak jednou z nejnižších naměřených hodnot. Jablka Golden Delicious skladovaná v modifikované atmosféře obsah celkových polyfenolů v průběhu skladování navyšovala z hodnoty 484 mg/100 g sušiny až na hodnotu 613 mg/100g sušiny.



*Obrázek č. 32:* Obsah celkových polyfenolů v jablečích dlouhodobě skladovaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 33:* Obsah celkových polyfenolů v jablečích dlouhodobě skladovaných modifikované atmosféře

Jablka odrůdy Jonagored se ze všech testovaných odrůd v obdobích 2007/2008 a 2008/2009 jeví jako nejchudší na polyfenoly. Jablka odrůdy Idared a Golden Delicious před skladováním obsahovala více jak dvojnásobek polyfenolů, troj- až čtyřnásobek byl nalezen v plodech odrůdy Šampion a Granny Smith. Do doby, než jablka dosáhla konzumní zralosti, se obsah celkových polyfenolů navyšoval v závislosti na testované odrůdě, poté došlo opět k jeho postupnému úbytku. U přezrálých plodů došlo po tomto poklesu dalšímu zvýšení hodnot celkových polyfenolů, zřejmě jako reakce na oxidační stres. Jablka odrůdy Granny Smith si po celou dobu skladování v obou atmosférách vytvářela zásobu polyfenolů,



protože konzumní zralosti dosáhla až v posledním měsíci měření, zatímco u jablek ranné odrůdy Šampion byl zaznamenán pokles polyfenolů již ve druhém měsíci uskladnění. Plody uchovávané v modifikované atmosféře si uchovaly poměrně vysoké množství celkových polyfenolů. Tyto hodnoty převyšují obsah celkových polyfenolů před skladovacím procesem.

Z uvedených výsledků je patrné, že obsah celkových polyfenolů v plodech jablek uchovávaných v regulární atmosféře postupně u většiny odrůd mírně klesá, přičemž po 2 až 3 měsících uchovávání dochází k přechodnému zvýšení vlivem posklizňového dozrávání plodů. U jablek uchovávaných ve FAN je průběh těchto změn významně zpomalený a u většiny odrůd ještě po 6 měsících uchovávání byla pozorována zvýšená hladina polyfenolů ve srovnání s hladinou těsně po sklizni. Rovněž obsah celkových polyfenolů významně přispívá k nutriční kvalitě skladovaných jablek.

### 5.1.7 Obsah celkových flavonoidů v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Obsah celkových flavonoidů je stanovován podobně jako celkové polyfenoly pomocí kolorimetrické metody. Postup je uveden v kapitole 4.4.4. Obsah celkových polyfenolů je vyjádřen jako množství standardní látky – katechinu ve 100 g sušiny (mg/100 g sušiny).

*Tabulka č. 16:* Obsah celkových flavonoidů v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/celk. flavonoidy</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	128,40 ± 38,39	288,74 ± 48,68	173,45 ± 38,93
	Golden Delicious	261,66 ± 39,02	346,67 ± 48,03	192,33 ± 45,01
	Idared	257,63 ± 35,93	309,55 ± 43,02	364,50 ± 36,94
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/celk. flavonoidy</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	128,40 ± 38,39	-	302,61 ± 47,47
	Golden Delicious	261,66 ± 39,02	-	382,57 ± 56,04
	Idared	257,63 ± 35,93	-	455,77 ± 49,92

Stejně jako se měnily hodnoty celkových polyfenolů v průběhu skladování, tak i hodnoty celkových flavonoidů se držely stejného trendu. Nejnižší obsah celkových flavonoidů byl nalezen v průběhu skladování v obou atmosférách u odrůdy Jonagored. Před skladováním jablka obsahovala 128 mg/100 g sušiny celkových flavonoidů a do doby, než dosáhla konzumní zralosti, se obsah flavonoidů v plodech z RA navýšil na hodnotu 289 mg/100 g sušiny. Na konci skladování, kdy byly plody notně přezrálé, hodnota celkových flavonoidů klesla až na 173 mg/100 g sušiny. Jablka uchovávaná v modifikované atmosféře

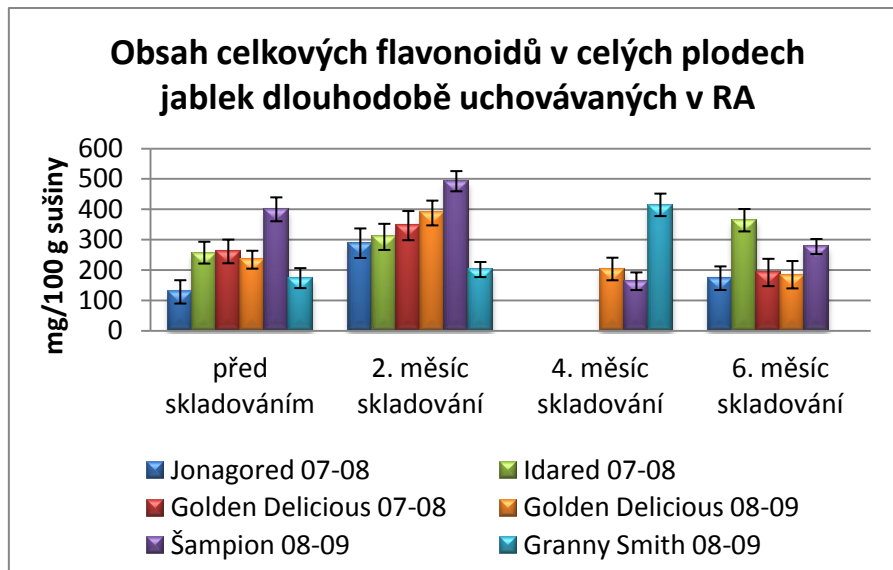
na konci skladování byla výrazně v lepší kondici a rovněž obsah celkových flavonoidů byl skoro dvojnásobně vyšší (303 mg/100 g sušiny). U jablek odrůdy Idared se množství polyfenolů navyšovalo v průběhu celého skladování. U plodů uskladněných v RA došlo k nárůstu hodnot z 258 mg/100 g sušiny na 365 mg/100 g sušiny na konci skladování. U plodů z FAN byl tento nárůst ještě vyšší - 456 mg/100 g sušiny.

*Tabulka č. 17: Obsah celkových flavonoidů v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009*

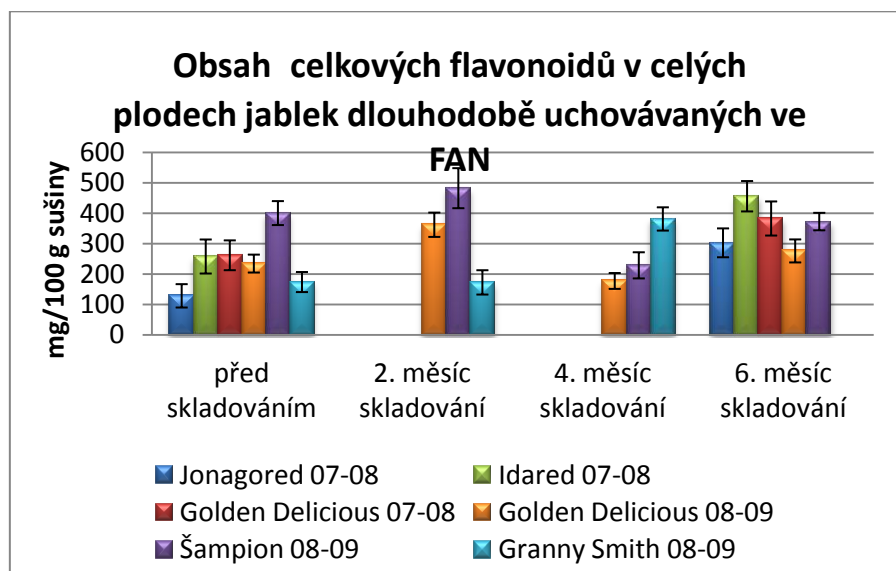
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/celk. flavonoidy</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	400,38 ± 39,37	492,98 ± 33,28	163,41 ± 29,13	277,74 ± 24,82
	Golden Delicious	234,39 ± 29,49	388,27 ± 40,82	203,77 ± 37,23	184,93 ± 45,11
	Granny Smith*	173,72 ± 32,96	201,93 ± 24,90	415,06 ± 37,02	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/celk. flavonoidy</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	400,38 ± 39,37	482,22 ± 65,79	228,61 ± 42,98	372,44 ± 28,71
	Golden Delicious	234,39 ± 29,49	362,00 ± 39,94	177,25 ± 26,07	275,99 ± 37,83
	Granny Smith*	173,72 ± 32,96	172,59 ± 39,98	381,11 ± 38,23	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

I zde je velmi podobný trend změn hodnot obsahu celkových flavonoidů, jako u testů z předchozího období. Zatímco u zimní odrůdy Granny Smith došlo v průběhu celého skladování ke zvýšení obsahu celkových flavonoidů v obou atmosférách (ze 174 mg/100 g sušiny na 415 mg/100 g sušiny v plodech z RA a 381 mg/100 g sušiny v plodech z FAN), u odrůd Šampion a Golden Delicious hodnoty flavonoidů kolísaly. Než jablka dosáhla konzumní zralosti, obsah flavonoidů se zvyšoval. U plodů Golden Delicious došlo k navýšení z hodnoty 234 mg/100 g sušiny na hodnotu 388 mg/100 g sušiny u plodů z RA a 362 mg/100 g sušiny u plodů z FAN, u plodů odrůdy Šampion ze 400 mg/100 g sušiny na 493 mg/100 g sušiny z RA a 482 mg/100 g sušiny z FAN. Poté došlo k jejich úbytku. Na konci skladování došlo k opětovnému nárůstu hodnot. V závěru skladování jablka odrůdy Šampion obsahovala více flavonoidů než odrůda Golden Delicious (Šampion: RA 185 mg/100 g sušiny; FAN 276 mg/100 g sušiny; Golden Delicious: RA 278 mg/100 g sušiny; FAN 372 mg/100 g sušiny).



*Obrázek č. 34:* Obsah celkových flavonoidů v jablecích dlouhodobě skladovaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 35:* Obsah celkových flavonoidů v jablecích dlouhodobě skladovaných v modifikované atmosféře

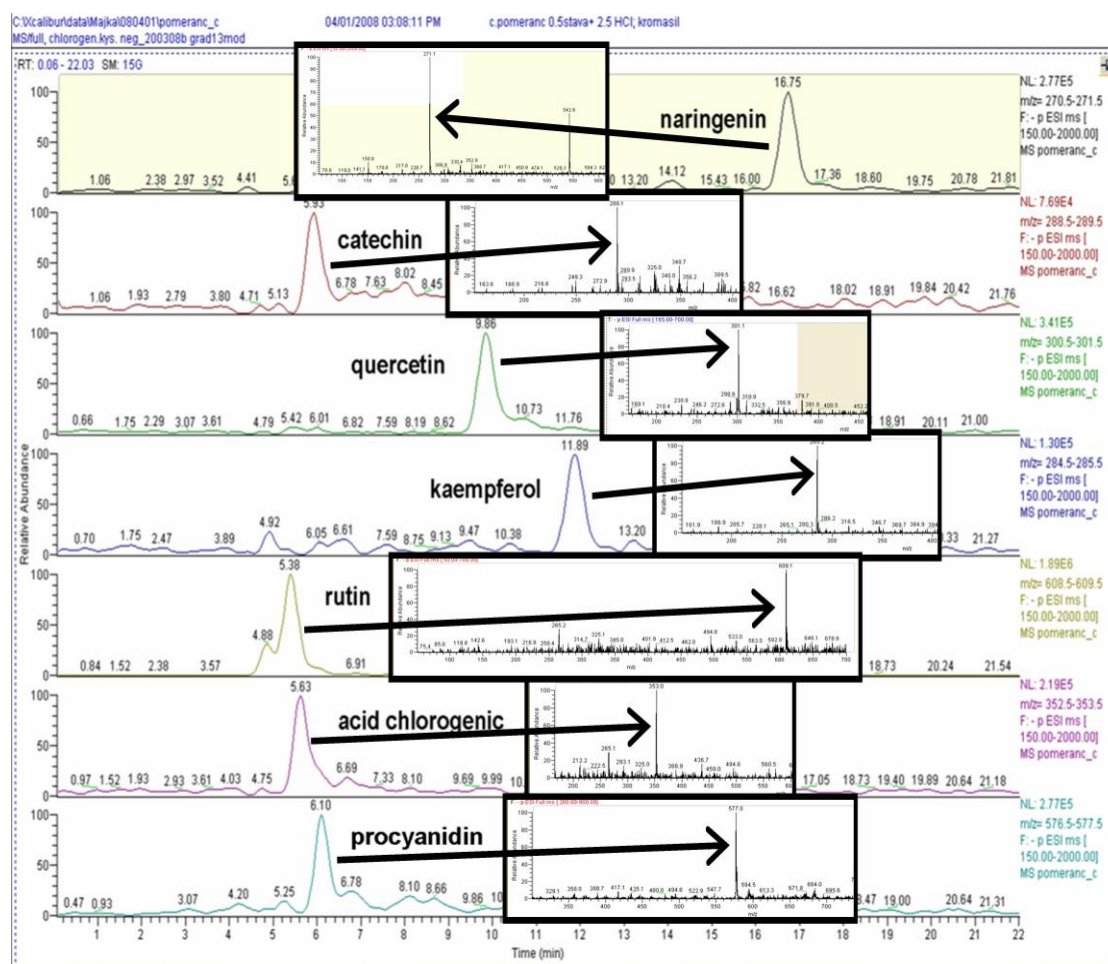
Z uvedených výsledků je patrné, že obsah celkových flavonoidů v plodech jablek kopíroval trendy pozorované u hladiny celkových polyfenolů: u jablek uchovávaných v regulární atmosféře postupně u většiny odrůd velmi mírně klesá, přičemž po 2 až 3 měsících uchovávání dochází k přechodnému zvýšení vlivem posklizňového dozrání plodů. U jablek uchovávaných ve FAN je průběh těchto změn podobně jako u polyfenolů zpomalený a u většiny odrůd ještě po 6 měsících uchovávání byla pozorována zvýšená hladina flavonoidů ve srovnání s hladinou těsně po sklizni. Rovněž obsah celkových flavonoidů přispívá k nutriční kvalitě skladovaných jablek.

V další části práce byly analyzovány individuální antioxidanty.

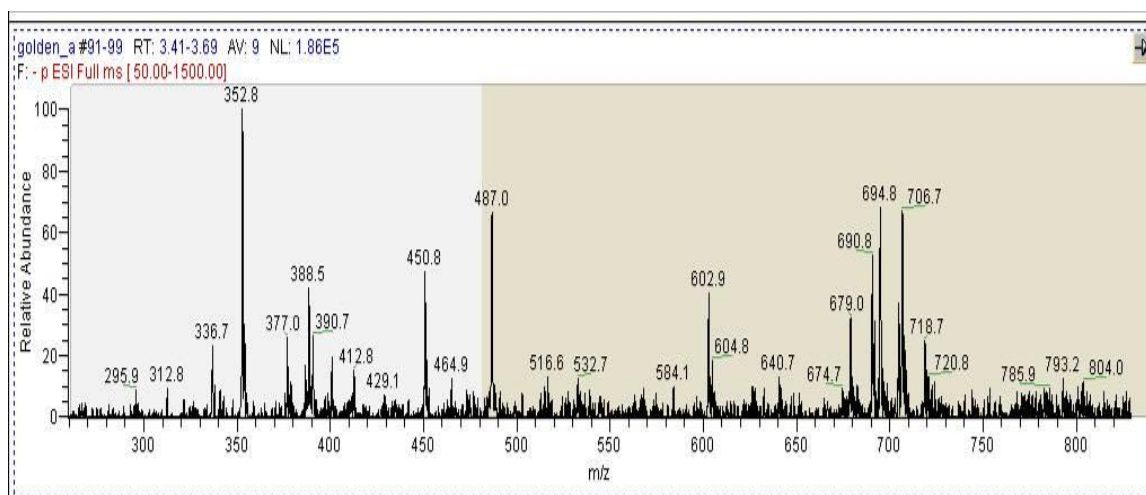
## 5.1.8 Obsah individuálních antioxidačních látek v dlouhodobě skladovaných jablčích

Obsah individuálních antioxidačních látek byl stanoven pomocí kapalinové chromatografie se spektrometrickou a hmotnostní detekcí. Postup stanovení je uveden v kapitole 4.4.6. Obsah antioxidačních látek je vyjádřen jako množství ve 100 g sušiny (mg a  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny). Správnost přípravy vzorků pro analýzu individuálních antioxidačních látek bylo provedeno stanovení pomocí LC/PDA/ESI-MS.

Z majoritních flavonoidů byly v plodech jablek individuálně kvantifikovány - kyselina chlorogenová, prokyanidin B2, katechin a katechingalát, epikatechin a epikatechingalát a florizin.



Obrázek č. 36: LC/MS analýza standardů vybraných fenolických látek - příklad



Obrázek č. 37: LC/MS analýza jablek odrůdy Golden Delicious – hmotnostní spektrum

### 5.1.8.1 Obsah kyseliny chlorogenové v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Významnou antioxidační látkou, flavonoidového typu v jablcích, je kyselina chlorogenová (5-kaffeoylchinová kyselina).

Tabulka č. 18: Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/kys. chlorogenová</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	83,65 ± 5,91	197,17 ± 10,30	346,63 ± 13,59
	Golden Delicious	95,32 ± 7,05	215,50 ± 12,54	263,87 ± 13,81
	Idared	126,21 ± 8,18	331,35 ± 15,63	343,57 ± 10,42
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/kys. chlorogenová</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	83,65 ± 5,91	-	356,07 ± 17,76
	Golden Delicious	95,32 ± 7,05	-	514,32 ± 16,93
	Idared	126,21 ± 8,18	-	523,14 ± 22,20

Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích před uskladněním se pohyboval od 84 do 126 mg/100 g sušiny. V průběhu skladování došlo k výraznému zvýšení jejího obsahu. U jablek skladovaných v normální atmosféře došlo k nárůstu hodnot až na 347 mg/100g sušiny (Jonagored), na rozdíl od jablek z modifikované atmosféry, kde došlo k nárůstu hodnot až na 523 mg/100 g sušiny (Idared). Během prvního dvou měsíců došlo ke zvýšení kyseliny chlorogenové na 2,4násobek u odrůdy Jonagored, na 2,3násobek u Golden Delicious a u odrůdy Idared o 2,6násobek. Ke konci skladování byly naměřeny hodnoty kyseliny chlorogenové v plodech odrůdy Jonagored z RA 347 mg/100 g sušiny (zvýšení z hodnoty před skladováním 4,1x) a z FAN 356 mg/100 g sušiny (zvýšení z hodnoty

před skladováním 4,3x). V plodech odrůdy Golden Delicious z RA bylo naměřeno 264 mg kyseliny chlorogenové/100 g sušiny (2,8x více) a z FAN 514 mg/100 g sušiny (5,4x více) a v plodech odrůdy Idared z RA 344 mg/100 g sušiny (2,7x více) a z FAN 523 mg/100 g sušiny (4,2x více).

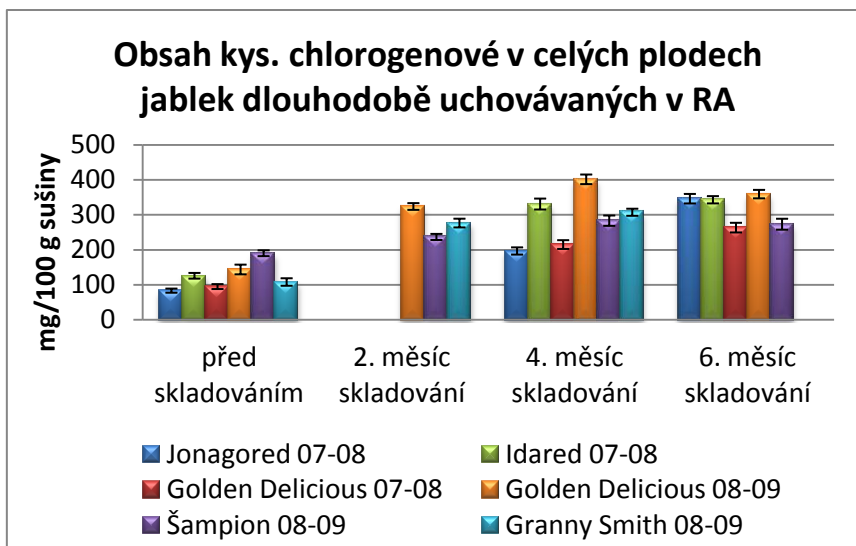
*Tabulka č. 19: Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009*

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/kys. chlorogenová</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	190,70 ± 8,35	237,29 ± 8,72	283,82 ± 14,82	273,66 ± 15,66
	Golden Delicious	144,20 ± 13,91	324,35 ± 9,63	402,06 ± 13,72	359,75 ± 12,09
	Granny Smith*	108,37 ± 10,73	277,01 ± 12,48	307,88 ± 10,11	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/kys. chlorogenová</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	190,70 ± 8,35	210,68 ± 7,37	275,47 ± 11,58	310,33 ± 15,99
	Golden Delicious	144,20 ± 13,91	188,92 ± 10,52	274,99 ± 10,47	389,60 ± 15,54
	Granny Smith*	108,37 ± 10,73	149,58 ± 8,84	295,34 ± 11,70	-

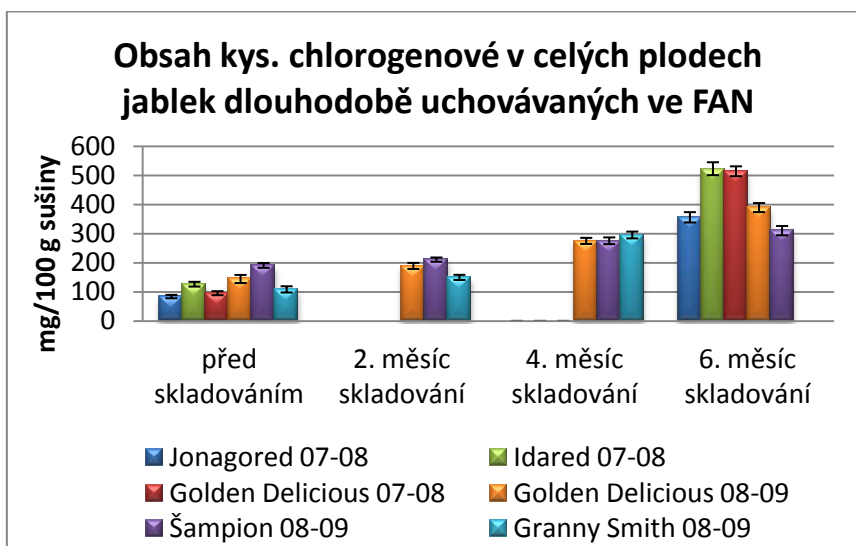
\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Nejvyšší obsah kyseliny chlorogenové před uskladněním byl nalezen v plodech jablek s brzkou sklizňovou zralostí, tedy u odrůdy Šampion (191 mg/100 g sušiny). Naopak jablka odrůdy Granny Smith s nejpozdější sklizňovou zralostí obsahovala nejméně kyseliny chlorogenové (108 mg/100 g sušiny). V průběhu skladování se jako v předchozím testu obsah kyseliny chlorogenové zvyšoval. Nejvyšší hodnoty ve vzorcích z normální atmosféry byly naměřeny ve čtvrtém měsíci skladování. U odrůdy Šampion došlo k navýšení o polovinu, u Golden Delicious na 2,9násobek a u Granny Smith na 2,8násobek. V šestém měsíci skladování v normální atmosféře bylo zjištěno, že ve velmi přezrálých plodech došlo k poklesu hladiny kyseliny o 4 % u odrůdy Šampion a o desetinu u Golden Delicious. U jablek skladovaných v modifikované atmosféře bylo nalezeno nevyšší množství kyseliny chlorogenové v posledním měsíci skladování. U odrůdy Šampion bylo nalezeno 310 mg kyseliny chlorogenové/100 g sušiny (1,6x více), u Golden Delicious 390 mg/100 g sušiny (2,7x více) a u Granny Smith 295 mg/100 g sušiny (2,7x více).





*Obrázek č. 38:* Shrnutí výsledků kyseliny chlorogenové v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 39:* Shrnutí výsledků kyseliny chlorogenové v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Z výsledků hladiny kyseliny chlorogenové je patrné, že se její obsah v plodech jablek v průběhu uchovávání mění, a to vzestupně. U jablek uchovávaných v regulární atmosféře je přírůstek nejvyšší po cca 4 měsících uchovávání a poté již hladina stagnuje. Zatímco u jablek uchovávaných ve FAN je průběh těchto změn významně zpomalený a u většiny odrůd ještě po 6 měsících uchovávání byla pozorována podstatně zvýšená hladina kyseliny chlorogenové ve srovnání s hladinou těsně po sklizni. Vzhledem k průběhu hladin celkových polyfenolů je zřejmé, že kyseliny chlorogenová patří k nejvýznamnějším zástupcům této skupiny přirozených antioxidantů a že podstatně přispívá k hodnotě skupinových parametrů typu celkových polyfenolů a celkových flavonoidů.

### 5.1.8.2 Obsah prokyanidinu B2 v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Prokyanidin B2 je představitelem proanthokyanidinů (kondenzovaných taninů), které jsou díky tvorbě komplexů se slinnými proteiny zodpovědné za svíravou chuť ovoce.

*Tabulka č. 20:* Obsah prokyanidinu B2 v jablčích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/prokyanidin B2</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	8,52 ± 0,64	14,29 ± 0,43	11,97 ± 0,96
	Golden Delicious	10,71 ± 0,81	18,68 ± 0,79	12,63 ± 0,73
	Idared	10,02 ± 0,96	16,95 ± 1,32	19,81 ± 0,38
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/prokyanidin B2</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	8,52 ± 0,64	-	12,38 ± 1,21
	Golden Delicious	10,71 ± 0,81	-	12,77 ± 0,70
	Idared	10,02 ± 0,96	-	20,62 ± 1,01

Mezi další významné aktivní látky v plodech jablek patří prokyanidin B2. Jeho obsah je několikanásobně nižší než v případě kyseliny chlorogenové a v průběhu skladování se také měnil tak, že kopíroval stoupající a klesající tendence hodnoty celkové antioxidační aktivity. V průběhu prvních měsíců skladování se jeho hodnota zvýšila z 8,5 na 14,3 mg/100 g sušiny u plodů odrůdy Jonagored, z 10,7 na 18,9 mg/100 g sušiny u Golden Delicious a 10,0 na 16,9 mg/100 g sušiny u odrůdy Idared. V závěru skladování došlo k poklesu hladiny prokyanidinu B2 u rannějších odrůd Jonagored (RA: 11,9 mg/100 g sušiny; FAN 12,4 mg/100 g sušiny) a Golden Delicious (RA: 12,6 mg/100 g sušiny; FAN: 12,8 mg/100 g sušiny). U odrůdy Idared se obsah prokyanidinu B2 zvyšoval po celou dobu skladování, a to až na hodnoty 19,8 mg/100 g sušiny v plodech uchovávaných v normální atmosféře a 20,6 mg/100 g sušiny pro plody z modifikované atmosféry. Jak je z tabulky patrné, volba skladovací atmosféry nemá na obsah prokyanidinu B2 výrazný vliv.

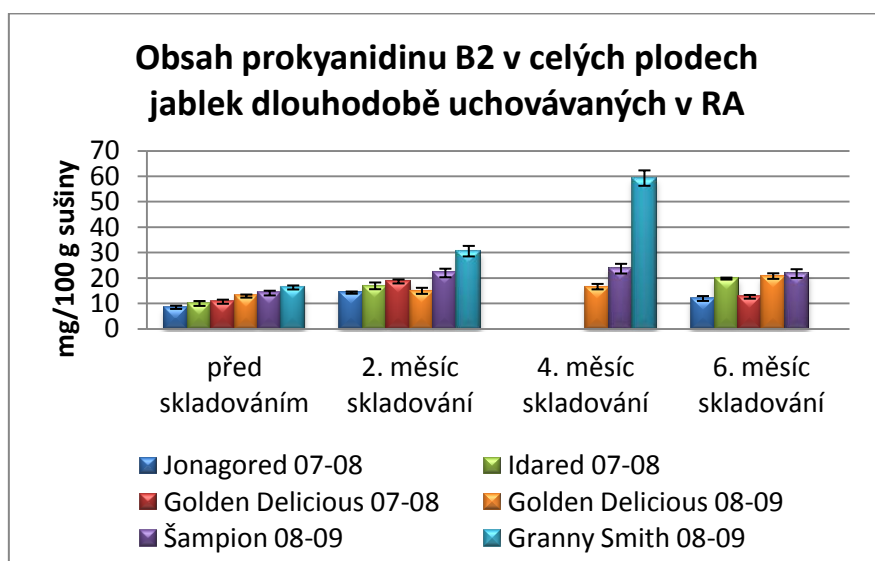


Tabulka č. 21: Obsah prokyanidinu B2 v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

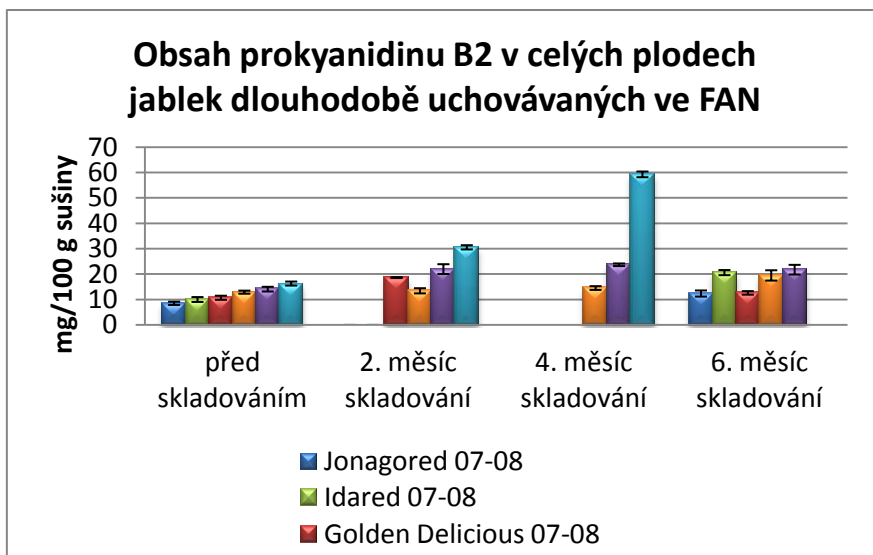
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	Odrůda/prokyanidin B2	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny
	Šampion	14,10 ± 0,93	22,00 ± 1,68	23,70 ± 1,90	21,77 ± 1,72
	Golden Delicious	12,92 ± 0,61	14,98 ± 1,19	16,63 ± 1,07	20,79 ± 1,10
	Granny Smith*	16,31 ± 0,79	30,58 ± 2,07	59,32 ± 3,03	-
Modifikovaná atmosféra	Odrůda/prokyanidin B2	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny	mg/100g sušiny
	Šampion	14,10 ± 0,93	16,82 ± 1,93	18,99 ± 0,52	22,68 ± 1,91
	Golden Delicious	12,92 ± 0,61	13,45 ± 1,02	14,54 ± 0,74	19,51 ± 2,03
	Granny Smith*	16,31 ± 0,79	19,96 ± 0,83	31,85 ± 1,13	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Stejně jako v předchozím testu, i zde se u zimní odrůdy jablek Granny Smith zvyšovala hladina prokyanidinu B2 v průběhu celého skladování v obou atmosférách. Z původního obsahu 12,9 mg/100 g sušiny došlo ke zvýšení na hodnotu 59,3 mg/100 g sušiny v plodech uchovávaných v RA. U plodů skladovaných v modifikované atmosféře došlo ke konci skladování ke zvýšení na 31,9 mg/100 g sušiny. Tato hodnota odpovídá těm, které byly naměřeny v plodech skladovaných v normální atmosféře avšak o 2 měsíce dříve. U velmi přezrálých plodů odrůdy Šampion je patrný jeho úbytek z hodnoty 23,7 na 21,8 mg/100g sušiny v závěru skladování.



Obrázek č. 40: Shrnutí výsledků prokyanidinu B2 v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 41:* Shrnutí výsledků prokyanidinu B2 v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Závěrem lze shrnout, že hladina prokyanidinu B2 se v průběhu uchovávání jablek významněji nemění a vzhledem k obsahu rovněž přispívá k nutriční kvalitě plodů.

### 5.1.8.3 Obsah katechinu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Katechiny jsou zástupci skupiny flavanolů. Patří k nim např. katechin, epikatechin, epigallokatechin a jejich estery s kyselinou galovou.

*Tabulka č. 22:* Obsah katechinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007-2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ katechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	13,16 ± 0,32	18,36 ± 0,69	64,65 ± 0,81
	Golden Delicious	30,10 ± 0,50	30,25 ± 0,83	36,14 ± 0,34
	Idared	19,53 ± 0,28	21,83 ± 0,72	77,98 ± 0,88
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ katechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	13,16 ± 0,32	-	70,15 ± 1,93
	Golden Delicious	30,10 ± 0,50	-	103,68 ± 3,02
	Idared	19,53 ± 0,28	-	99,34 ± 2,85

Množství katechinu v jablcích je podobné jako množství prokyanidinu B2. Ve všech vzorcích jablek bylo zjištěno postupné zvyšování obsahu katechinu s rostoucí dobou

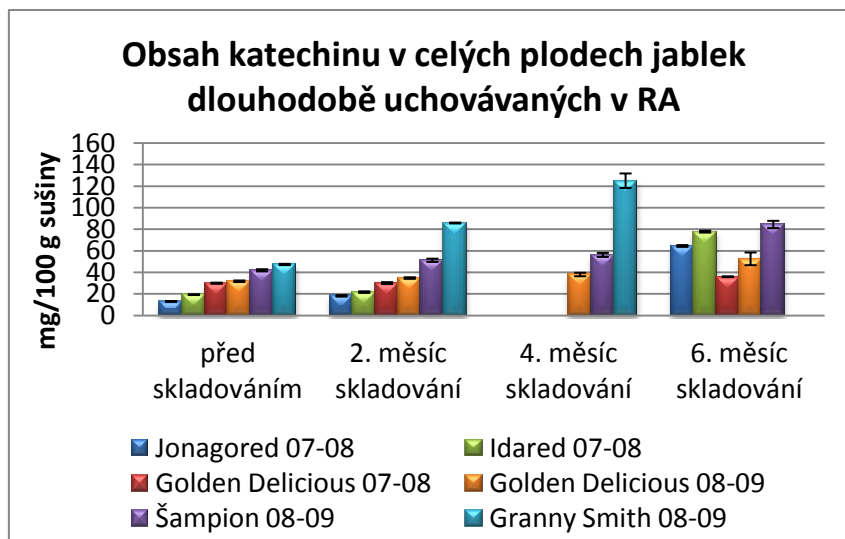
uchovávání. V jablcích odrůdy Golden Delicious bylo nalezeno největší množství katechinu. Před skladováním obsahovala jablka odrůdy Jonagored 13,2 mg katechinu/100 g sušiny, jablka odrůdy Idared 19,5 mg/100 g sušiny a Golden Delicious 30,1 mg/100 g sušiny. Na konci skladování byly naměřeny vyšší hodnoty katechinu u plodů skladovaných v modifikované atmosféře - v jablcích od. Jonagored vzrostla koncentrace katechinu 4násobně v obou skladovacích atmosférách; v jablcích od. Golden Delicious skladovaných v RA došlo k navýšení pouze o pětinu, ve vzorcích z FAN byl zjištěn 2,5násobný vzrůst hodnot; v jablcích od. Idared skladované v RA bylo zjištěno 3násobné zvýšení obsahu katechinu a ve FAN dokonce 4násobné zvýšení.

*Tabulka č. 23: Obsah katechinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008-2009*

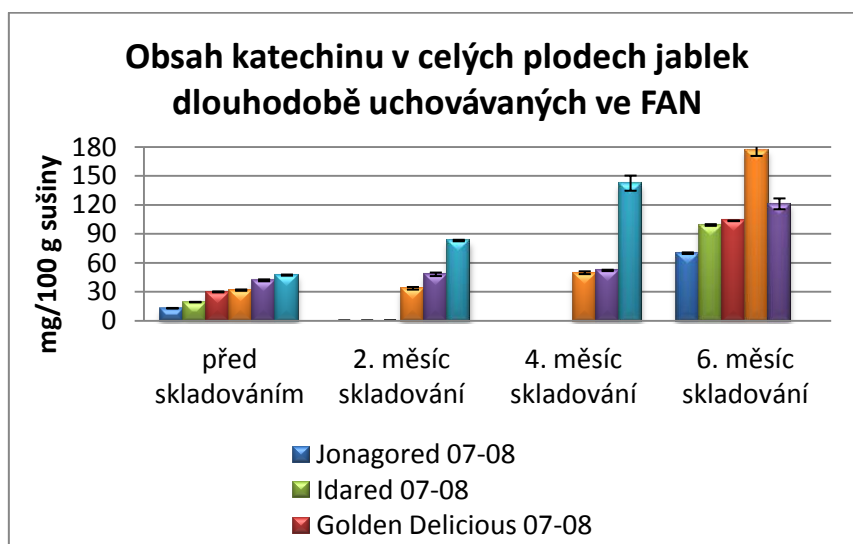
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ katechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	42,06 ± 0,98	51,35 ± 1,50	56,39 ± 1,87	84,59 ± 3,38
	Golden Delicious	31,93 ± 0,69	34,89 ± 0,72	38,17 ± 1,62	52,72 ± 5,91
	Granny Smith*	47,48 ± 0,56	85,97 ± 0,38	125,21 ± 6,73	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ katechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	42,06 ± 0,98	48,27 ± 1,83	52,34 ± 0,67	121,22 ± 5,63
	Golden Delicious	31,93 ± 0,69	33,83 ± 1,35	49,96 ± 1,44	177,07 ± 6,27
	Granny Smith*	47,48 ± 0,56	83,26 ± 0,78	142,61 ± 7,84	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Před skladováním bylo nejvyšší množství katechinu zjištěno v plodech odrůdy Granny Smith (47,5 mg/100 g sušiny). Naopak nejmenší množství bylo nalezeno u odrůdy Golden Delicious (31,9 mg/100 g sušiny). U odrůdy Šampion bylo naměřeno 42,1 mg katechinu ve 100 g sušiny. V plodech jablek skladovaných v obou atmosférách došlo k postupnému navýšení obsahu katechinu avšak vyšší hodnoty od čtvrtého měsíce skladování byly nalezeny u vzorků z modifikované atmosféry. U odrůdy Šampion došlo k navýšení katechinu na dvojnásobné množství v plodech z RA. V plodech z FAN bylo zjištěno dokonce 2,9násobné navýšení obsahu katechinu. U Golden Delicious bylo zjištěno navýšení na 1,7násobek ve vzorcích z RA a na 5,6násobek ve vzorcích z FAN. Jablka odrůdy Granny Smith skladovaná čtvrtý měsíc v RA vykazují navýšení katechinu na 2,6násobek původní hodnoty a jablka z FAN na 3násobek.



Obrázek č. 42: Shrnutí výsledků katechinu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



Obrázek č. 43: Shrnutí výsledků katechinu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Obsah katechinu v plodech jablek byl podobný jako u prokyanidinu B2, jedná se tedy o majoritní fenolickou látku významně přispívající k nutriční kvalitě plodů. V průběhu uchovávání postupně vzrůstal obsah katechinu ve vzorcích jablek, což může souviset s pochody posklizňového zrání a rovněž s postupným uvolňováním katechinů z vázaných přírodních struktur.

#### 5.1.8.4 Obsah katechingalátu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Katechingalát patří do skupiny látek s antioxidační aktivitou, která vychází ze základní struktury flavan-3-olu. Podmínky stanovení jsou stejné jako u stanovení katechinu.

*Tabulka č. 24:* Obsah katechingalátu v jablčích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ katechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	7,03 ± 0,23	14,34 ± 0,91	12,55 ± 1,12
	Golden Delicious	14,31 ± 0,39	19,81 ± 0,99	11,87 ± 0,95
	Idared	16,28 ± 0,71	20,56 ± 1,28	23,03 ± 0,63
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ katechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	7,03 ± 0,23	-	16,36 ± 0,75
	Golden Delicious	14,31 ± 0,39	-	27,17 ± 0,83
	Idared	16,28 ± 0,71	-	34,10 ± 1,48

Obsah katechingalátu byl v plodech jablek o něco nižší než v případě katechinu a rovněž průběh změn hladiny byl poněkud odlišnější. Nejvyšší množství katechingalátu před skladováním bylo nalezeno u odrůdy Idared (16,3 mg/100 g sušiny). Ve druhém měsíci skladování se jeho obsah ještě zvýšil, a to na hodnotu 20,6 mg/100 g sušiny. V šestém měsíci bylo naměřeno 23,0 mg katechingalátu ve 100 g sušiny. Naopak nejnižší množství bylo nalezeno v plodech odrůdy Jonagored před skladovacím procesem. Ve druhém měsíci uskladnění však došlo k jeho dvojnásobnému navýšení, a to na hodnotu 14,3 mg/100 g sušiny. Na konci skladování však byl naměřen jeho pokles o 13 %. U odrůdy Golden Delicious bylo na počátku skladování naměřeno 14,3 mg katechingalátu ve 100 g sušiny. Ve druhém měsíci došlo ke zvýšení o více než čtvrtinu. V závěru skladování byl zjištěn jeho úbytek na hodnotu 11,9 mg/100 g sušiny. Na konci skladovacího procesu v plodech uskladněných v modifikované atmosféře byly naměřeny nejvyšší hodnoty katechingalátu (Jonagored 16,4 mg/100 g sušiny; Golden Delicious 27,2 mg/100 g sušiny; 34,1 mg/100 g sušiny).

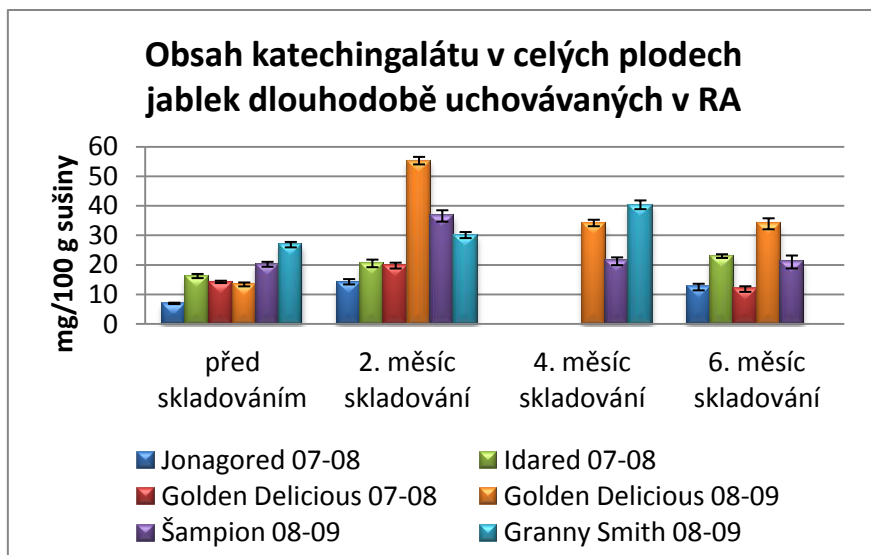
Tabulka č. 25: Obsah katechinalátu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ katechinalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	20,25 ± 0,84	36,62 ± 1,93	21,28 ± 1,32	21,04 ± 2,19
	Golden Delicious	13,44 ± 0,66	55,35 ± 1,27	34,24 ± 1,10	33,97 ± 1,86
	Granny Smith*	26,91 ± 0,92	30,15 ± 1,03	40,40 ± 1,48	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ katechinalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	20,25 ± 0,84	19,43 ± 0,92	27,87 ± 2,21	38,64 ± 1,47
	Golden Delicious	13,44 ± 0,66	22,09 ± 0,51	29,16 ± 1,53	39,93 ± 1,92
	Granny Smith*	26,91 ± 0,92	30,02 ± 1,03	55,90 ± 2,87	-

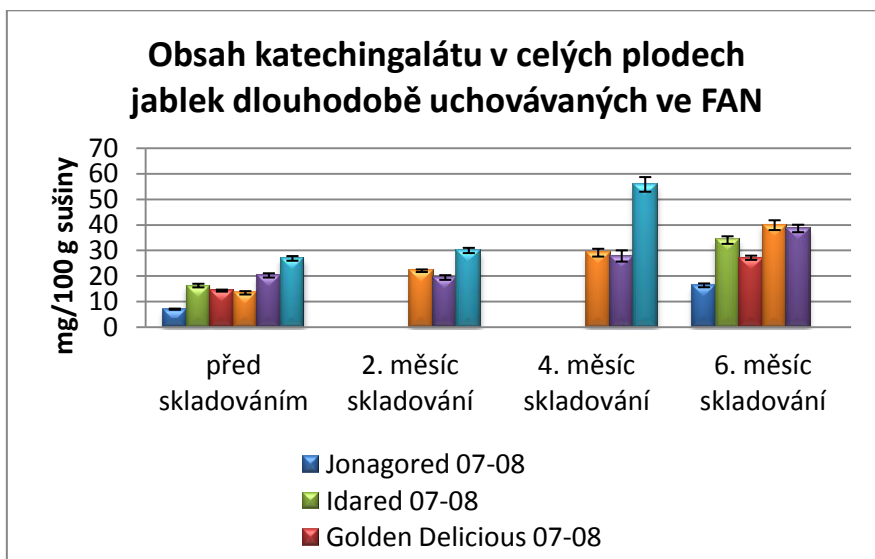
\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Stejně tak jako v testu z předchozího období byl vyšší obsah katechinalátu před skladováním nalezen u odrůdy s nejpozdější sklizňovou zralostí Granny Smith (26,9 mg/100 g sušiny). Ve druhém měsíci došlo ke zvýšení obsahu katechinalátu na 30 mg/100 g sušiny v obou atmosférách. Na konci skladovacího procesu bylo nalezeno ve vzorcích z normální atmosféry 40,4 mg/100 g sušiny a ještě vyšší množství – 55,9 mg/100 g sušiny ve vzorcích uskladněných v modifikované atmosféře. U jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v normální atmosféře došlo v průběhu prvních dvou měsíců k 4násobnému zvýšení obsahu katechinalátu na hodnotu 55,35 mg/100 g sušiny. Ve čtvrtém měsíci však byl zjištěn mírný pokles hodnot o třetinu na 34,2 mg/100 g sušiny, což může být částečně způsobeno hydrolyzou galátu. V šestém měsíci skladování zůstal obsah katechinalátu konstantní.

U plodů skladovaných v modifikované atmosféře došlo k postupnému zvyšování katechinalátu až na hodnotu 39,9 mg/100 g sušiny. Jablka odrůdy Šampion vykazují podobné změny obsahu katechinalátu v průběhu skladování jako jablka Golden Delicious. Zatímco v modifikované atmosféře došlo k postupnému navyšování jeho obsahu (z 20,3 na 38,7 mg/100 g sušiny), u plodů z normální atmosféry bylo zjištěno navýšení hodnot pouze ve druhém měsíci skladování, a to na hodnotu 36,6 mg/100 g sušiny. V průběhu dalších dvou měsíců došlo ke snížení katechinalátu na hodnotu 21,3 mg/100 g sušiny, která byla nalezena i v šestém měsíci skladování.



*Obrázek č. 44:* Shrnutí výsledků katechinalátu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 45:* Shrnutí výsledků katechinalátu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Vyšší obsah katechinalátu před skladováním byl nalezen u odrůd s pozdější sklizňovou zralostí - Granny Smith a Idared. V průběhu prvních dvou měsíců skladování došlo k navýšení hodnot katechinalátu ve všech skladovaných odrůdách jablek. Tyto změny jsou více patrné u jablek skladovaných v normální atmosféře.

### 5.1.8.5 Obsah epikatechinu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Jak je všeobecně známé, epikatechin má významné zastoupení mezi látkami s antioxidačním účinkem. Vyšší obsah epikatechinu obsahují zejména čokolády s vysokým podílem kaka, avšak také jablka obsahují poměrně výrazné množství epikatechinu.

*Tabulka č. 26:* Obsah epikatechinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	6,47 ± 0,73	20,42 ± 1,76	34,63 ± 2,83
	Golden Delicious	11,17 ± 0,91	15,94 ± 1,33	18,99 ± 1,44
	Idared	13,31 ± 0,98	27,98 ± 2,93	40,32 ± 3,02
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	6,47 ± 0,73	-	50,74 ± 4,92
	Golden Delicious	11,17 ± 0,91	-	56,53 ± 4,17
	Idared	13,31 ± 0,98	-	83,15 ± 5,46

Hladina epikatechinu se v jablcích před skladováním pohybovala od 6,5 do 13,3 mg/100 g sušiny. Největší množství bylo nalezeno v odrůdě Idared. Ve druhém měsíci skladování se jeho obsah zvýšil na 15,9 mg/100 g sušiny. Na konci skladování v RA byly naměřeny 3x vyšší hodnoty epikatechinu než na počátku skladování. V plodech uskladněných v modifikované atmosféře bylo naměřeno dokonce 6,2násobné zvýšení hodnot. Naopak nejnižší obsah epikatechinu byl nalezen v plodech odrůdy Jonagored před uskladněním (6,5 mg/100 g sušiny). V průběhu skladování se jeho obsah zvyšoval. Nejdříve na hodnotu 20,4 mg/100 g sušiny a poté na 34,6 mg/100 g sušiny (od počátku skladování 5,4násobné zvýšení) v plodech uskladněných v normální atmosféře. Jablka z modifikované atmosféry na konci skladování vykazovala hodnoty 50,7 mg epikatechinu ve 100 g sušiny (7,8násobné zvýšení). U jablek odrůdy Golden Delicious bylo naměřeno zvýšení hladiny epikatechinu nejprve na 1,4 násobek. Na konci skladování v normální atmosféře se hladina epikatechinu zvedla na hodnotu 19,0 mg/100 g sušiny (od počátku skladování 1,7násobek původní hodnoty). Jablka uskladněná v modifikované atmosféře obsahovala 56,5 mg epikatechinu ve 100 g sušiny (5násobek počáteční hodnoty).



Tabulka č. 27: Obsah epikatechinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

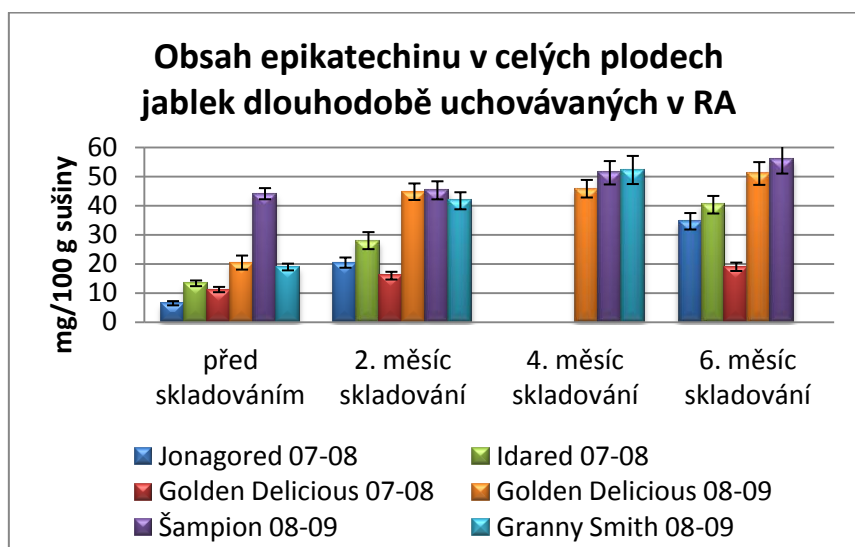
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/epikatechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	44,11 ± 1,92	45,27 ± 3,10	51,30 ± 4,02	56,04 ± 5,02
	Golden Delicious	20,44 ± 2,41	44,79 ± 2,84	45,82 ± 3,02	51,05 ± 3,91
	Granny Smith*	18,92 ± 1,16	41,68 ± 2,93	52,26 ± 4,83	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/epikatechin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	44,11 ± 1,92	42,69 ± 4,06	50,58 ± 3,88	58,60 ± 4,65
	Golden Delicious	20,44 ± 2,41	60,53 ± 3,72	74,25 ± 2,21	85,35 ± 3,46
	Granny Smith*	18,92 ± 1,16	47,95 ± 3,83	63,02 ± 2,75	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

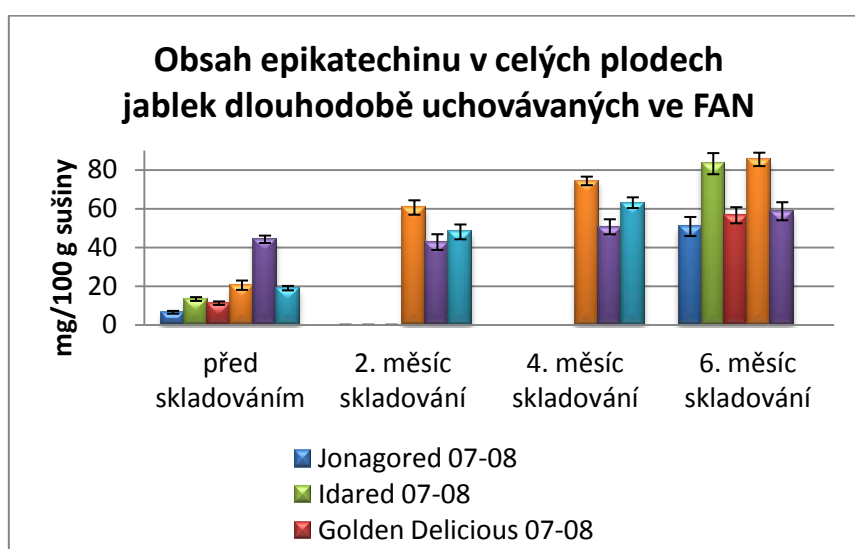
V průběhu skladování se hladina epikatechinu zvyšovala ve všech odrůdách jablek v obou skladovacích atmosférách. V odrůdě Šampion bylo na počátku skladovacího procesu nalezeno ve 100 g sušiny 44,1 mg epikatechinu. Tato hodnota se postupně zvyšovala nejprve o 3 % ve druhém měsíci skladování, o dalších 13 % ve čtvrtém měsíci skladování až dosáhla dalšího zvýšení o 9 % na hodnotu 56,0 mg/100 g sušiny v závěru skladování v normální atmosféře (navýšení epikatechinu od počátku skladování o více jak čtvrtinu). V plodech uskladněných v modifikované atmosféře byly nalezeny velmi podobné hodnoty. Zatímco v prvních měsících skladování byly naměřeny lehce nižší hodnoty než u plodů z RA, na konci skladování byl zjištěn vyšší obsah u plodů z FAN 58,6 mg/100 g sušiny (zvýšení o třetinu od počátku skladování). Jablka odrůdy Golden Delicious na počátku skladování obsahovala 20,4 mg epikatechinu ve 100 g sušiny, poté došlo ke zvýšení jeho obsahu na 2,2 násobek v průběhu prvních dvou měsíců a o 2 % v průběhu dalších dvou měsíců. V posledním měsíci skladování v normální atmosféře byla naměřena hladina epikatechinu o desetinu vyšší 51,1 mg/100 g sušiny (od počátku skladování 1,5x zvýšení).

U plodů skladovaných v atmosféře se sníženým obsahem kyslíku bylo naměřeno vyšší množství epikatechinu než v plodech z normální atmosféry. V průběhu prvních měsíců skladování došlo k dvojnásobnému zvýšení hodnot epikatechinu, ve čtvrtém měsíci se obsah zvýšil o další pětinu, až dosáhla hodnoty 85,4 mg/100 g sušiny (4násobné zvýšení původní hodnoty před uskladněním). Odrůda Granny Smith před uskladněním obsahovala nejmenší množství epikatechinu z testovaných odrůd 18,9 mg/100 g sušiny. Stejně tak jako v ostatních odrůdách se i u Granny Smith zvyšoval jeho obsah. V prvních měsících skladování v normální atmosféře byly naměřeny hodnoty 41,7 mg/100 g sušiny (2,2x vyšší hodnoty), ve čtvrtém měsíci pak 52,3 mg/100 g sušiny (navýšení epikatechinu od počátku skladování na 2,8násobek). U plodů skladovaných v modifikované atmosféře bylo zjištěno 48,0 mg

epikatechinu ve 100 g sušiny (2,5násobně více) v prvních dvou měsících skladování. Ve čtvrtém měsíci došlo k navýšení na 63,1 mg/100 g sušiny (3násobek počáteční hodnoty).



*Obrázek č. 46:* Shrnutí výsledků epikatechinu v jablecích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 47:* Shrnutí výsledků epikatechinu v jablecích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Epikatechin patří k významnějším zástupcům fenolických látek v plodech jablek. Podobně jako u předchozích derivátů katechinů i v případě epikatechinu došlo k postupnému zvýšení a poté stagnaci hladiny epikatechinu v RA a k významnějšímu poklesu ve FAN, kde jsou metabolické pochody zpomaleny a pravděpodobně je i jinými mechanismy aktivován antioxidační komplex.

### 5.1.8.6 Obsah epikatechingalátu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Další látkou, která chrání organismus před negativními účinky volných radikálů je epikatechingalát, patřící do skupiny flavanolů.

*Tabulka č. 28:* Obsah epikatechingalátu v jablčích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	7,21 ± 0,58	11,37 ± 0,98	8,80 ± 0,63
	Golden Delicious	11,62 ± 0,82	20,62 ± 1,35	7,83 ± 0,56
	Idared	7,04 ± 0,64	9,44 ± 0,77	9,92 ± 0,62
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	7,21 ± 0,58	-	12,92 ± 0,94
	Golden Delicious	11,62 ± 0,82	-	18,47 ± 1,10
	Idared	7,04 ± 0,64	-	23,81 ± 1,59

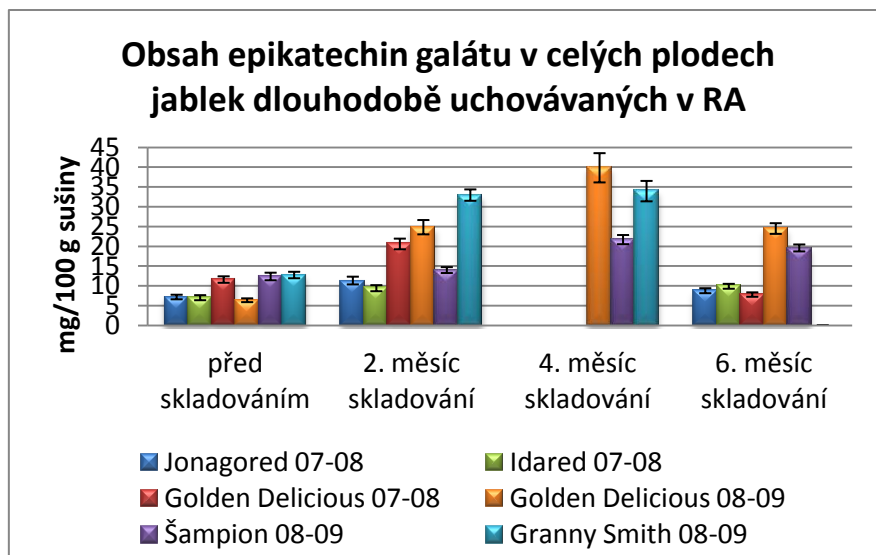
Jablka odrůdy Idared ihned po sklizni obsahovala nejnižší množství epikatechingalátu 7,0 mg/100 g sušiny, které se však v průběhu celého skladování v normální atmosféře postupně zvyšovalo až na hodnotu 9,9 mg/100 g sušiny (celkové zvýšení na 1,4násobek pův. hodnot), u jablek skladovaných v modifikované atmosféře hladina epikatechingalátu vzrostla až na hodnotu 23,8 mg/100 g sušiny (3,4násobek pův. hodnot) a byla tak z jednou nejvyšších naměřených hodnot. U plodů Golden Delicious došlo ke zvýšení hladiny epikatechingalátu z hodnoty 11,6 mg na 206 mg/100 g sušiny a u Jonagored z 7,2 mg na 11,4 mg/100 g sušiny. V šestém měsíci skladování však byla zaznamenána jeho nižší hladina 7,8 mg/100 g sušiny u Golden Delicious a 8,8 mg/100 g sušiny u Jonagored. Při skladování v modifikované atmosféře byly zaznamenány mnohem vyšší hladiny 18,5 mg/100 g sušiny v odrůdě Golden Delicious (1,6x zvýšení) a 12,9 mg/100 g sušiny u Jonagored (1,8x zvýšení).

Tabulka č. 29: Obsah epikatechingalátu v jablkách dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

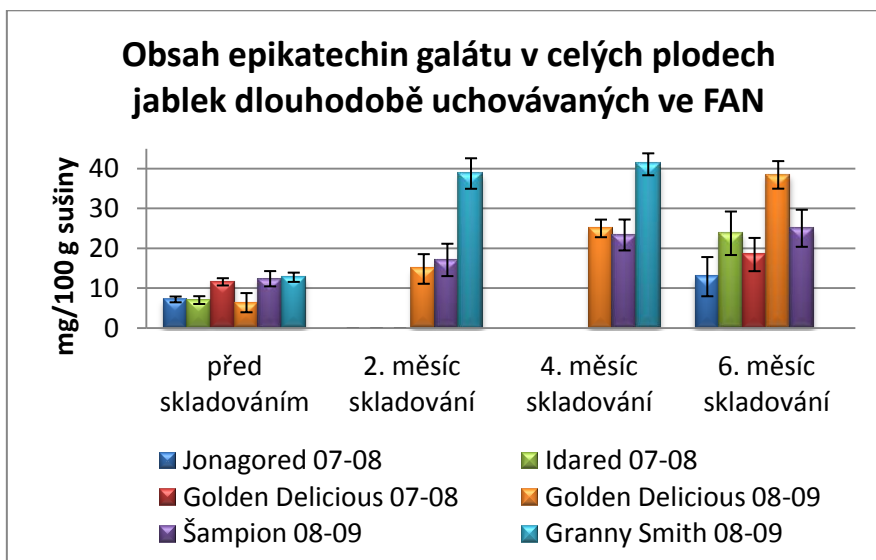
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	12,40 ± 0,96	14,02 ± 0,75	21,72 ± 1,16	19,61 ± 0,88
	Golden Delicious	6,39 ± 0,48	24,86 ± 1,81	39,88 ± 3,70	24,52 ± 1,35
	Granny Smith*	12,77 ± 0,82	32,97 ± 1,44	33,98 ± 2,58	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ epikatechingalát</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	12,40 ± 0,96	17,12 ± 0,93	23,38 ± 1,85	25,06 ± 1,22
	Golden Delicious	6,39 ± 0,48	14,85 ± 1,52	25,03 ± 1,64	38,46 ± 3,76
	Granny Smith*	12,77 ± 0,82	38,80 ± 1,90	41,12 ± 3,22	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Do čtvrtého měsíce skladování jablek v normální atmosféře se hladina epikatechingalátu zvyšovala. V šestém měsíci byly naměřeny již nižší hodnoty. Jablka odrůdy Šampion na počátku skladování obsahovala 12,4 mg epikatechingalátu ve 100 g sušiny, ve čtvrtém měsíci se jeho hladina zvýšila na hodnotu 21,7 mg/100 g sušiny, poté došlo k jejímu poklesu na hodnotu 19,6 mg/100 g sušiny. U jablek Golden Delicious v průběhu čtyř měsíců bylo zjištěno výrazné zvýšení epikatechingalátu z hodnoty 6,4 mg na 39,9 mg/100 g sušiny (6násobek pův. hodnoty). V šestém měsíci skladování byla naměřena hodnota 24,5 mg/100 g sušiny. V plodech Granny Smith byl zjištěn nárůst hodnot z 12,8 mg na 34,0 mg/100 g sušiny (zvýšení 2,7x). Jablka uskladněná v modifikované atmosféře postupně zvyšovala obsah epikatechingalátu v průběhu celého skladování. U odrůdy Šampion došlo ke 2násobnému zvýšení hodnot epikatechingalátu (25,1 mg/100 g sušiny), u Golden Delicious 6násobnému zvýšení (38,5 mg/100 g sušiny). U odrůdy Granny Smith se hodnota epikatechingalátu zvýšila trojnásobně (41,1 mg/100 g sušiny).



*Obrázek č. 48:* Shrnutí výsledků epikatechingalátu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 49:* Shrnutí výsledků epikatechingalátu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Hladiny epikatechingalátu se měnily podobně jako v případě katechingalátu; na přírůstku epikatechinu může mít podíl i částečná hydrolyza galátů. Veškeré deriváty katechinů i epikatechinů jsou významnou součástí plodů jablek a přispívají k nutriční kvalitě plodů. Zůstávají zachovány v plodech i v průběhu dlouhodobého uchování podobně jako většina ostatních látek s antioxidačním účinkem.

### 5.1.8.7 Obsah florizinu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Florizin je typický flavonoid přítomný zejména v plodech jablek, kde přispívá k jejich barvě i typickému aroma. I přes nižší zastoupení patří k hlavním flavonoidům jablek a přispívá k jejich nutriční hodnotě.

*Tabulka č. 30:* Obsah florizinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ florizin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	9,96 ± 1,01	10,99 ± 0,83	8,63 ± 0,72
	Golden Delicious	7,23 ± 0,57	10,57 ± 0,95	7,37 ± 0,61
	Idared	9,18 ± 0,84	9,17 ± 0,68	9,55 ± 0,73
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ florizin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Jonagored	9,96 ± 1,01	-	11,89 ± 1,23
	Golden Delicious	7,23 ± 0,57	-	10,48 ± 1,04
	Idared	9,18 ± 0,84	-	10,72 ± 0,94

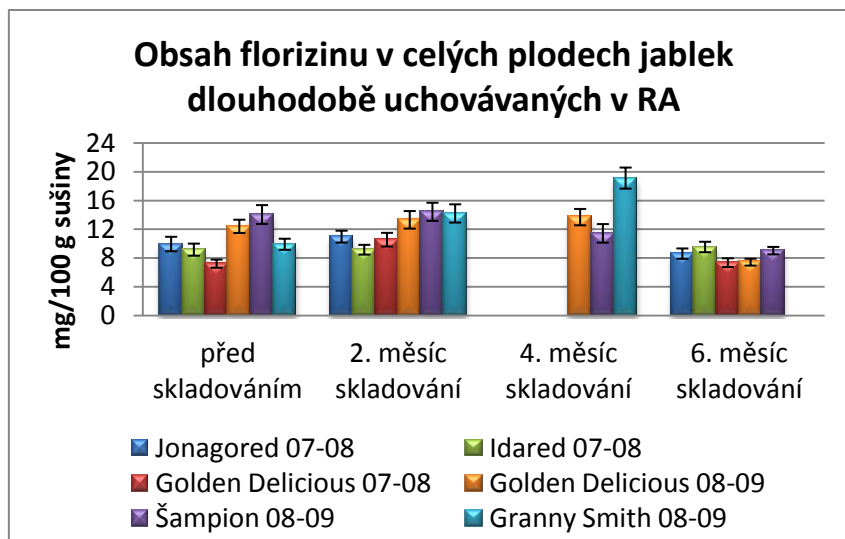
Hladina florizinu se v průběhu prvních dvou měsíců skladování v normální atmosféře zvyšovala. U jablek odrůdy Jonagored bylo zaznamenáno zvýšení o desetinu z původní hodnoty 10,0 mg/100 g sušiny. V šestém měsíci však tato hodnota poklesla na 8,6 mg/100 g sušiny. U Golden Delicious bylo zjištěno zvýšení hladiny skoro o polovinu z hodnoty 7,2 mg/100 g sušiny. V šestém měsíci byla také zaznamenána nižší hodnota 7,4 mg/100 g sušiny. U odrůdy Idared byla v každém měření zjištěna vyšší hodnota florizinu. Z původních 9,2 mg na počátku skladování došlo k lehkému navýšení o 4 % na hodnotu 9,6 mg/100 g sušiny v šestém měsíci skladování. Jablka skladovaná v modifikované atmosféře měla na konci skladovacího procesu nejvyšší obsah florizinu. U jablek odrůdy Jonagored byla naměřena hodnota 11,9 mg/100 g sušiny, což je o pětinu více než na počátku skladování. U odrůdy Golden Delicious bylo zjištěno zvýšení hladiny florizinu o cca polovinu (na 10,5 mg/100 g sušiny), u jablek odrůdy Idared to bylo zvýšení o necelou pětinu (na 10,7 mg/100 g sušiny).

Tabulka č. 31: Obsah florizinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

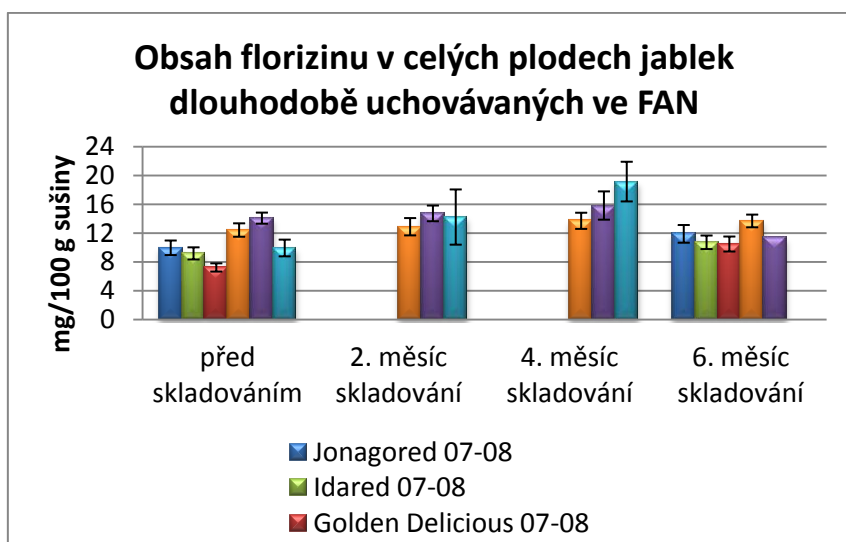
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ florizin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	14,07 ± 1,31	14,45 ± 1,26	11,45 ± 1,29	9,04 ± 0,52
	Golden Delicious	12,42 ± 0,93	13,33 ± 1,22	13,71 ± 1,14	7,44 ± 0,48
	Granny Smith*	9,93 ± 0,77	14,22 ± 1,27	19,14 ± 1,47	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ florizin</b>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>	<i>mg/100g sušiny</i>
	Šampion	14,07 ± 1,31	14,73 ± 1,36	15,82 ± 1,36	11,32 ± 0,71
	Golden Delicious	12,42 ± 0,94	12,88 ± 1,20	13,70 ± 1,12	13,68 ± 0,88
	Granny Smith*	9,93 ± 0,77	13,51 ± 1,09	21,79 ± 1,97	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Hladina florizinu se v plodech jablek zvyšovala do doby, kdy dosáhla konzumní zralosti, poté došlo k jejímu postupnému snižování. Nejvyšší obsah florizinu před skladováním byl nalezen u odrůdy Šampion 14,1 mg/100 g sušiny. Ve druhém měsíci skladování v normální atmosféře došlo k jeho zvýšení na hodnotu 14,5 mg/100 g sušiny, poté se už jeho hladina snižovala, až v šestém měsíci dosáhla hodnoty 9,0 mg/100 g sušiny. V plodech skladovaných v modifikované atmosféře byly naměřeny podobné hodnoty, avšak ke snížení hladiny florizinu došlo až ve čtvrtém měsíci skladování (oproti RA ve druhém měsíci), kde bylo zjištěno 15,8 mg florizinu ve 100 g sušiny. V šestém měsíci hladina poklesla na hodnotu 11,3 mg/100 g sušiny. Jablka odrůdy Golden Delicious skladované v normální atmosféře zvyšovala hladinu florizinu až do čtvrtého měsíce skladování z hodnoty 12,4 na 13,7 mg/100 g sušiny. Na konci skladování v šestém měsíci byl pak zaznamenán jeho výrazný úbytek 7,4 mg/100 g sušiny. U plodů uchovávaných v modifikované atmosféře byl zjištěn nárůst hodnot florizinu do čtvrtého měsíce na 15,8 mg/100 g sušiny, poté již obsah florizinu zůstal konstantní. V odrůdě Granny Smith bylo zjištěno postupné zvyšování hladiny florizinu v průběhu celého skladovacího procesu. V plodech uskladněných v normální atmosféře došlo během čtyř měsíců ke zvýšení jeho hladiny z hodnoty 9,9 mg na 19,1 mg/100 g sušiny (cca na dvojnásobek pův. hodnoty). U plodů z modifikované atmosféry bylo naměřeno zvýšení na 21,8 mg/100 g sušiny (navýšení na 2,2násobek pův. hodnoty).



*Obrázek č. 50:* Shrnutí výsledků florizinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 51:* Shrnutí výsledků florizinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Souhrnně lze ohledně hladin majoritních individuálních fenolických látek konstatovat, že tvoří převážnou část celkových polyfenolů a představují nutričně významnou složku plodů jablek. Zastoupení jednotlivých derivátů je specifické pro odrůdy, ale řádově se příliš neliší.

Jablka rané odrůdy Jonagored byla ze všech testovaných odrůd nejchudší na většinu fenolických látek – obsahovala nejmenší množství kyseliny chlorogenové, prokyanidinu B2, katechinu, epikatechinu. Naopak nejvíce kyseliny chlorogenové a epikatechinu bylo nalezeno v jablečích odrůdy Šampion. Nejvíce prokyanidinu B2 a katechinů bylo nalezeno u odrůdy Granny Smith. Srovnáním hodnot obsahu kyseliny chlorogenové v plodech skladovaných



v odlišných atmosférách ve stejných intervalech skladování lze jednoznačně říct, že zároveň se stárnutím plodů a jejich dozráváním se zvyšuje obsah kyseliny chlorogenové. V přezrálých plodech jablek však došlo k jejímu úbytku. Plody v modifikované atmosféře se zpomaleným dozráváním obsahují méně kyseliny chlorogenové než stejně staré plody skladované v modifikované atmosféře.

Zastoupení prokyanidinu B2 se v testovaných odrůdách jablek příliš nelišilo, jeho hladina v průběhu skladování kopírovala stoupající a klesající tendence celkové antioxidační aktivity. V závěru skladování došlo k poklesu hladiny prokyanidinu B2 u rannějších odrůd Jonagored, Šampion. V jablečích zimní odrůdy Idared a Granny Smith se obsah prokyanidinu B2 zvyšoval po celou dobu skladování. Volba skladovací atmosféry nemá na obsah prokyanidinu B2 výrazný vliv.

V průběhu skladování bylo zjištěno postupné zvyšování obsahu katechinu ve všech vzorcích jablek. Od čtvrtého měsíce skladování byla naměřena vyšší hladina katechinu v jablečích uskladněných v modifikované atmosféře na rozdíl od jablek z normální atmosféry. Vyšší obsah katechingalátu před skladováním byl nalezen u odrůd s pozdější sklizňovou zralostí - Granny Smith a Idared. V průběhu prvních dvou měsíců skladování došlo k navýšení hodnot katechingalátu ve všech skladovaných odrůdách jablek. Tyto změny jsou více patrné u jablek skladovaných v normální atmosféře. Během dalších čtyř měsíců se v plodech uskladněných ve FAN pozvedla hladina katechingalátu na hodnoty naměřené v jablečích z RA ve druhém měsíci. Ve čtvrtém a šestém měsíci skladování poklesla hladina katechingalátu v jablečích uskladněných v RA. Zdá se, že s postupným dozráváním plodů do konzumační zralosti se zvyšuje obsah katechingalátu, s dalším stárnutím plodů jeho hladina klesá.

Hladina epikatechinu se v průběhu skladování rovněž postupně zvyšovala ve všech odrůdách jablek v obou skladovacích atmosférách, přičemž vyšší hodnoty byly nalezeny u jablek skladovaných v modifikované atmosféře. Množství epikatechingalátu se v jablečích před uskladněním příliš nelišilo. Do čtvrtého měsíce skladování jablek v normální atmosféře se hladina epikatechingalátu zvyšovala a v šestém měsíci byl zaznamenán její pokles. V jablečích uskladněných v modifikované atmosféře se hodnoty epikatechingalátu zvyšovaly v průběhu celého skladování.

Na počátku skladování se množství florizinu v rozdílných odrůdách jablek příliš nelišilo. Největší obsah florizinu byl zjištěn v jablečích ranných odrůd - Jonagored a Šampion. Zimní odrůdy jablek obsahovaly méně florizinu, jeho hladina se zvyšovala do dosažení konzumní zralosti a poté se postupně snižovala. Zatímco předchozí fenolické látky mají podíl zřejmě zejména na antioxidačních vlastnostech plodů, z průběhu hodnot floridzinu je patrné, že pokles v průběhu posklizňového dozrávání a dalšího uchovávání má za následek postupnou ztrátu typické chuti, vůně a částečně i barvy jablek, tento flavonoid se tedy podílí nejen na nutričních, ale významně i na sensorických charakteristikách jablek.

### 5.1.8.8 Obsah rutinu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Následující část je zaměřena na sledování minoritních flavonoidů a jejich změn v průběhu uchování jablek. Tyto deriváty jsou zastoupeny v mikrogramových množstvích (na rozdíl od předchozí skupiny fenolických látek zastoupených v miligramech na 100 g sušiny), avšak mohou se významně podílet na sensorických a nutričních vlastnostech jablek a vykazovat významné biologické funkce, zejména jako antioxidanty.

*Tabulka č. 32:* Obsah rutinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ rutin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Jonagored	148,80 ± 13,28	254,81 ± 19,35	987,44 ± 77,36
	Golden Delicious	272,94 ± 22,70	326,06 ± 27,48	456,84 ± 35,29
	Idared	265,71 ± 23,73	356,74 ± 31,39	953,79 ± 86,41
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ rutin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Jonagored	148,80 ± 13,28	-	1092,51 ± 94,80
	Golden Delicious	272,94 ± 22,70	-	1151,46 ± 116,33
	Idared	265,71 ± 23,73	-	1044,37 ± 84,30

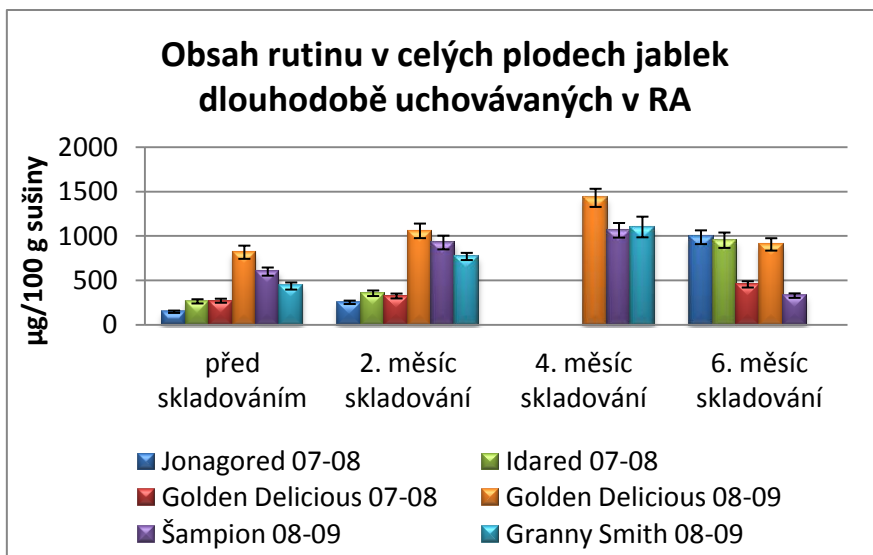
Množství rutinu obsaženého v plodech jablek po sklizni se pohyboval od 149 μg do 273 μg/100 g sušiny. Jablka odrůdy Jonagored obsahovala na počátku skladování 149 μg rutinu ve 100 g sušiny. Ve druhém měsíci skladování v normální atmosféře se obsah rutinu zvýšil na 255 μg/100 g sušiny. Na konci skladování byla zjištěna hodnota 987 μg/100g sušiny (6násobné navýšení počáteční hodnoty). U jablek skladovaných v modifikované atmosféře byla naměřena ještě vyšší hodnota 1093 μg/100 g sušiny (zvýšení cca 7x) U jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v normální atmosféře takový nárůst hodnot rutinu jako u odrůdy Jonagored nebyl zjištěn. Z původní hodnoty 273 μg rutinu ve 100 g sušiny došlo k jejímu navýšení na 326 μg/100 g sušiny v prvních dvou měsících skladování. V šestém měsíci byla zjištěna hodnota 457 μg/100 g sušiny (navýšení počáteční hodnoty o dvě třetiny). V plodech uskladněných v modifikované atmosféře se hladina rutinu zvýšila až na 1151 μg/100 g sušiny (zvýšení počáteční hodnoty cca 4x). Jablka odrůdy Idared na počátku skladování obsahovala 266 μg rutinu ve 100 g sušiny. V prvních dvou měsících skladování došlo k navýšení hodnot na 357 μg/100g sušiny. V šestém měsíci skladování v normální atmosféře pak byla zjištěna hodnota 954 μg rutinu/100 g sušiny, u jablek skladovaných v modifikované atmosféře pak 1044 μg/100 g sušiny. Celkově tak došlo ke 4násobnému zvýšení obsahu rutinu od počátku skladování.

Tabulka č. 33: Obsah rutinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

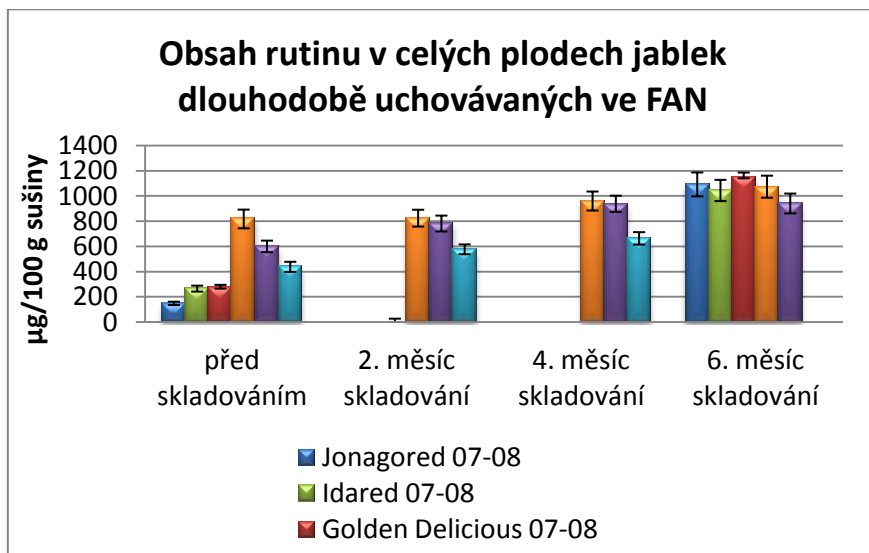
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ rutin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Šampion	600,67 ± 45,94	927,96 ± 77,18	1065,41 ± 82,27	330,20 ± 25,37
	Golden Delicious	818,44 ± 74,31	1059,24 ± 81,93	1430,79 ± 102,09	906,66 ± 69,63
	Granny Smith*	438,45 ± 40,13	771,02 ± 40,55	1102,80 ± 116,18	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ rutin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Šampion	600,67 ± 45,94	782,02 ± 62,99	938,96 ± 64,02	941,13 ± 78,79
	Golden Delicious	818,44 ± 74,31	824,87 ± 66,84	960,73 ± 66,84	1074,42 ± 87,38
	Granny Smith*	438,45 ± 40,13	577,40 ± 39,05	664,23 ± 39,06	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Jablka odrůdy Granny Smith obsahovala na počátku skladování nejmenší množství rutinu (438 μg/100 g sušiny) z testovaných odrůd. V průběhu skladování se jeho obsah postupně zvyšoval, ve čtvrtém měsíci dosáhl hodnoty 1103 μg/100 g sušiny jablek z normální atmosféry (navýšení na 2,5 násobek) a 664 μg/100 g sušiny jablek z FAN (zvýšení o polovinu). Jablka odrůdy Golden Delicious na počátku skladování obsahovala naopak největší množství rutinu (818 μg/100 g sušiny). V průběhu druhého a čtvrtého měsíce skladování v RA došlo k nárůstu hodnot rutinu na 1431 μg/100 sušiny. V šestém měsíci pak hladina rutinu poklesla na 907 μg/100 g sušiny. Plody jablek skladované v modifikované atmosféře postupně navýšovaly obsah rutinu až do šestého měsíce až na hodnotu 1074 μg/100 g sušiny. Podobně na tom byla i jablka odrůdy Šampion. Plody uchovávané v modifikované atmosféře zvyšovaly obsah rutinu až do šestého měsíce skladování na hodnotu 941 μg/100 g sušiny, zatímco plody uskladněné v normální atmosféře jen do čtvrtého měsíce na hladinu 1065 μg/100 g sušiny. V šestém měsíci skladování byl zjištěn velký pokles hladiny rutinu na 330 μg/100 g sušiny.



*Obrázek č. 52:* Shrnutí výsledků rutinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 53:* Shrnutí výsledků rutinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Změny obsahu rutinu jsou značně závislé na odrůdě, obecně je však průběh v RA spíše kolísavý, u FAN v některých případech však výrazně vzrůstá, zejména u jablek s kratší dobou trvanlivosti.

### 5.1.8.9 Obsah morinu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Morin patří rovněž k minoritním fenolickým látkám, podílí se na chuťových a nutričních charakteristikách plodů.

*Tabulka č. 34:* Obsah morinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ morin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Jonagored	706,26 ± 50,99	606,72 ± 42,84	250,65 ± 11,30
	Golden Delicious	448,32 ± 31,93	356,68 ± 22,03	116,80 ± 10,72
	Idared	521,62 ± 30,68	413,30 ± 21,87	156,91 ± 9,28
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ morin</b>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>	<i>μg/100g sušiny</i>
	Jonagored	706,26 ± 50,99	-	260,05 ± 15,79
	Golden Delicious	448,32 ± 31,93	-	177,65 ± 10,55
	Idared	521,62 ± 30,68	-	299,99 ± 16,40

Zatímco se v průběhu skladování obsah rutinu zvyšoval, u morinu bylo zjištěno jeho pozvolné ubývání. Nejnižší obsah morinu byl zjištěn u odrůdy Golden Delicious. Z původní hodnoty (před skladováním) 448 μg morinu ve 100 g sušiny bylo na konci skladování v normální atmosféře naměřeno 117 μg/100 g sušiny (pokles na třetinu původní hodnoty), u plodů z modifikované atmosféry pak 178 μg/100 g sušiny (pokles na 40 % původní hodnoty). Naopak nejvyšší množství morinu bylo nalezeno v plodech odrůdy Jonagored. Na počátku skladování jablka obsahovala 706 μg morinu ve 100 g sušiny, na konci skladování v normální atmosféře bylo naměřeno 250 μg/100 g sušiny (pokles na třetinu původní hodnoty). Jablka uskladněná v modifikované atmosféře obsahovala podobné množství morinu jako u jablek z normální atmosféry 260 μg/100 g sušiny (pokles na třetinu). Jablka odrůdy Idared obsahovala 522 μg morinu/100 g sušiny na počátku skladování. Na konci skladování v normální atmosféře bylo naměřeno jen 157 μg morinu ve 100 g sušiny (pokles na třetinu). U jablek uskladněných v modifikované atmosféře bylo zjištěno dvojnásobné množství morinu 300 μg/100 g sušiny (celkově pokles cca na polovinu).

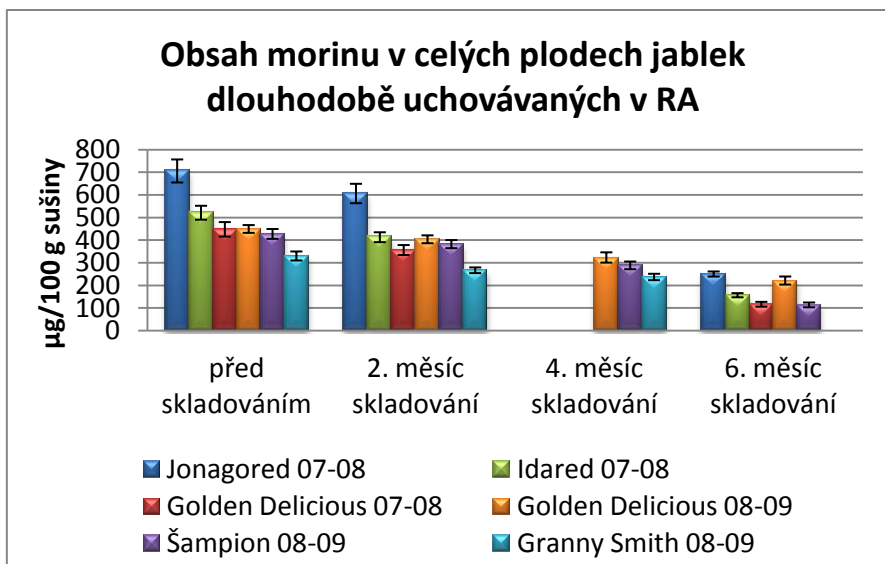
Tabulka č. 35: Obsah morinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ morin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	427,93 ± 21,84	382,84 ± 17,93	288,90 ± 16,94	114,01 ± 10,73
	Golden Delicious	449,83 ± 17,27	404,19 ± 17,45	323,74 ± 22,80	221,77 ± 17,83
	Granny Smith*	330,47 ± 19,94	267,22 ± 12,66	237,54 ± 14,16	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ morin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	427,93 ± 21,84	396,49 ± 22,86	304,82 ± 17,67	146,68 ± 12,85
	Golden Delicious	449,83 ± 17,27	414,01 ± 31,84	394,57 ± 22,52	355,14 ± 26,16
	Granny Smith*	330,47 ± 19,94	311,05 ± 19,03	275,63 ± 15,39	-

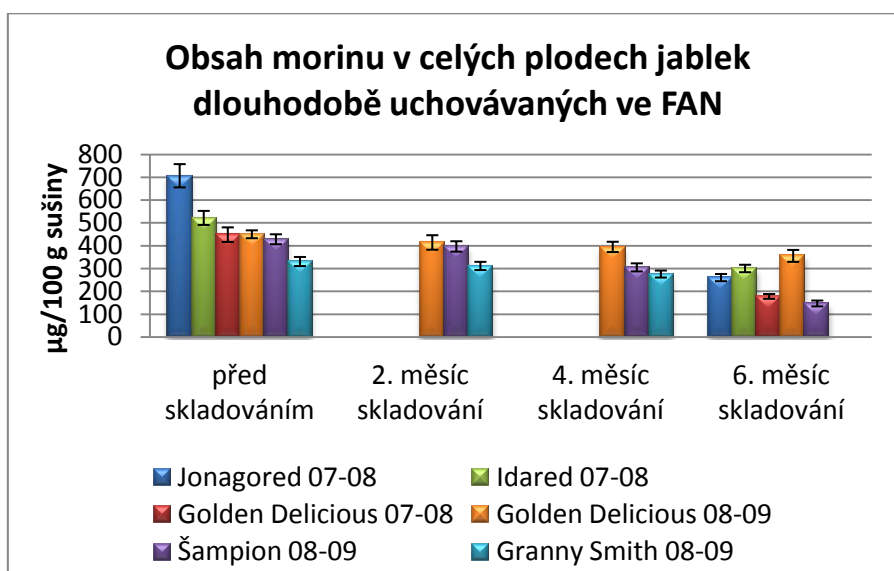
\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Stejně jako v předchozím testu došlo k postupnému úbytku morinu v plodech jablek v obou skladovacích atmosférách. Nejbohatší odrůdou na obsah morinu se jeví odrůda Golden Delicious s 450  $\mu\text{g}$  ve 100 g sušiny. V průběhu skladování došlo k jeho poklesu až na hodnoty 222  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny (pokles na polovinu původní hodnoty) v plodech uskladněných v normální atmosféře a na 355  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny (pokles na  $\frac{3}{4}$  hodnoty) v plodech z modifikované atmosféry. Jen o něco méně morinu bylo nalezeno v plodech odrůdy Šampion 428  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny. U této odrůdy byl zjištěn největší úbytek morinu z testovaných odrůd. Největší pokles byl zaznamenán mezi čtvrtým a šestým měsícem skladování v obou atmosférách. U jablek skladovaných v normální atmosféře bylo na konci skladování naměřeno 114  $\mu\text{g}$  morinu ve 100 g sušiny (pokles na čtvrtinu původní hodnoty), u plodů z atmosféry se sníženým obsahem kyslíku pak 147  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny (pokles na třetinu hodnoty). U jablek odrůdy Granny Smith byl zjištěn nejmenší úbytek morinu. Před skladováním jablka obsahovala 330  $\mu\text{g}$  morinu ve 100 g sušiny. V průběhu dalších čtyř měsíců skladování v normální atmosféře hladina morinu poklesla na 238  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny (pokles na  $\frac{3}{4}$  původní hodnoty), v plodech uskladněných v modifikované atmosféře na 276  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny (pokles na cca  $\frac{2}{5}$  původní hodnoty).

Ze získaných dat je patrné, že pokles hodnot morinu v průběhu uchovávání může souviset s postupnou změnou senzorických a chuťových vlastností plodů jablek. Postupný pokles obsahu byl pozorován v obou atmosférách, ve FAN byl úbytek poněkud pomalejší.



Obrázek č. 54: Shrnutí výsledků morinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



Obrázek č. 55: Shrnutí výsledků morinu v jablečích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

### 5.1.8.10 Obsah kvercetinů v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Další, spíše minoritní, zástupce fenolických látek analyzovaný v průběhu uchovávání – kvercetin je aglykonem rutinu.

*Tabulka č. 36:* Obsah kvercetinů v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ kvercetin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	$208,06 \pm 10,62$	$170,01 \pm 8,77$	$32,64 \pm 1,70$
	Golden Delicious	$144,02 \pm 8,73$	$139,64 \pm 5,24$	$6,90 \pm 0,51$
	Idared	$147,64 \pm 6,99$	$119,58 \pm 4,05$	$16,39 \pm 0,46$
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ kvercetin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	$208,06 \pm 10,62$	-	$23,12 \pm 1,68$
	Golden Delicious	$144,02 \pm 8,73$	-	$38,85 \pm 1,82$
	Idared	$147,64 \pm 6,99$	-	$19,29 \pm 0,52$

Hladina kvercetinů v plodech jablek se v průběhu skladování snižovala v obou atmosférách podobně, jako tomu bylo u morinu. Na začátku skladování se obsah kvercetinů pohyboval od 144  $\mu\text{g}$  do 208  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$ . V šestém měsíci hladina kvercetinů rapidně poklesla na hodnoty 7 až 39  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$ . U jablek odrůdy Jonagored uchovávaných v normální atmosféře klesla hladina kvercetinů z 208  $\mu\text{g}$  na 33  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  (celkový pokles na patnáctinu původní hodnoty). U plodů z modifikované atmosféry byl naměřen větší úbytek kvercetinů, a to na hodnotu 23  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  (pokles na desetinu pův. hodnoty). U jablek Golden Delicious klesla hladina kvercetinů z původních 144  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  na 7  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  (pokles obsahu kvercetinů na dvacetinu původní hodnoty) při uskladnění v normální atmosféře a na 39  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  (pokles na čtvrtinu pův. hodnoty) při uskladnění v atmosféře se sníženým obsahem kyslíku. V plodech odrůdy Idared byl zaznamenán pokles kvercetinů z hodnoty 148  $\mu\text{g}$  na 16  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  uskladněných v RA a 19  $\mu\text{g}/100\text{ g sušiny}$  uskladněných ve FAN (pokles cca na desetinu hodnoty).

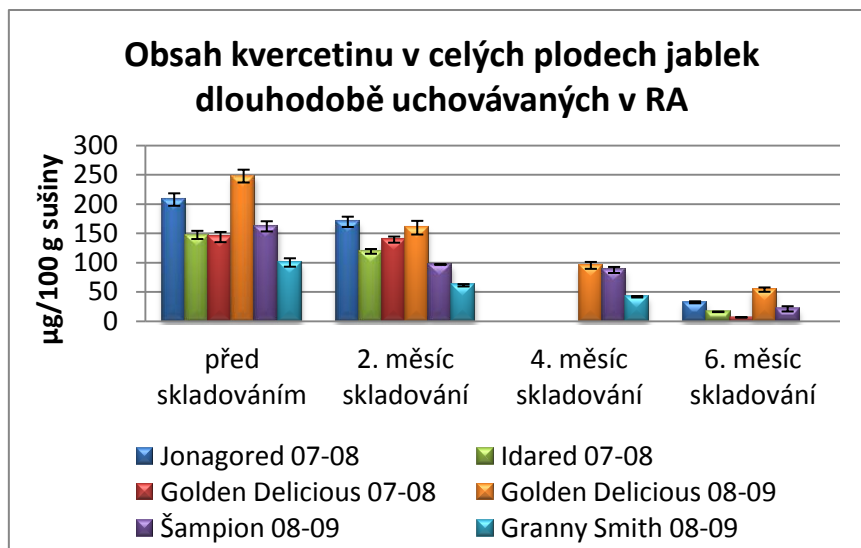


Tabulka č. 37: Obsah kvercetinu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

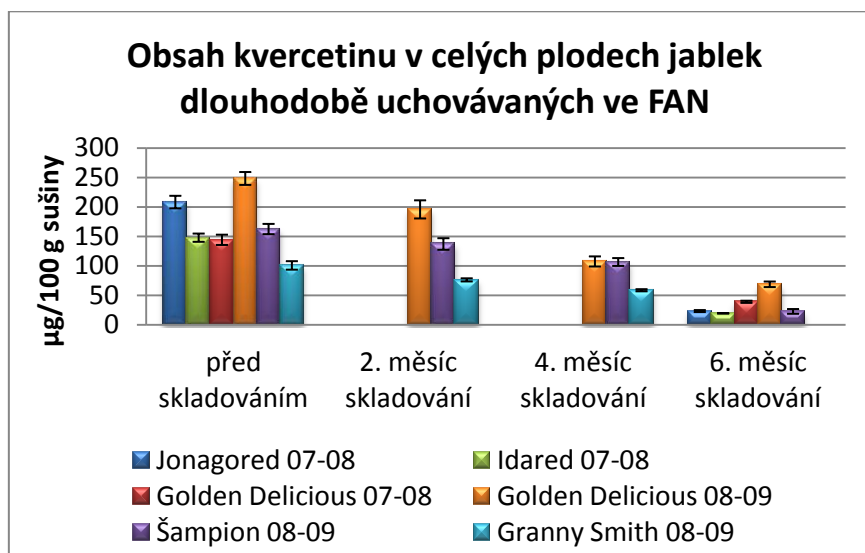
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ kvercetin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	$162,29 \pm 8,71$	$97,25 \pm 0,68$	$87,83 \pm 5,16$	$21,42 \pm 4,48$
	Golden Delicious	$248,12 \pm 10,92$	$160,04 \pm 11,66$	$95,64 \pm 5,90$	$54,27 \pm 3,71$
	Granny Smith*	$100,56 \pm 7,20$	$61,65 \pm 2,04$	$42,10 \pm 1,25$	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ kvercetin</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	$162,29 \pm 8,71$	$136,94 \pm 9,82$	$106,38 \pm 6,64$	$22,55 \pm 4,02$
	Golden Delicious	$248,12 \pm 10,92$	$195,64 \pm 15,38$	$107,31 \pm 8,56$	$68,52 \pm 4,71$
	Granny Smith*	$100,56 \pm 7,20$	$76,03 \pm 2,63$	$58,46 \pm 1,79$	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala nejvyšší množství kvercetinu v průběhu celého skladování v obou odlišných atmosférách. Z původní hodnoty  $248 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek došlo k poklesu kvercetinu na hodnotu  $54 \mu\text{g}$  v plodech z RA (celkový pokles na pětinu hodnoty) a  $69 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny v plodech z FAN (pokles na čtvrtinu). U jablek odrůdy Šampion bylo na začátku skladovacího procesu naměřeno  $162 \mu\text{g}$  kvercetinu ve  $100 \text{ g}$  sušiny. Po šesti měsících skladování hladina kvercetinu poklesla na  $21 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny v plodech uskladněných v normální atmosféře a na  $23 \mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny jablek ve FAN (pokles na cca desetinu pův. hodnoty). U jablek zimní odrůdy Granny Smith v průběhu čtyř měsíců skladování poklesl obsah kvercetinu ze  $101 \mu\text{g}$  na  $42 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z normální atmosféry (celk. pokles na 2/5 pův. hodnoty) a  $58 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z modifikované atmosféry (celk. pokles na 3/5 pův. hodnoty).



*Obrázek č. 56:* Shrnutí výsledků kvercetinu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 57:* Shrnutí výsledků kvercetinu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Během skladování došlo k postupnému úbytku kvercetinu ve všech testovaných odrůdách jablek i skladovacích atmosférách. Volba skladovací atmosféry neměla vliv na jeho obsah v jablcích.

### 5.1.8.11 Obsah lykopenu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

V další části práce byly sledovány změny obsahu významných karotenoidů (lykopenu a beta-karotenu) zastoupených v plodech jablek.

*Tabulka č. 38:* Obsah lykopenu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/lykopen</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	$14,77 \pm 4,58$	$30,16 \pm 2,63$	$10,01 \pm 4,34$
	Golden Delicious	$23,37 \pm 3,92$	$32,78 \pm 3,81$	$21,42 \pm 3,29$
	Idared	$30,19 \pm 2,90$	$38,21 \pm 3,44$	$37,49 \pm 5,05$
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/lykopen</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	$14,77 \pm 4,58$	-	$29,66 \pm 3,77$
	Golden Delicious	$23,37 \pm 3,92$	-	$28,22 \pm 4,12$
	Idared	$30,19 \pm 2,90$	-	$37,85 \pm 3,20$

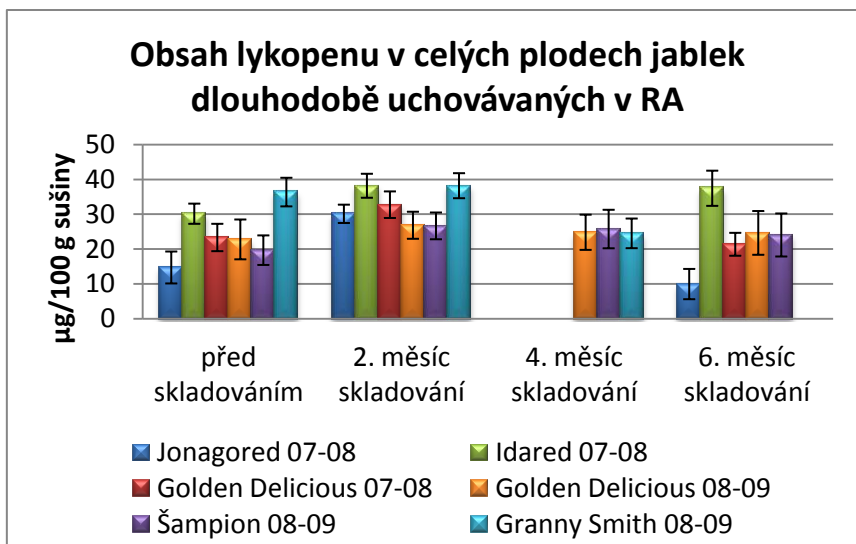
Obsah lykopenu v jablkách je poměrně nízký. Hodnoty v průběhu uchovávání kolísaly, do druhého měsíce skladování se spíše zvyšovaly. V šestém měsíci byl však naměřen pokles hodnot lykopenu. Nejméně této látky bylo nalezeno v plodech odrůdy Jonagored. Na počátku skladování se jeho hladina pohybovala kolem  $14,8 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ . Ve druhém měsíci vzrostla na  $38,2 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ . Na konci skladování byl u plodů uchovaných v normální atmosféře zjištěn pokles lykopenu až na  $10,0 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ , plody z modifikované atmosféry obsahovaly stejné množství lykopenu jako plody z RA ve druhém měsíci skladování ( $29,7 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ ). Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala před uskladněním  $23,4 \mu\text{g}$  lykopenu ve  $100 \text{ g sušiny}$ . Ve druhém měsíci skladování jeho hladina vzrostla na  $38,2 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ . V šestém měsíci skladování v normální atmosféře došlo k poklesu lykopenu a to na hodnotu  $21,4 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ , v plodech z atmosféry se sníženým obsahem kyslíku bylo nalezeno  $28,2 \mu\text{g}$  lykopenu ve  $100 \text{ g sušiny}$ . Jablka odrůdy Idared obsahovala před uskladněním dvojnásobné množství lykopenu než odrůda Jonagored  $30,2 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ . Ve druhém měsíci skladování hodnota vzrostla na  $38,2 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ . V šestém měsíci byla v obou skladovacích atmosférách nalezena velmi podobná hodnota jako ve druhém měsíci skladování, v plodech z RA  $37,5 \mu\text{g}$  a z FAN  $37,9 \mu\text{g}/100 \text{ g sušiny}$ .

Tabulka č. 39: Obsah lykopenu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

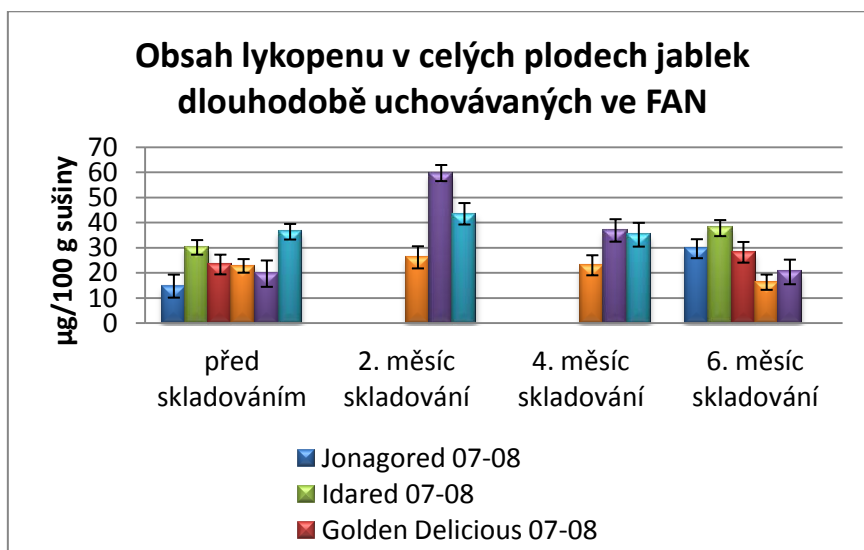
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/lykopen</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	$19,73 \pm 4,24$	$26,70 \pm 3,84$	$25,80 \pm 5,52$	$24,09 \pm 6,17$
	Golden Delicious	$22,82 \pm 5,71$	$26,88 \pm 3,88$	$24,87 \pm 5,02$	$24,69 \pm 6,28$
	Granny Smith*	$36,40 \pm 4,10$	$38,23 \pm 3,59$	$24,56 \pm 4,25$	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/lykopen</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Šampion	$19,73 \pm 4,24$	$59,74 \pm 3,21$	$36,92 \pm 4,47$	$20,41 \pm 4,89$
	Golden Delicious	$22,82 \pm 5,71$	$26,22 \pm 4,40$	$23,06 \pm 3,99$	$16,33 \pm 3,04$
	Granny Smith*	$36,40 \pm 4,10$	$43,55 \pm 4,27$	$35,21 \pm 4,73$	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Obsah lykopenu se zvyšoval v obou skladovacích atmosférách po dobu dvou měsíců, od té doby se postupně snižoval až do ukončení skladovacího procesu. Nejvíce lykopenu bylo nalezeno v zimní odrůdě jablek Granny Smith. Před skladováním tato odrůda obsahovala 36,4  $\mu\text{g}$  lykopenu ve 100 g sušiny, po dvou měsících vzrostla na 38,2  $\mu\text{g}$  (RA) a 43,6  $\mu\text{g}$  (FAN), ve čtvrtém měsíci pak poklesla na 24,6  $\mu\text{g}$  (RA) a 35,2  $\mu\text{g}/100$  g sušiny (FAN). Naopak nejméně lykopenu bylo nalezeno v odrůdě Šampion na počátku skladovacího procesu (19,7  $\mu\text{g}/100$  g sušiny). Ve druhém měsíci skladování se jeho hladina zvýšila na 26,7  $\mu\text{g}/100$  g sušiny v plodech z normální atmosféry. V plodech jablek z modifikované atmosféry bylo naměřeno až 59,7  $\mu\text{g}$  lykopenu ve 100 g sušiny a je tak nejvyšší naměřenou hodnotou v tomto testovacím období. Ve čtvrtém měsíci skladování došlo k poklesu lykopenu na 25,8  $\mu\text{g}/100$  g sušiny jablek skladovaných v normální atmosféře a 36,9  $\mu\text{g}/100$  g sušiny jablek z modifikované atmosféry. V šestém měsíci pak byly naměřeny ještě nižší hodnoty 24,1  $\mu\text{g}/100$  g sušiny plodů z RA a 20,4  $\mu\text{g}/100$  g sušiny jablek z FAN. Jablka odrůdy Golden Delicious v obou skladovacích atmosférách vykazovala poměrně stabilní zastoupení lykopenu. Na počátku skladování se jeho hladina pohybovala kolem hodnoty 22,8  $\mu\text{g}/100$  g sušiny. Ve druhém měsíci uskladnění se mírně zvýšila na 26,2 až 26,9  $\mu\text{g}/100$  g sušiny (RA; FAN). Ve čtvrtém měsíci hladina lykopenu mírně poklesla na 24,9  $\mu\text{g}/100\text{g}$  sušiny jablek z RA a 23,1  $\mu\text{g}/100$  g sušiny jablek z FAN. Teprve v šestém měsíci se množství lykopenu, při porovnání obou skladovacích atmosfér, liší. Zatímco se v plodech uskladněných v RA hladina lykopenu příliš nezměnila (24,7  $\mu\text{g}/100$  g sušiny), tak v plodech z FAN došlo k jejímu prudšímu poklesu na 16,3  $\mu\text{g}/100$  g sušiny.



*Obrázek č. 58:* Shrnutí výsledků lykopenu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 59:* Shrnutí výsledků lykopenu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Zastoupení lykopenu v odlišných odrůdách jablek se po celou dobu skladování příliš nelišilo. Nejvyšší obsah lykopenu byl nalezen v jablcích zimních odrůd. Naopak nejmenší množství lykopenu bylo nalezeno v jablcích odrůd s brzkou zralostí. Obsah lykopenu se zvyšoval v obou skladovacích atmosférách po dobu dvou měsíců, od té doby se postupně snižoval až do ukončení skladovacího procesu. Z naměřených hodnot nelze jednoznačně usoudit, zda má uchovávání v ochranné modifikované atmosféře pozitivní vliv na uchování lykopenu v jablcích.

### 5.1.8.12 Obsah $\beta$ -karotenu v dlouhodobě skladovaných plodech jablek

Beta karoten je látkou ze skupiny karotenoidů, kterých je v přírodě několik stovek druhů. Má na svědomí žluté až červené zbarvení rostlin. Podílí se na ochraně kůže před škodlivými vlivy UV záření, které způsobuje v organismu vznik nebezpečných volných radikálů.

*Tabulka č. 40:* Obsah  $\beta$ -karotenu v jablčích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2007/2008

Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ <math>\beta</math>-karoten</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	19,29 ± 7,29	64,31 ± 18,37	20,88 ± 7,82
	Golden Delicious	13,30 ± 5,91	49,70 ± 19,24	25,06 ± 9,41
	Idared	22,03 ± 6,93	37,81 ± 10,58	20,37 ± 6,57
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ <math>\beta</math>-karoten</b>	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$	$\mu\text{g}/100\text{g sušiny}$
	Jonagored	19,29 ± 7,29	-	22,07 ± 6,28
	Golden Delicious	13,30 ± 5,91	-	19,90 ± 7,94
	Idared	22,03 ± 6,93	-	18,28 ± 7,40

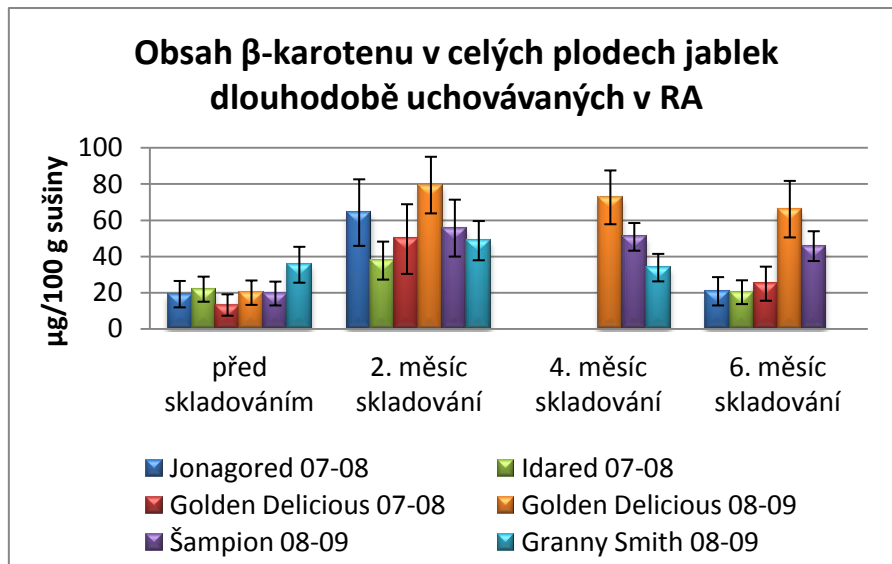
Stejně jako se měnil obsah lykopenu, tak se i obsah  $\beta$ -karotenu měnil v podobném trendu. Nejvyšší hladina  $\beta$ -karotenu před uskladněním byla nalezena v plodech odrůdy Idared 22,0  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. Ve druhém měsíci uskladnění v RA vzrostla na 37,8  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. Na konci skladování byl zaznamenán její pokles na 20,4  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. U plodů uskladněných v modifikované atmosféře byl pokles výraznější na 20,4  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. Naopak nejméně  $\beta$ -karotenu bylo nalezeno v plodech odrůdy Golden Delicious na počátku skladování 13,3  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. Ve druhém měsíci skladování v RA se však jeho obsah rapidně zvýšil (49,7  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny). V šestém měsíci skladování byly naměřeny opět nižší hodnoty  $\beta$ -karotenu 25,1  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny jablek z RA a 19,9  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny jablek z FAN. U jablek odrůdy Jonagored byly před uskladněním naměřeny hodnoty  $\beta$ -karotenu 19,3  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny. Ve druhém měsíci se jeho obsah zvýšil až na 64,3  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ . V šestém měsíci však opět poklesl na hodnoty 20,9  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny jablek z RA a 22,1  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  sušiny jablek z FAN.

Tabulka č. 41: Obsah  $\beta$ -karotenu v jablcích dlouhodobě skladovaných v normální a modifikované atmosféře v období 2008/2009

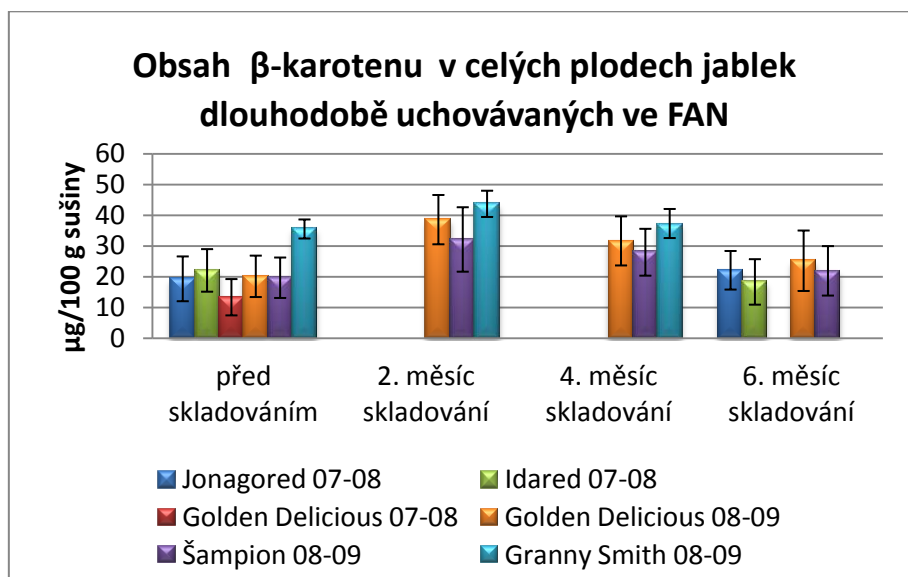
Doba skladování		před skladováním	2. měsíc skladování	4. měsíc skladování	6. měsíc skladování
Normální atmosféra	<b>Odrůda/ <math>\beta</math>-karoten</b>	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny
	Šampion	$19,64 \pm 6,58$	$55,74 \pm 15,71$	$50,92 \pm 7,64$	$45,80 \pm 8,23$
	Golden Delicious	$20,10 \pm 6,74$	$79,50 \pm 15,62$	$72,73 \pm 14,85$	$66,21 \pm 15,60$
	Granny Smith*	$35,51 \pm 9,91$	$48,82 \pm 10,83$	$33,93 \pm 7,59$	-
Modifikovaná atmosféra	<b>Odrůda/ <math>\beta</math>-karoten</b>	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny	$\mu\text{g}/100\text{g}$ sušiny
	Šampion	$19,64 \pm 6,58$	$32,10 \pm 10,49$	$27,94 \pm 7,52$	$21,89 \pm 8,05$
	Golden Delicious	$20,10 \pm 6,74$	$38,55 \pm 8,02$	$31,63 \pm 7,99$	$25,17 \pm 9,84$
	Granny Smith*	$35,51 \pm 9,91$	$43,69 \pm 13,73$	$37,29 \pm 10,68$	-

\* plody odrůdy Granny Smith byly otrhány a uskladněny se zpožděním 1,5 měsíce, kdy jablka ostatních odrůd byla již 2. měsíc uskladněna

Před uskladněním ve druhém roce monitorování se hladina  $\beta$ -karotenu v odrůdách jablek Šampion a Golden Delicious pohybovala kolem  $20,1 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny. V jablcích odrůdy Granny Smith byla zjištěna hodnota  $\beta$ -karotenu  $35,5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny. Ve druhém měsíci skladování se hodnoty  $\beta$ -karotenu zvýšily až na  $79,5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Golden Delicious z RA,  $55,7 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Šampion z RA a  $48,8 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Granny Smith z RA. V jablcích skladovaných ve FAN se hladina  $\beta$ -karotenu zvýšila jen na hodnoty  $38,6 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Golden Delicious z RA,  $32,1 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Šampion a  $43,7 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek odrůdy Granny Smith. Ve čtvrtém měsíci uskladnění došlo k mírnému poklesu  $\beta$ -karotenu ve všech vzorcích jablek. V jablcích odrůdy Šampion bylo zjištěno  $50,9 \mu\text{g}$   $\beta$ -karotenu/100 g sušiny jablek z RA a  $27,9 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z FAN. Jablka Golden Delicious obsahovala  $72,7 \mu\text{g}$   $\beta$ -karotenu/100 g sušiny jablek z RA a  $31,6 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z FAN. V plodech jablek odrůdy Granny Smith bylo nalezeno  $33,9 \mu\text{g}$   $\beta$ -karotenu/100 g sušiny jablek z RA a  $37,3 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z FAN. V šestém měsíci skladování obsah  $\beta$ -karotenu ještě více poklesl. Jablka odrůdy Šampion obsahovala  $45,8 \mu\text{g}$   $\beta$ -karotenu/100 g sušiny jablek z RA a  $21,9 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z FAN, jablka odrůdy Golden Delicious pak  $66,2 \mu\text{g}$   $\beta$ -karotenu/100 g sušiny jablek z RA a  $25,2 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  sušiny jablek z FAN.



*Obrázek č. 60:* Shrnutí výsledků  $\beta$ -karotenu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 61:* Shrnutí výsledků  $\beta$ -karotenu v jablcích dlouhodobě uchovávaných v modifikované atmosféře

Změny v zastoupení  $\beta$ -karotenu v průběhu skladování byly velmi podobné změnám zaznamenaným u lykopenu. Nejvyšší hladina  $\beta$ -karotenu před uskladněním byla nalezena opět v zimních odrůdách jablek. V průběhu prvních dvou měsíců se jeho hladina zvýšila, poté postupně klesala až do konce skladování. V plodech uskladněných ve FAN byly v průběhu skladování nalezeny vyšší hodnoty beta-karotenu než v plodech z RA. Jak vyplývá z naměřených hodnot, volba skladovací atmosféry má vliv na syntézu a následně i další obsah  $\beta$ -karotenu v plodech jablek.



### 5.1.9 Analýza antioxidačních enzymů

Pro celkové zhodnocení životaschopnosti jablek byla do předložené studie zahrnuta i analýza antioxidačních enzymů – superoxidodismutázy (katalyzuje disproportionaci superoxidu kyslíku na kyslík a peroxid vodíku); katalázy (katalyzuje rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík); polyfenoloxidázy (oxiduje polyfenoly, zejména na místech poranění plodů, kde dochází ke styku se vzdušným kyslíkem).

Kvůli finanční a časové náročnosti testů bylo stanovení enzymů zařazeno do testů jen z jednoho odběru jablek ze skladovacích prostor MZLU v Lednici.

*Tabulka č. 42:* Aktivita superoxidodismutázy, katalázy a polyfenoloxidázy v jablcích skladovaných v normální a modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku

Aktivita enzymů ve 100 g sušiny ovoce				
Enzym ( $\mu$ katal/100g sušiny)		SOD	CAT	PPO
Normální atmosféra	Odrůda/aktivita enzymů	$\mu$ katal/100g sušiny	$\mu$ katal/100g sušiny	$\mu$ katal/100g sušiny
	<b>Jonagored</b>	61,75 $\pm$ 5,21	244,46 $\pm$ 6,71	0,49 $\pm$ 0,02
	<b>Golden Delicious</b>	46,52 $\pm$ 4,03	239,15 $\pm$ 28,60	0,22 $\pm$ 0,07
	<b>Idared</b>	52,95 $\pm$ 5,77	268,15 $\pm$ 11,59	1,19 $\pm$ 0,12
Modifikovaná atmosféra	Odrůda/aktivita enzymů	$\mu$ katal/100g sušiny	$\mu$ katal/100g sušiny	$\mu$ katal/100g sušiny
	<b>Jonagored</b>	64,80 $\pm$ 5,92	228,15 $\pm$ 14,50	0,30 $\pm$ 0,05
	<b>Golden Delicious</b>	18,42 $\pm$ 2,12	214,62 $\pm$ 10,73	0,33 $\pm$ 0,09
	<b>Idared</b>	68,55 $\pm$ 4,68	245,85 $\pm$ 22,68	0,23 $\pm$ 0,01

Aktivita enzymu superoxidodismutázy (SOD) naměřená v jablcích skladovaných v normální atmosféře je poněkud nižší než v jablcích z modifikované atmosféry. V plodech odrůdy Jonagored z RA byla zjištěna aktivita 61,8  $\mu$ katal/100 g sušiny. V jablcích z modifikované atmosféry byla aktivita enzymu nepatrně vyšší (64,8  $\mu$ katal/100 g sušiny). Jablka odrůdy Idared skladovaná v normální atmosféře vykazovala aktivitu SOD 53,0  $\mu$ katal/100 g sušiny, vyšší aktivita byla zjištěna u plodů z FAN (68,6  $\mu$ katal/100 g sušiny). V jablcích odrůdy Golden Delicious byla aktivita SOD nejnižší ze všech testovaných odrůd. V jablcích skladovaných v RA se aktivita enzymu pohybovala kolem hodnoty 46,5  $\mu$ katal/100 g sušiny, v plodech uchovávaných v modifikované atmosféře byla v porovnání s ostatními odrůdami dosti nízká – pouze 18,4  $\mu$ katal/100 g sušiny.

V jablcích měla nejvyšší zastoupení ze všech testovaných enzymů kataláza (CAT). V plodech uchovávaných v normální atmosféře byla jeho aktivita mírně vyšší než v plodech z FAN, na rozdíl od superoxidodismutázy. V jablcích odrůdy Jonagored skladovaných v RA jsme naměřili aktivitu CAT 244  $\mu$ katal/100 g sušiny, v jablcích z FAN pak o něco nižší (228  $\mu$ katal). V jablcích Golden Delicious se aktivita CAT pohybovala kolem hodnoty 239  $\mu$ katal/100 g

sušiny, v plodech z FAN byla tato aktivita nižší. V jablcích zimní odrůdy Idared byla aktivita katalázy nejvyšší - 268  $\mu$ katal/100 g sušiny jablek z RA a 246  $\mu$ katal/100 g sušiny jablek z FAN.

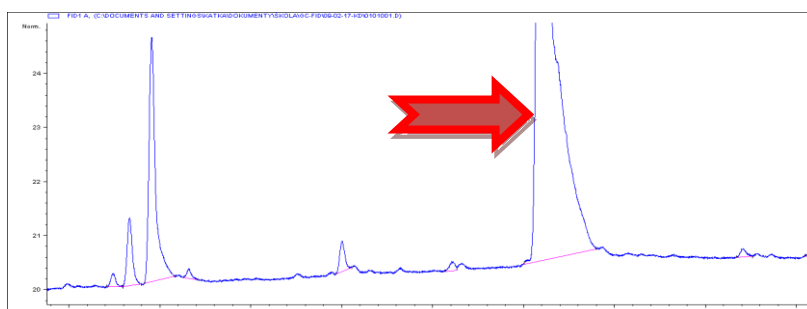
Aktivita polyfenoloxidázy (PPO) byla z testovaných enzymů nejnižší, a to zejména v jablcích z normální atmosféry. V jablcích odrůdy Jonagored skladované v RA se aktivita enzymu pohybovala kolem hodnoty 0,49  $\mu$ katal/100 g sušiny, v jablcích z modifikované atmosféry byla tato aktivita nižší (0,30  $\mu$ katal/100 g sušiny). V jablcích odrůdy Idared z RA byla aktivita enzymu PPO nejvyšší (1,19  $\mu$ katal/100 g sušiny), v jablcích z FAN se pohybovala kolem hodnoty 0,23  $\mu$ katal/100 g sušiny (o 4/5 nižší než v RA). U jablek odrůdy Golden Delicious byla zaznamenána vyšší aktivita PPO v plodech uskladněných v modifikované atmosféře 0,33  $\mu$ katal/100 g sušiny. V jablcích skladovaných v normální atmosféře byla aktivita PPO o třetinu nižší (0,22  $\mu$ katal/100 g sušiny).

Analýzou antioxidačních enzymů v jablcích jsme zjistili, že nejvyšší aktivitu ze všech testovaných enzymů má kataláza (cca 240  $\mu$ katal/100 g). V plodech uchovávaných v normální atmosféře byla jeho aktivita mírně vyšší než v plodech z FAN. V jablcích zimní odrůdy Idared byla aktivita katalázy nejvyšší. Aktivita enzymu superoxiddismutázy naměřená v jablcích skladovaných v normální atmosféře je nižší než v jablcích z modifikované atmosféry. V jablcích odrůdy Golden Delicious uchovávaných v modifikované atmosféře byla nalezena nejnižší hladina SOD. Aktivita polyfenoloxidázy (PPO) byla z testovaných enzymů nejnižší, zejména v jablcích z normální atmosféry, s výjimkou odrůdy Idared. Celkově byla nejvyšší aktivita všech enzymů nalezena v jablcích s odrůdy Idared, naopak nejnižší v jablcích odrůdy Golden Delicious, což může být způsobeno vyčerpáním enzymů během obrany buněk vůči stárnutí a vlivům okolního prostředí.

Nejvyšší aktivita byla prokázána v plodech jablek u katalázy, dále u superoxiddismutázy, naopak velmi nízká byla hladina polyfenoloxidázy. To může být způsobeno extrémní nestabilitou enzymu i celkově nízkou aktivitou v plodech. Sledování změn koncentrace enzymů v průběhu uchování nebylo z technických důvodů možné a lze předpokládat, že by přineslo spíše doplňkovou informaci k poznatkům zjištěným u podstatně stabilnějších nízkomolekulárních antioxidantů.

### 5.1.10 Stanovení lipidů a mastných kyselin v povrchových strukturách jablek

Pro analýzu lipidů byla z plodů jablek odseparována slupka a dužina a každá tato část byla extrahována těmito činidly: ethylacetát, hexan, směs methanol/chloroform v poměrech (1:2 a 2:1), aceton, chloroform), z nichž pro další stanovení byla vybrána extrakce hexanem pro nejvyšší výtěžnost lipidů z obou částí plodů. Podmínky extrakce jsou uvedeny v kap. 4.4.9. Během analýzy získaných lipidů pomocí GC/FID převedených na methylestery (viz kap. 4.4.9) bylo zjištěno, že píky hledaných mastných kyselin překrývaly velké píky neznámých látek. Proto jsme přistoupili k jejich identifikaci pomocí GC/MS a na základě MS spekter jsme došli k závěru, že se jedná o alifatické uhlovodíky odštěpené z vosků.

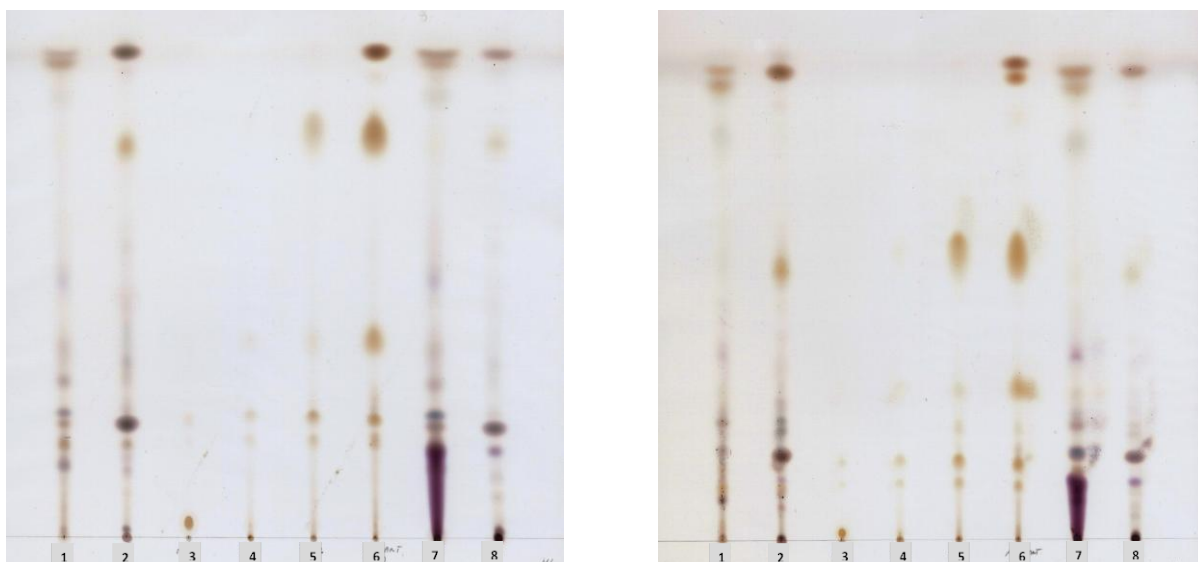


*Obrázek č. 62:* Chromatogram GC/FID mastných kyselin jablek odrůdy Golden Delicious. Šipkou je označen interferující pík alifatického uhlovodíku.

Z tohoto důvodu byl před analýzu GC/FID zařazen ještě jeden separační krok – tenkovrstvá chromatografie (TLC) polárních i nepolárních lipidů.



*Obrázek č. 63:* Separace polárních lipidů jablek: 1,2 Šampion; 3,4 Golden Delicious; 5,6 Granny Smith. Detekce roztokem 5% kyseliny sírové v methanolu.



*Obrázek č. 64a,b:* Separace nepolárních lipidů s použitím mobilní fáze hexan:diethyleter (80:20) - pro lepší oddělení složek blíže čelu (a) a hexan:diethyleter (70:30) - pro lepší oddělení složek blíže startu (b). Vzorky jablek a standardy byly nanášeny následovně: 1. pozice Golden Delicious – slupka hexanový extrakt; 2. pozice Golden Delicious – dužina hexanový extrakt; 3. pozice standard monoacylglycerol; 4. pozice standard diacylglycerol; 5. pozice triacylglycerol; 6. pozice amarantový olej; 7. pozice Golden Delicious – slupka směsný extrakt, 8. pozice Golden Delicious – dužina směsný extrakt. Detekce roztokem 5% kyseliny sírové v metanolu.

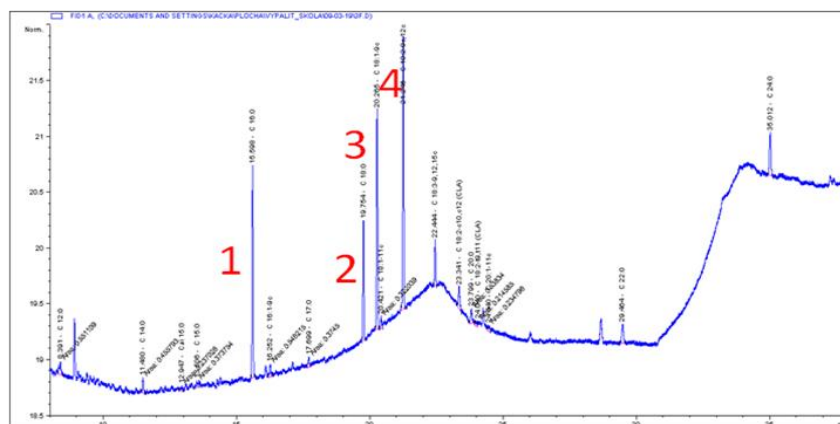
Jelikož se nepodařilo polární lipidy dostatečně identifikovat a separovat, pokračovali jsme se separací a analýzou nepolárních lipidů. Pro vlastní analýzu byly vzorky na pevnou fázi nanášeny čárově. Po separaci byly jednotlivé skupiny lipidů detekovány pomocí jodových par, které se na analyzované látky vážou reverzibilně, na rozdíl od roztoku 5% kyseliny sírové v methanolu. Po detekci byly frakce lipidů rozděleny do skupin A-J, které byly i s pevnou fází odděleny jednotlivě od kovové podložky a převedeny na methylestery, které jsme analyzovali pomocí GC/FID. Frakce J, která obsahovala vosky, tak byla oddělena a problém interference píků vyřešen.

Po separaci vzorků pomocí TLC byla pak dále provedena analýza kvalitativního a kvantitativního zastoupení mastných kyselin ve slupkách a dužinách jablek odrůdy Šampion, Golden Delicious a Granny Smith ve čtvrtém a šestém měsíci uskladnění v normální a modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku (viz kap. 4.2.2).

V obou částech jablek byly nalezeny tyto mastné kyseliny (MK):

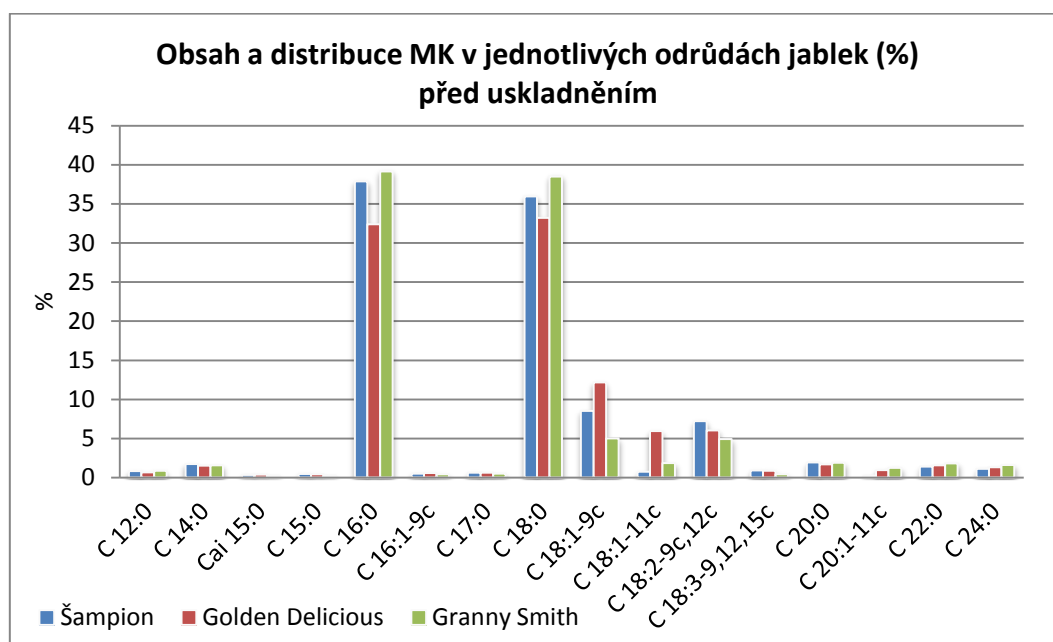
C 12:0	C 16:0	C 18:1-9c	C 20:0
C 14:0	C 16:1-9c	C 18:1-11c	C 20:1-11c
Cai 15:0	C 17:0	C 18:2-9c,12c	C 22:0
C 15:0	C 18:0	C 18:3-9,12,15c	C 24:0

Mezi nejvíce zastoupené MK ve všech odrůdách i obou částech plodů jablek patří kyselina palmitová C 16:0, kyselina stearová C 18:0, kyselina olejová C 18:1-9c, kyselina linolová C 18:2-9c,12c.



*Obrázek č. 65:* Chromatogram masných kyselin jablek (GC/FID), kde jsou číslicemi označeny majoritní masné kyseliny: 1. kyselina palmitová C 16:0; 2. kyselina stearová C 18:0; 3. kyselina olejová C 18:1-9c; 4. kyselina linolová C 18:2-9c,12c.

Pro jednotlivé odrůdy jablek je charakteristické zastoupení individuálních masných kyselin. Největší rozdíly byly pozorovány zejména u majoritních MK - C 16:0, C 18:0, C 18:1, naopak menší rozdíly byly pozorovány v obsahu kyseliny linolové (C 18:2). Nejvyšší stupeň nasycení (poměr nasycených a nenasycených MK) byl nalezen v jablcích odrůdy Granny Smith, poté následovala jablka odrůdy Šampion. Nejvyšší obsah nenasycených MK obsahovala jablka odrůdy Golden Delicious.



*Obrázek č. 66:* Obsah a distribuce MK v jednotlivých odrůdách jablek (%) před uskladněním

### 5.1.11 Porovnání obsahu mastných kyselin ve slupce jablek

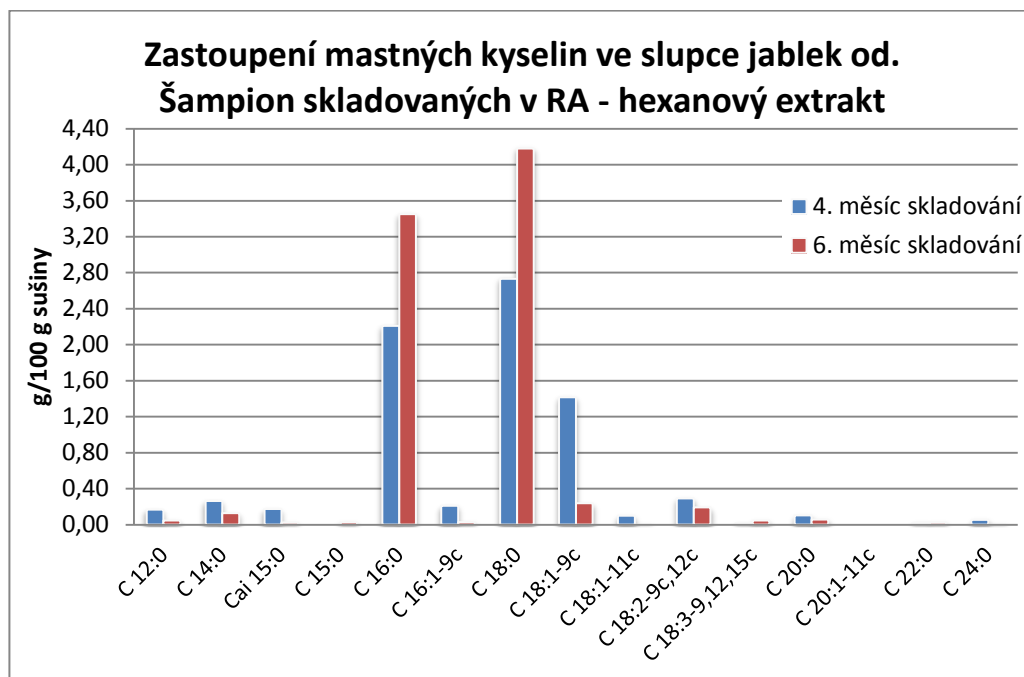
Tabulka č. 43: Porovnání obsahu mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Šampion (hexanový extrakt) v závislosti na době skladování

Šampion slupka Doba skladování/ g/100g sušiny MK	Uskladnění v norm. atmosféře			Uskladnění v modif. atmosféře		
	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl
C 12:0	0,166	0,047	71,6 ↓	0,064	0,037	41,8 ↓
C 14:0	0,264	0,128	51,6 ↓	0,140	0,101	27,5 ↓
Cai 15:0	0,172	0,023	86,7 ↓	0,101	0,019	80,7 ↓
C 15:0	0,000	0,029	97,0 ↓	0,000	0,028	97,1 ↓
C 16:0	2,208	3,450	56,2 ↑	1,961	2,821	43,8 ↑
C 16:1-9c	0,210	0,029	86,3 ↓	0,139	0,023	83,5 ↓
C 18:0	2,731	4,179	53,0 ↑	2,063	3,358	62,7 ↑
C 18:1-9c	1,414	0,237	83,2 ↓	3,246	0,462	85,7 ↓
C 18:1-11c	0,097	0,003	96,8 ↓	0,238	0,023	90,4 ↓
C 18:2-9c,12c	0,291	0,190	34,8 ↓	1,646	0,387	76,4 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,019	0,045	141,5 ↑	0,274	0,030	88,8 ↓
C 20:0	0,101	0,056	44,8 ↓	0,449	0,122	72,7 ↓
C 20:1-11c	0,000	0,000	0	0,066	0,019	71,0 ↓
C 22:0	0,022	0,024	9,7 ↑	0,151	0,082	45,6 ↓
C 24:0	0,053	0,006	88,5 ↓	0,265	0,107	59,7 ↓
<b>Nasyčené MK</b>	<b>5,717</b>	<b>7,942</b>	<b>38,9 ↑</b>	<b>5,193</b>	<b>6,676</b>	<b>28,5 ↑</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>2,031</b>	<b>0,503</b>	<b>75,2 ↓</b>	<b>5,608</b>	<b>0,945</b>	<b>83,1 ↓</b>

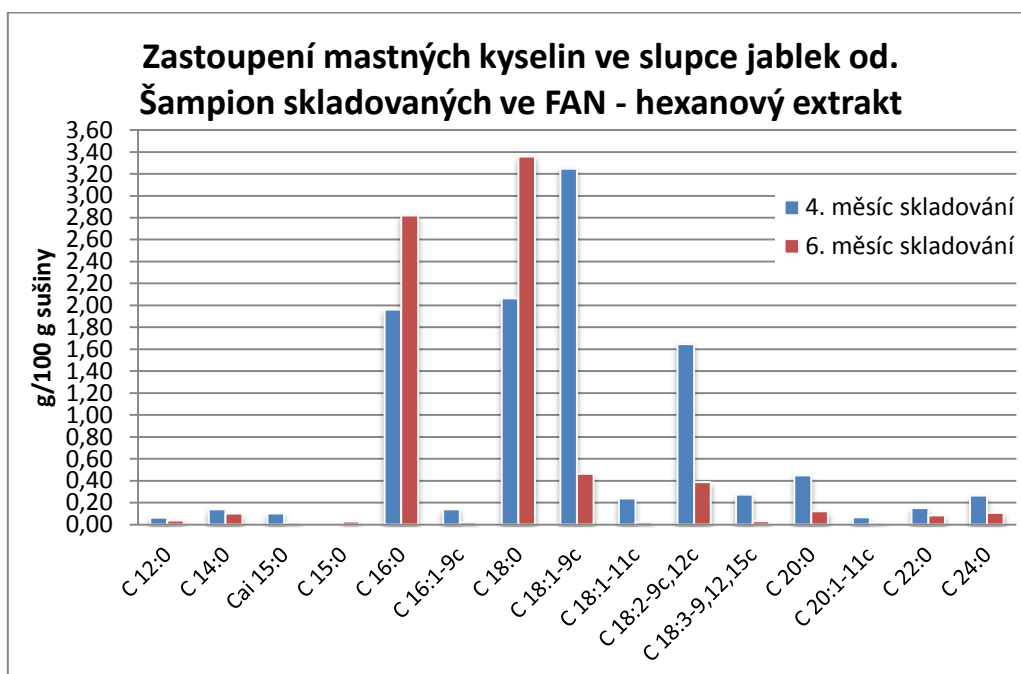
V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasyčených mastných kyselin (MK) zvýšil v jablcích skladovaných v obou atmosférách. Vyšší hodnoty byly zjištěny v plodech z normální atmosféry: 5,7 až 7,9 g na 100 g sušiny (zvýšení o 39 %), v jablcích uchovávaných v modifikované atmosféře se obsah nasyčených mastných kyselin zvýšil o 29 % z hodnoty 5,2 g na 6,7 g/100 g sušiny. Naopak obsah nenasycených mastných kyselin v průběhu dvou měsíců poklesl. Vyšší hodnoty byly naměřeny v plodech z FAN, kdy došlo k poklesu o 83 % z hodnoty 5,6 g na 0,9 g/100 g sušiny. V plodech z RA došlo k poklesu nenasycených MK z hodnoty 2,0 g na 0,5 g/100 g sušiny (o 75 %).

Obsah jednotlivých mastných kyselin ve slupkách jablek odrůdy Šampion uchovávané v obou atmosférách se pohybuje od 3,4 do 1,4 g na 100 g sušiny u majoritních MK, u minoritně zastoupených od 0,02 g do 0,29 g na 100g sušiny. U vzorků z obou atmosfér zaznamenáváme podobný nárůst obsahu kyseliny palmitové (o 44 až 56 %) a stearové (o 53 až 63 %) v průběhu 2 měsíců skladování, zatím co obsah ostatních MK poklesl, vyjma kyseliny linoleové u vzorků z RA atmosféry, kde zaznamenáváme nárůst obsahu o 142 % (pokles o 89 % ve FAN) a také kyseliny behenové o 10 % (pokles o 45 % ve FAN). Kyselina gadolejová byla nalezena v malém množství ve vzorcích uchovávaných ve FAN, kde její obsah

v průběhu skladování poklesl o 71 %. Ve vzorcích uchovávaných v RA nebyla kyselina gadolejová nalezena vůbec.



*Obrázek č. 67:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Šampion skladovaných v normální atmosféře



*Obrázek č. 68:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Šampion skladovaných v modifikované atmosféře

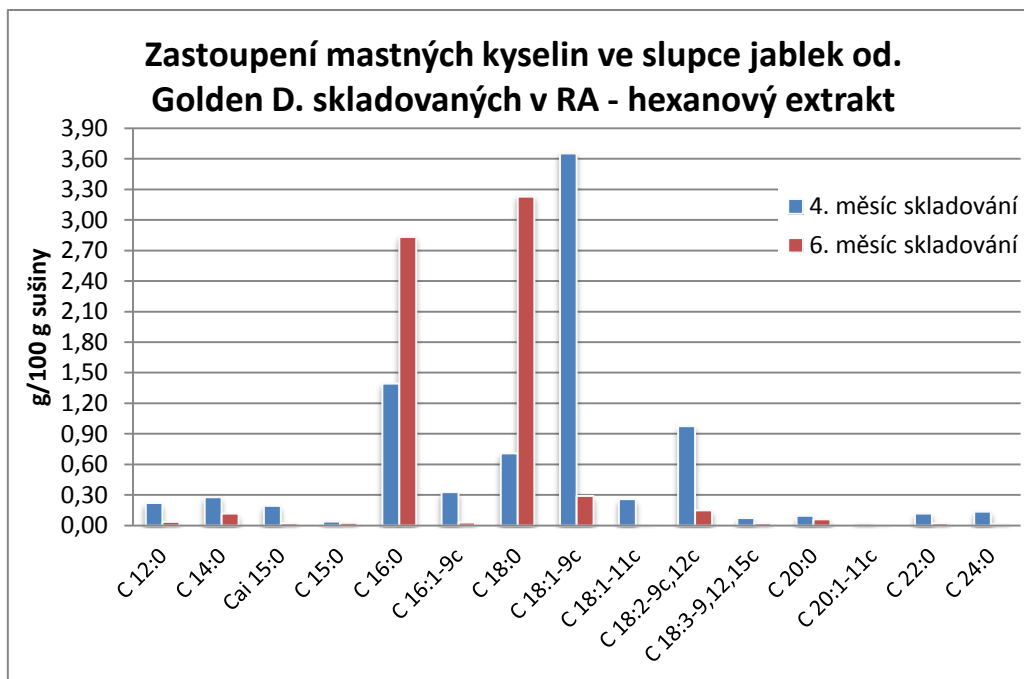
Tabulka č. 44: Porovnání obsahu mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Golden Delicious (hexanový extrakt) v závislosti na době skladování

<b>Golden D. slupka</b>	<b>Uskladnění v norm. atmosféře</b>			<b>Uskladnění v modif. atmosféře</b>		
	<b>Doba skladování/ g/100g sušiny MK</b>	<b>4. měsíc</b>	<b>6. měsíc</b>	<b>% rozdíl</b>	<b>4. měsíc</b>	<b>6. měsíc</b>
C 12:0	0,221	0,039	82,5 ↓	0,107	0,023	78,3 ↓
C 14:0	0,280	0,118	57,68 ↓	0,112	0,066	40,6 ↓
Cai 15:0	0,195	0,026	86,7 ↓	0,083	0,014	82,8 ↓
C 15:0	0,039	0,028	27,5 ↓	0,026	0,019	25,2 ↓
C 16:0	1,395	2,833	103,0 ↑	1,004	1,780	77,2 ↑
C 16:1-9c	0,330	0,031	90,6 ↓	0,130	0,020	84,2 ↓
C 18:0	0,710	3,231	355,0 ↑	0,561	1,953	248,2 ↑
C 18:1-9c	3,653	0,291	92,0 ↓	1,873	0,204	89,1 ↓
C 18:1-11c	0,259	0,004	98,6 ↓	0,737	0,019	97,3 ↓
C 18:2-9c,12c	0,978	0,150	84,6 ↓	0,942	0,341	63,7 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,075	0,023	68,9 ↓	0,131	0,065	50,5 ↓
C 20:0	0,096	0,061	36,2 ↓	0,155	0,047	69,8 ↓
C 20:1-11c	0,022	0,003	86,7 ↓	0,038	0,004	90,6 ↓
C 22:0	0,118	0,026	78,2 ↓	0,156	0,022	85,7 ↓
C 24:0	0,138	0,014	89,8 ↓	0,439	0,040	90,9 ↓
<b>Nasycené MK</b>	<b>3,193</b>	<b>6,736</b>	<b>110,9 ↑</b>	<b>2,644</b>	<b>3,965</b>	<b>49,9 ↑</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>5,317</b>	<b>0,502</b>	<b>90,5 ↓</b>	<b>3,850</b>	<b>0,653</b>	<b>83,0 ↓</b>

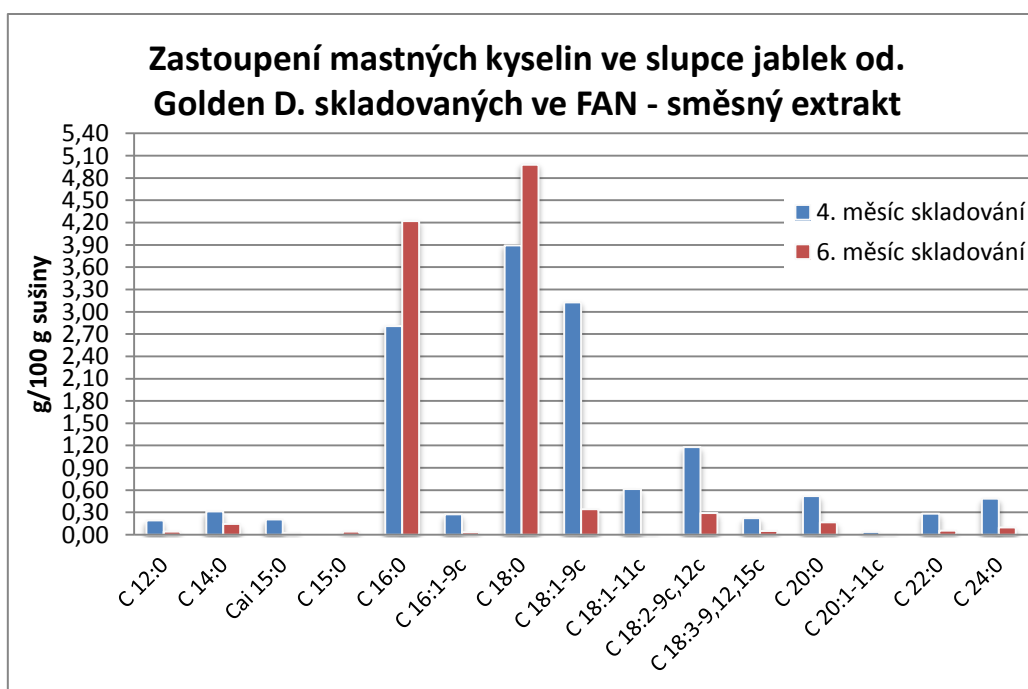
V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasycených mastných kyselin (MK) zvýšil v jablcích Golden Delicious skladovaných v obou atmosférách, stejně jako u odrůdy Šampion. Vyšší hodnoty byly zjištěny v plodech z normální atmosféry 3,2 až 6,7 g na 100 g sušiny (zvýšení na 2,1násobek), v jablcích uchovávaných v modifikované atmosféře se obsah nasycených mastných kyselin zvýšil o polovinu z hodnoty 2,6 g na 4,0 g/100 g sušiny. Naopak obsah nenasycených mastných kyselin v průběhu dvou měsíců poklesl. Vyšší hodnoty byly naměřeny v plodech z normální atmosféry (na rozdíl od odrůdy Šampion), kdy došlo k poklesu o 91 % z hodnoty 5,3 g na 0,5 g /100 g sušiny. V plodech z modifikované atmosféry došlo k poklesu nenasycených MK z hodnoty 3,9 g na 0,7 g /100 g sušiny (o 83 %).

U odrůdy Golden Delicious došlo ke zvýšení obsahu kyseliny palmitové a stearové, stejně tak jako u odrůdy Šampion v průběhu 2 měsíců skladování. Avšak zatímco u odrůdy Šampion se jednalo o zvýšení cca o 55 %, u Golden Delicious došlo k navýšení obsahu kyseliny palmitové o 77 až 103 % a kys. stearové o 248 až 355 %. Nejvyšší nárůst hodnot obou těchto kyselin byl zaznamenán u plodů uchovávaných v RA. Dále byl zjištěn úbytek ostatních mastných kyselin v průběhu skladování. Tento úbytek byl velmi podobný pro obě skladovací atmosféry. Vyšší obsah MK C 12:0 – C 18:1-11c byl zjištěn u plodů uchovávaných v RA a vyšší hodnoty kyselin C 18:2-9c,12c – C 24:0 u plodů uchovávaných ve FAN.





*Obrázek č. 69:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v normální atmosféře



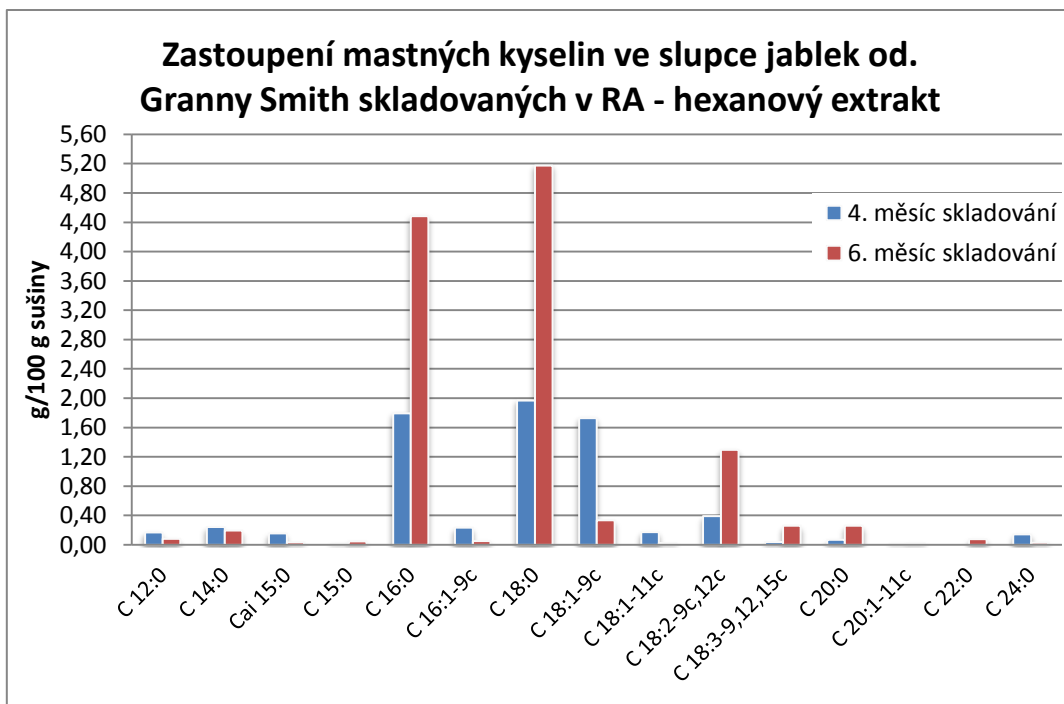
*Obrázek č. 70:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v modifikované atmosféře

Tabulka č. 45: Porovnání obsahu mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Granny Smith (hexanový extrakt) skladované ve stejné atmosféře v závislosti na době skladování

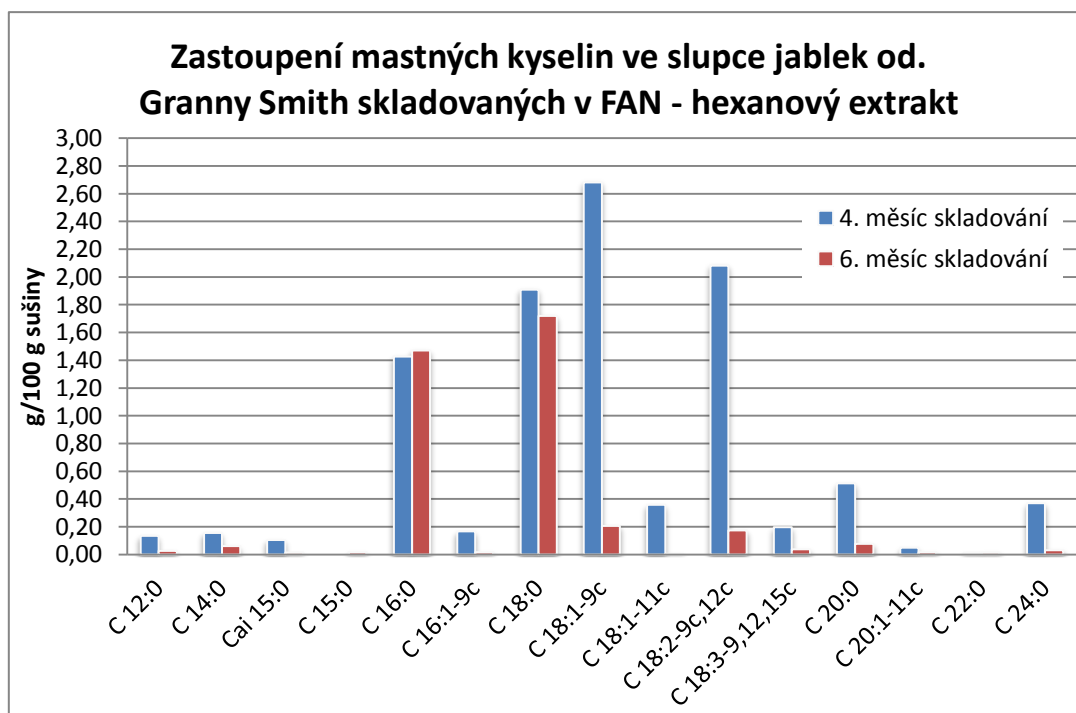
Granny S. slupka Doba skladování/ g/100g sušiny MK	Uskladnění v norm. atmosféře			Uskladnění v modif. atmosféře		
	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl
C 12:0	0,171	0,081	52,5 ↓	0,135	0,028	79,4 ↓
C 14:0	0,242	0,194	19,7 ↓	0,157	0,061	61,3 ↓
Cai 15:0	0,157	0,035	77,8 ↓	0,106	0,014	86,5 ↓
C 15:0	0,016	0,049	202,7 ↑	0,000	0,017	98,2 ↑
C 16:0	1,796	4,486	149,8 ↑	1,428	1,471	3,0 ↑
C 16:1-9c	0,235	0,052	77,6 ↓	0,167	0,018	89,2 ↓
C 18:0	1,969	5,177	162,8 ↑	1,908	1,720	9,8 ↓
C 18:1-9c	1,731	0,337	80,5 ↓	2,682	0,208	92,2 ↓
C 18:1-11c	0,175	0,025	85,5 ↓	0,358	0,006	98,3 ↓
C 18:2-9c,12c	0,393	1,297	229,9 ↑	2,083	0,176	91,5 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,038	0,261	592,8 ↑	0,198	0,038	80,9 ↓
C 20:0	0,068	0,264	289,1 ↑	0,513	0,078	84,7 ↓
C 20:1-11c	0,014	0,028	97,7 ↑	0,049	0,017	65,0 ↓
C 22:0	0,000	0,078	92,1 ↓	0,014	0,016	19,7 ↑
C 24:0	0,145	0,031	78,7 ↓	0,370	0,032	91,2 ↓
<b>Nasyčené MK</b>	<b>4,564</b>	<b>10,394</b>	<b>127,7 ↑</b>	<b>4,630</b>	<b>3,438</b>	<b>25,7 ↓</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>2,585</b>	<b>2,000</b>	<b>22,6 ↓</b>	<b>5,538</b>	<b>0,462</b>	<b>91,6 ↓</b>

V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasyčených mastných kyselin (MK) zvýšil v jablcích pozdně zimní odrůdy Granny Smith skladovaných v normální atmosféře (z 4,6 g na 10,4 g/100 g sušiny). V jablcích skladovaných v modifikované atmosféře se obsah nasyčených MK snížil o čtvrtinu (z 4,6 g na 3,4 g/100 g sušiny), na rozdíl od ostatních odrůd jablek. Obsah nenasycených mastných kyselin v průběhu dvou měsíců poklesl v jablcích z obou atmosfér – o necelou čtvrtinu u plodů z RA (z 2,6 g na 2 g/100 g sušiny) a o 9/10 u plodů z FAN (z 5,5 g na 0,5 g/100 g sušiny).

Dále byl zjištěn velký rozdíl obsahu MK v normální a modifikované atmosféře. Zatímco u vzorků uchovávaných ve FAN došlo k nárůstu hodnot u kyseliny pentadekanové (2x), palmitové (pouze o 3 %) a behenové (o pětinu) u vzorků uchovávaných v RA došlo k výraznějšímu zvýšení u kyseliny pentadekanové (3x), palmitové (2,5x), stearové (2,6x), linolové (3,3x), linoleové (7x), arachové (4x) a gadolejové (2x). U ostatních MK byl zaznamenán velmi podobný úbytek pro obě skladovací atmosféry.



*Obrázek č. 71:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Granny Smith skladovaných v normální atmosféře - hexanový extrakt



*Obrázek č. 72:* Zastoupení mastných kyselin ve slupce jablek odrůdy Granny Smith skladovaných v modifikované atmosféře - hexanový extrakt

U podzimní odrůdy Šampion byly zaznamenány největší rozdíly hodnot MK mezi skladováním ve FAN a RA ve čtvrtém měsíci. V šestém měsíci skladování nebyly tyto změny tak velké. U zimní odrůdy Golden Delicious zaznamenáváme stejně jako u odrůdy Šampion největší rozdíly ve 4. měsíci, avšak v 6. měsíci došlo taktéž k významným změnám. Pozdně zimní odrůda Granny Smith vykazuje největší rozdíly až v 6. měsíci skladování. Jak tedy z výsledků vyplývá, obsah MK ve slupkách dozrávajících nebo přezrálých jablek uchovávaných v RA a FAN se příliš neliší, největší rozdíly byly zaznamenány v době konzumační zralosti. V jablcích odrůd Šampion skladovaných ve RA byl zaznamenán vyšší obsah mastných kyselin s krátkým řetězcem C 12:0 – C 18:0 oproti jablkům uskladněným ve FAN. V jablcích odrůdy Golden Delicious z RA bylo vyšší množství kyselin s krátkým a středně krátkým řetězcem a C 12:0 – C 18:1-11c + C 20:0 oproti plodům z FAN. V jablcích odrůdy Granny Smith uskladněných v normální atmosféře po dobu 4 měsíců byly hodnoty kyselin s krátkým řetězcem vyšší oproti jablkům z FAN, v 6. měsíci skladování bylo vyšší množství kyselin krátkých, středně krátkých i dlouhých řetězců C 12:0 – C 22:0 naměřeno v jablcích z RA oproti FAN.

V průběhu skladování byly pozorovány změny obsahu nenasycených esenciálních mastných kyselin v jednotlivých odrůdách jablek a také obsahu kyseliny linolové. Po 120 dnech skladování byl nejvyšší obsah kyseliny linolové nalezen v jablcích odrůdy Granny Smith následované odrůdou Šampion a Golden Delicious. Naopak, jablka odrůdy Golden Delicious vykazovala nejnižší stupeň nasycení. Po 120 dnech skladování v modifikované atmosféře byly naměřeny vyšší absolutní hodnoty nenasycených MK ve všech testovaných odrůdách, stejně jako výrazné snížení obsahu kyseliny linolové po 180 dnech skladování ve srovnání s RA.

Podobné rozdíly v obsahu kyseliny linolové byly zjištěny v nedávné studii vybraných osmi testovacích odrůd jablek [108]. Kyselina linolová a  $\alpha$ -linolenová patří mezi esenciální mastné kyseliny. Stravovací režim založený zejména na konzumaci masa, potravin s vysokým obsahem škrobu, ovoce a zeleniny je obecně chudý na obsah omega-3 mastných kyselin. Jejich zastoupení v potravinách je proto velmi významné. Stejně jako v naší studii, Wu a jeho kolektiv našli nadbytek nasycených mastných kyselin (poměr nasycených a nenasycených MK) ve všech testovaných odrůdách jablek. Optimální hodnota poměru nasycených a nenasycených MK je 30:70 nebo méně [80].

Výše uvedené údaje byly získány ze vzorků čerstvých jablek. Během dlouhodobého skladování v naší studii došlo ke zvýšení nasycení MK slupky jablek doprovázené hromaděním MK s kratším řetězcem a s celkovým úbytkem obsahu MK.

### 5.1.12 Porovnání obsahu mastných kyselin v dužině jablek

Dužina plodů jablek je méně bohatá na lipidické látky, avšak i zde určité zastoupení mají. Mezi majoritní MK patří kyselina palmitová, stearová, olejová, linolová a linoleová.

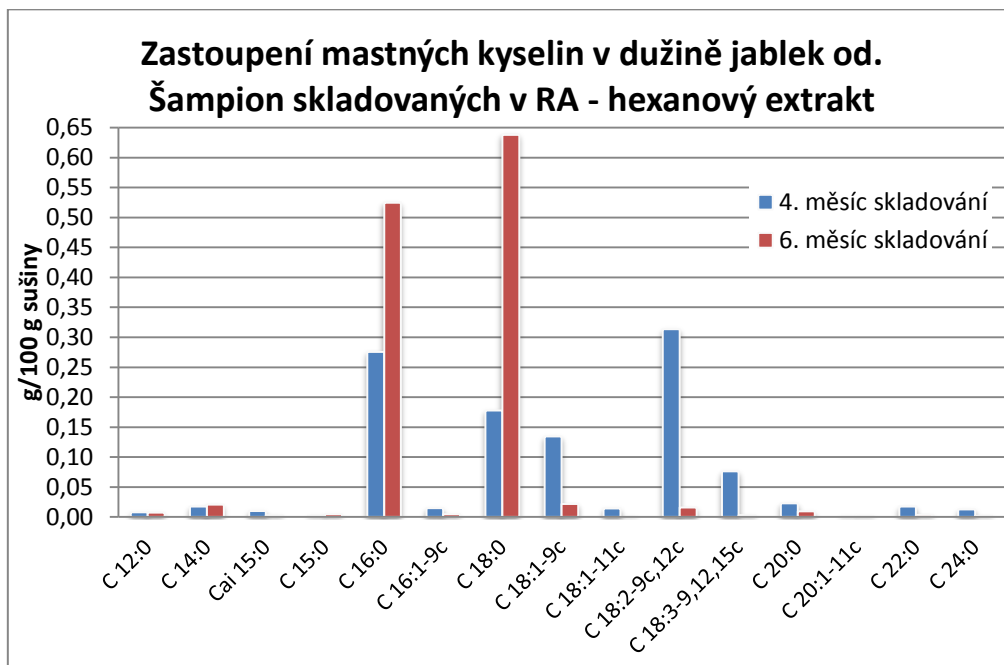
*Tabulka č. 46:* Porovnání obsahu mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Šampion v závislosti na době skladování

<b>Šampion dužina</b>	<b>Uskladnění v norm. atmosféře</b>			<b>Uskladnění v modif. atmosféře</b>		
	<i>4. měsíc</i>	<i>6. měsíc</i>	<i>% rozdíl</i>	<i>4. měsíc</i>	<i>6. měsíc</i>	<i>% rozdíl</i>
Doba skladování/ g/100g sušiny MK						
C 12:0	0,008	0,007	5,2 ↓	0,014	0,001	96,0 ↓
C 14:0	0,017	0,020	18,9 ↑	0,020	0,001	92,6 ↓
Cai 15:0	0,010	0,003	70,2 ↓	0,014	0,000	98,1 ↓
C 15:0	0,002	0,004	118,4 ↑	0,003	0,000	90,8 ↓
C 16:0	0,275	0,524	90,3 ↑	0,253	0,041	83,9 ↓
C 16:1-9c	0,015	0,004	70,4 ↓	0,020	0,000	98,3 ↓
C 18:0	0,178	0,638	259,1 ↑	0,251	0,043	82,7 ↓
C 18:1-9c	0,134	0,022	83,7 ↓	0,355	0,047	86,8 ↓
C 18:1-11c	0,014	0,000	96,9 ↓	0,024	0,001	96,9 ↓
C 18:2-9c,12c	0,313	0,016	94,9 ↓	0,286	0,035	87,8 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,076	0,003	96,0 ↓	0,075	0,002	97,9 ↓
C 20:0	0,023	0,009	60,0 ↓	0,047	0,001	97,0 ↓
C 20:1-11c	0,001	0,001	40,1 ↑	0,005	0,000	99,0 ↓
C 22:0	0,017	0,003	80,7 ↓	0,015	0,001	94,5 ↓
C 24:0	0,013	0,002	87,4 ↓	0,028	0,000	98,9 ↓
<b>Nasyčené MK</b>	<b>0,543</b>	<b>1,211</b>	<b>123,0 ↑</b>	<b>0,644</b>	<b>0,089</b>	<b>86,1 ↓</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>0,554</b>	<b>0,047</b>	<b>91,5 ↓</b>	<b>0,765</b>	<b>0,084</b>	<b>89,0 ↓</b>

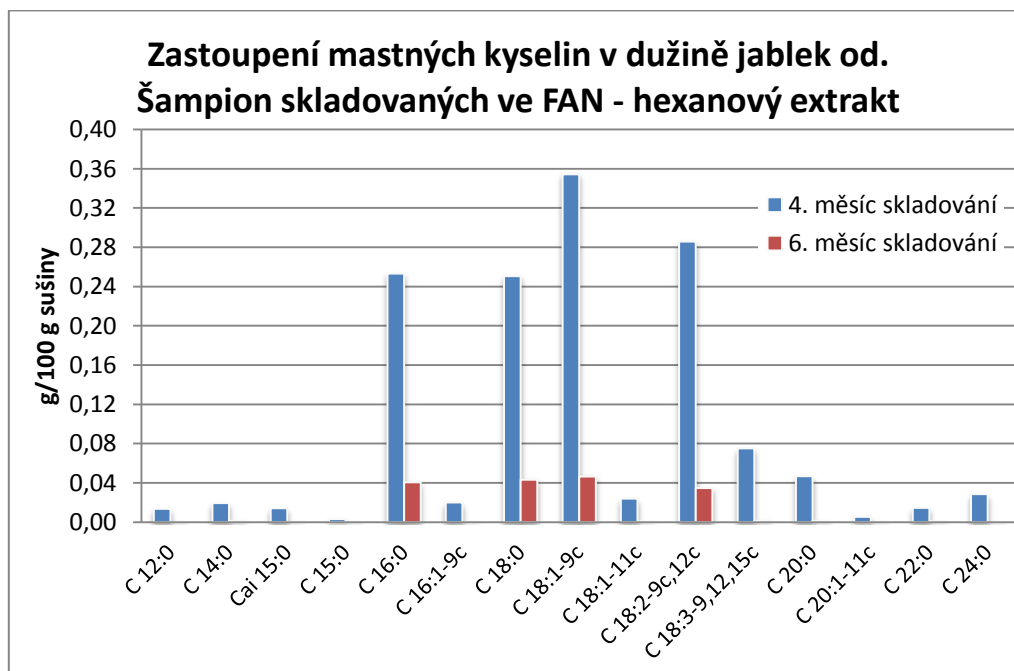
V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasycených mastných kyselin (MK) zvýšil v jablcích skladovaných v normální atmosféře z 0,54 g na 1,21 g/100 g sušiny. V jablcích uchovávaných v modifikované atmosféře se obsah nasycených mastných kyselin výrazně snížil z hodnoty 0,64 g na 0,09 g/100 g sušiny. Také obsah nenasycených mastných kyselin v průběhu dvou měsíců poklesl. Vyšší hodnoty byly naměřeny v plodech z FAN, kde došlo k poklesu z hodnoty 0,77 g na 0,08 g/100 g sušiny. V plodech z RA došlo k poklesu nenasycených MK z hodnoty 0,55 g na 0,05 g/100 g sušiny.

Kyselina linoleová byla obsažena v plodech uchovávaných v obou atmosférách v podobném množství ve čtvrtém i šestém měsíci skladování (od 0,003 do 0,076 g na 100 g sušiny). Hodnoty kyseliny linolové byly taktéž velmi podobné v dužině plodů uchovávaných v obou prostředích (cca 0,3 g na 100 g sušiny ve čtvrtém měsíci, poté došlo k poklesu na 1/10 pův. hodnoty). Kyselina olejová byla trojnásobně více obsažena v plodech uchovávaných v atmosféře se sníženým obsahem kyslíku (0,355 g na 100 g sušiny ve 4. měsíci skladování, poté klesla na 1/10 hodnoty stejně tak jako u plodů z RA). Zatímco byl u plodů z RA zjištěn

nárůst obsahu kyseliny stearové z hodnoty 0,177 g na 100 g sušiny na 4násobek v průběhu skladování, u plodů z FAN došlo ke snížení na 1/10 původní hodnoty ve čtvrtém měsíci skladování 0,251 g na 100 g sušiny. Velmi podobně se jeví hodnoty kyseliny palmitové. Zatímco u plodů z RA pozorujeme skoro dvojnásobné zvýšení kys. palmitové, u plodů z FAN naopak pokles na 2/10 pův. hodnoty.



*Obrázek č. 73:* Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Šampion skladovaných v normální atmosféře



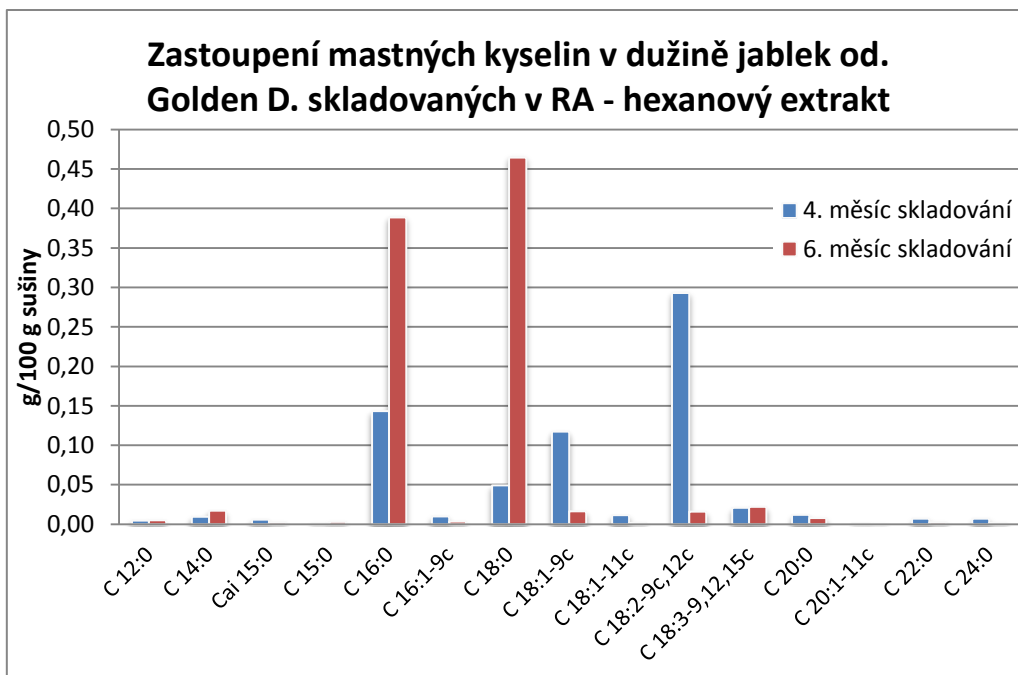
*Obrázek č. 74:* Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Šampion skladovaných v modifikované atmosféře

Tabulka č. 47: Porovnání obsahu mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Golden Delicious (hexanový extrakt) v závislosti na době skladování

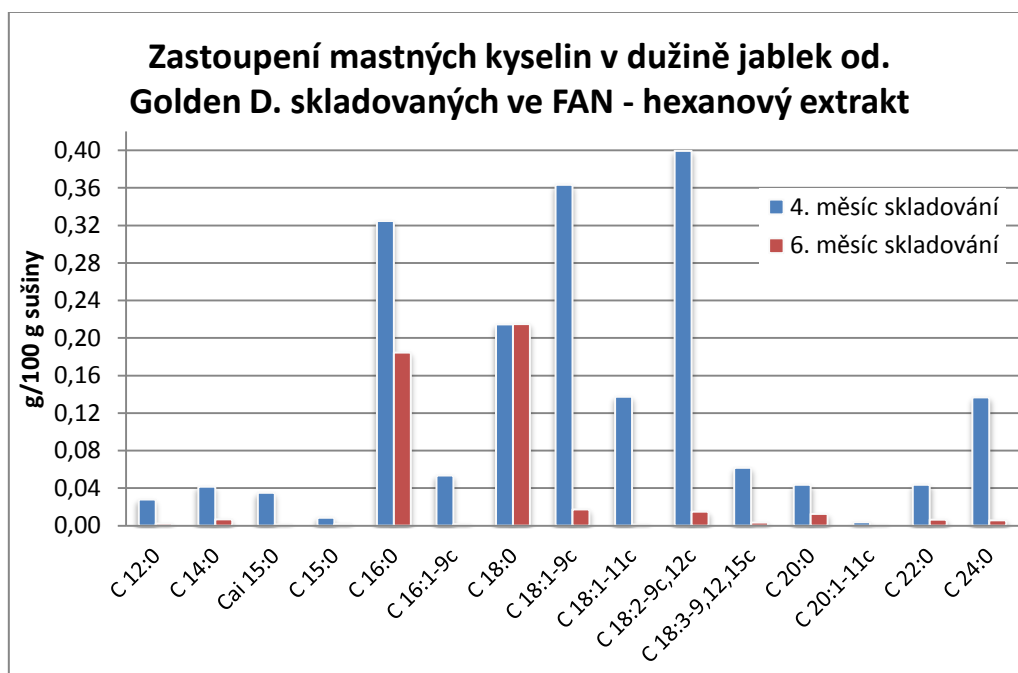
Golden D. dužina Doba skladování/ g/100g sušiny MK	Uskladnění v norm. atmosféře			Uskladnění v modif. atmosféře		
	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl	4. měsíc	6. měsíc	% rozdíl
C 12:0	0,005	0,005	4,3 ↑	0,028	0,001	98,0 ↓
C 14:0	0,010	0,017	79,9 ↑	0,042	0,001	96,5 ↓
Cai 15:0	0,006	0,003	53,4 ↓	0,035	0,000	99,2 ↓
C 15:0	0,002	0,003	99,8 ↑	0,008	0,000	96,6 ↓
C 16:0	0,144	0,389	170,8 ↑	0,325	0,041	87,4 ↓
C 16:1-9c	0,010	0,003	65,7 ↓	0,053	0,000	99,3 ↓
C 18:0	0,049	0,465	840,2 ↑	0,214	0,043	79,8 ↓
C 18:1-9c	0,118	0,016	85,9 ↓	0,363	0,047	87,1 ↓
C 18:1-11c	0,012	0,002	82,2 ↓	0,137	0,001	99,4 ↓
C 18:2-9c,12c	0,293	0,016	94,5 ↓	0,399	0,035	91,2 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,021	0,022	5,6 ↑	0,062	0,002	97,4 ↓
C 20:0	0,012	0,008	32,4 ↓	0,044	0,001	96,8 ↓
C 20:1-11c	0,001	0,000	74,8 ↓	0,004	0,000	98,6 ↓
C 22:0	0,007	0,003	61,3 ↓	0,044	0,001	98,1 ↓
C 24:0	0,007	0,002	75,3 ↓	0,137	0,000	99,7 ↓
<b>Nasyčené MK</b>	<b>0,242</b>	<b>0,876</b>	<b>261,9 ↑</b>	<b>0,895</b>	<b>0,436</b>	<b>51,2 ↓</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>0,455</b>	<b>1,019</b>	<b>123,9 ↑</b>	<b>0,061</b>	<b>0,039</b>	<b>36,0 ↓</b>

V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasyčených mastných kyselin (MK) snížil v jablcích odrůdy Golden Delicious v modifikované atmosféře (o polovinu z hodnoty 0,90 g na 0,44 g/100 g sušiny). V jablcích z normální atmosféry došlo naopak k 3,6násobnému nárůstu hodnot nasyčených kyselin (z 0,24 g na 0,88 g/100 g sušiny). Zatím co se obsah nenasycených kyselin zvyšoval v jablcích z RA z hodnoty 0,46g na 1,02 g ve 100 g sušiny, v jablcích uchovávaných v modifikované atmosféře došlo k poklesu obsahu kyselin z hodnoty 0,06 g na 0,04 g/ 100 g sušiny.

Dužina plodů odrůdy Golden Delicious skladovaných v atmosféře se sníženým obsahem kyslíku vykazuje jednoznačný úbytek všech sledovaných mastných kyselin o 80 až 99 %. U plodů z RA jsme zaznamenali výraznější zvýšení obsahu kyseliny myristové (1,8x), pentadekanové (2x), palmitové (2,7x) a stearové (9,4x). Naopak výrazné snížení kyseliny olejové (o 86 %) a linolové (o 95 %).



Obrázek č. 75: Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v normální atmosféře - hexanový extrakt



Obrázek č. 76: Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Golden Delicious skladovaných v modifikované atmosféře - hexanový extrakt

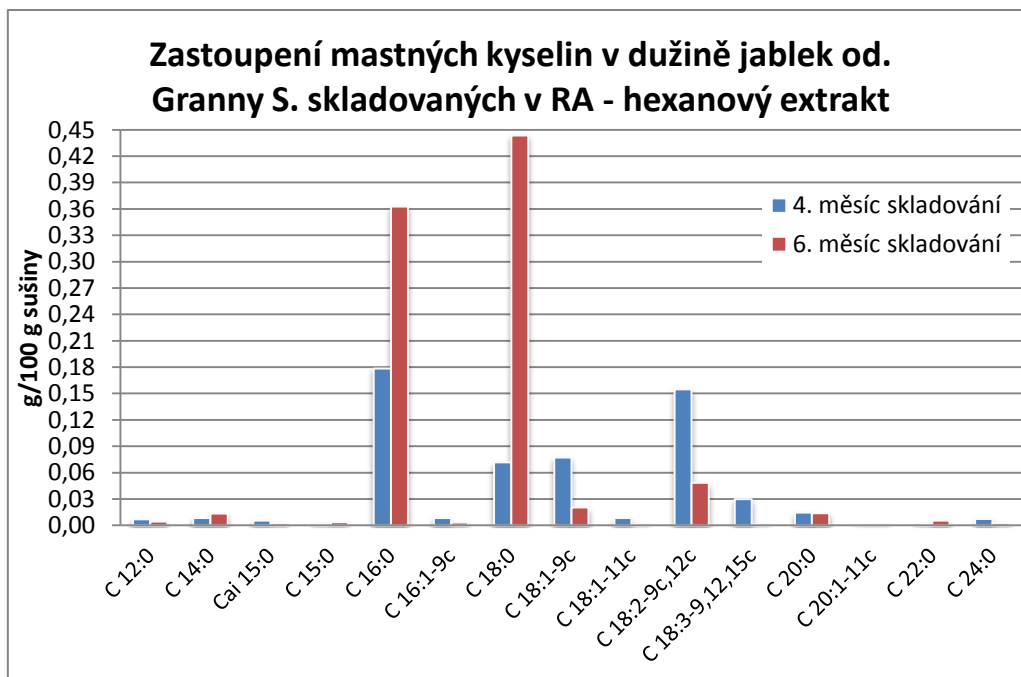


Tabulka č. 48: Porovnání obsahu mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Granny Smith (hexanový extrakt) v závislosti na době skladování

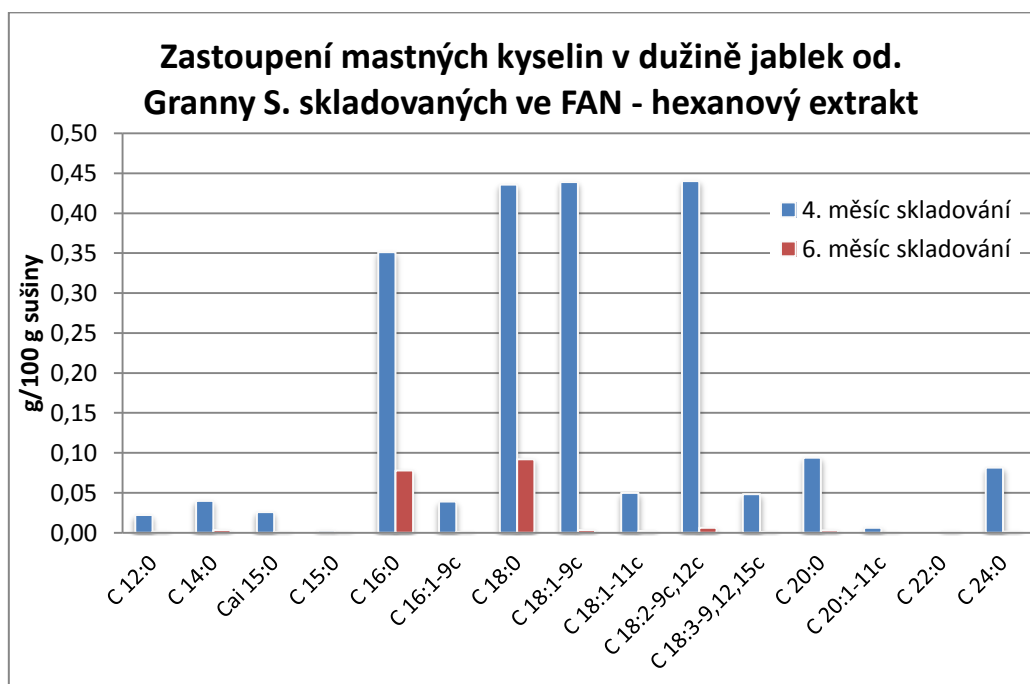
<b>Granny S. dužina</b>	<b>Uskladnění v norm. atmosféře</b>			<b>Uskladnění v modif. atmosféře</b>		
	<i>4. měsíc</i>	<i>6. měsíc</i>	<i>% rozdíl</i>	<i>4. měsíc</i>	<i>6. měsíc</i>	<i>% rozdíl</i>
Doba skladování/ g.100g <sup>-1</sup> sušiny MK						
C 12:0	0,007	0,005	33,4 ↓	0,022	0,002	92,7 ↓
C 14:0	0,008	0,014	60,4 ↑	0,040	0,003	91,7 ↓
Cai 15:0	0,005	0,003	48,9 ↓	0,026	0,001	96,5 ↓
C 15:0	0,002	0,004	62,8 ↑	0,003	0,001	69,2 ↓
C 16:0	0,179	0,363	103,1 ↑	0,351	0,078	77,8 ↓
C 16:1-9c	0,008	0,003	61,7 ↓	0,039	0,001	97,6 ↓
C 18:0	0,072	0,444	516,5 ↑	0,436	0,092	78,9 ↓
C 18:1-9c	0,077	0,020	73,6 ↓	0,439	0,003	99,2 ↓
C 18:1-11c	0,008	0,001	85,8 ↓	0,050	0,002	95,4 ↓
C 18:2-9c,12c	0,155	0,048	68,7 ↓	0,441	0,006	98,6 ↓
C 18:3-9,12,15c	0,030	0,001	96,1 ↓	0,048	0,001	97,8 ↓
C 20:0	0,015	0,014	4,3 ↓	0,094	0,003	96,6 ↓
C 20:1-11c	0,001	0,001	16,7 ↑	0,006	0,000	96,7 ↓
C 22:0	0,002	0,005	208,0 ↑	0,000	0,002	100,0 ↑
C 24:0	0,007	0,002	66,5 ↓	0,082	0,002	98,1 ↓
<b>Nasyčené MK</b>	<b>0,297</b>	<b>0,853</b>	<b>187,2 ↑</b>	<b>1,053</b>	<b>0,183</b>	<b>82,6 ↓</b>
<b>Nenasycené MK</b>	<b>0,279</b>	<b>0,075</b>	<b>73,1 ↓</b>	<b>1,023</b>	<b>0,014</b>	<b>98,6 ↓</b>

V průběhu dvou měsíců skladování se obsah nasyčených mastných kyselin (MK) zvýšil v jablcích skladovaných v normální atmosféře na 2,9násobek (z 0,30 g na 0,85 g/100 g sušiny). V jablcích uchovávaných v modifikované atmosféře se obsah nasyčených mastných kyselin snížil na 4/10 pův. hodnoty (z 1,05 g na 0,18 g/100 g sušiny). Také obsah nenasycených mastných kyselin v průběhu dvou měsíců poklesl. Vyšší hodnoty byly naměřeny v plodech z FAN, kdy došlo k velkému poklesu z hodnoty 1,02 g na 0,01 g/100 g sušiny. V plodech z RA došlo k poklesu nenasycených MK z hodnoty 0,28 g na 0,08 g/100 g sušiny (pokles o 3/4 pův. hodnoty).

Velmi podobný profil MK jako byl u dužiny plodů odrůdy Golden Delicious zaznamenáváme i u odrůdy Granny Smith. Obsah všech MK v dužině plodů z FAN v průběhu skladování poklesl cca o 3/4 pův. hodnoty. U plodů z RA jsme našli zvýšení obsahu kyseliny myristové (1,6x), pentadekanové (1,6x), palmitové (2x) a stearové (6x) a také snížení kyseliny olejové (o 3/5 pův. hodnoty), linolové (o 2/3 pův. hodnoty) a linoleové (o 9/10 pův. hodnoty).



*Obrázek č. 77:* Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Granny Smith skladovaných v normální atmosféře - hexanový extrakt



*Obrázek č. 78:* Zastoupení mastných kyselin v dužině jablek odrůdy Granny Smith skladovaných v modifikované atmosféře - hexanový extrakt

Srovnáním hodnot mastných kyselin v odlišných skladovacích podmínkách jsme zjistili, že ve čtvrtém měsíci skladování obsahovala jablka z normální atmosféry nižší množství MK než jablka z modifikované atmosféry. V šestém měsíci však došlo k nárůstu hodnot právě v jablcích z normální atmosféry oproti jablkům z FAN.

### 5.1.13 Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena s využitím obousměrné analýzy rozptylu ANOVA (viz kap. 4.5.3). Údaje z tabulek č. 43 až 48 byly hodnoceny ve dvou režimech: i) typ mastných kyselin vs doba skladování a ii) typ mastných kyselin vs typ skladovací atmosféry. Ve slupce jablek byl nalezen významný vliv typu mastné kyseliny a jejího obsahu ve slupce ( $P < 0,05$ ), významný vliv kombinace doby skladování vs obsah MK ( $P = 0,181$ ) a i typ MK vs její obsah ( $P < 0,05$ ). Tudíž se během doby skladování obsah jednotlivých mastných kyselin výrazně změnil. Volba skladovací atmosféry nevykazuje významný vliv na obsah jednotlivých mastných kyselin ( $P = 0,418$ ), kombinace typu MK vs obsah nebo vs typ atmosféry rovněž nebyla signifikantní ( $P = 0,994$ ).

Zjistili jsme, že doba skladování má významný vliv na zastoupení jednotlivých MK v dužině jablek ( $P = 0,042$ ). Také byl zjištěn statisticky významný vztah mezi typem jednotlivých MK a jejich obsahem ( $P = 0,004$ ). Kombinace obou faktorů nebyla významná ( $P = 0,282$ ). Podobně jako ve slupce, skladovací atmosféra nevykazuje významný vliv na obsah MK ( $P = 0,625$ ), byl však nalezen významný vztah mezi druhem MK a jejím množstvím ( $P = 0,042$ ).

Údaje z tabulky č. 50 byly analyzovány v podobném režimu, rozdíly mezi jednotlivými odrůdami byly zanedbány. Doba skladování a volba skladovací atmosféry byly jediné faktory testované pro ověření potenciálního vlivu na stupeň nasycení MK. Obě doby skladování ( $P = 0,000$ ) a skladovací atmosféry ( $P = 0,048$ ) vykazovaly statisticky významný vliv na stupeň nasycení. Zatímco po 120 dnech skladování nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v stupni nasycení, během 180 dnů skladování byly nalezeny statisticky významné rozdíly. Můžeme tedy říct, že skladování v modifikované atmosféře může výrazně snížit míru nasycení v kůži jablka.

Po vyhodnocení rozdílů celkového množství MK ve slupce a dřeni jablek během skladování jsme zjistili, že zatímco celkové množství MK ve slupce jablek z RA i FAN mírně pokleslo, ve dřeni jablek z RA došlo ke zvýšení celkového množství MK oproti dřeni jablek z FAN (dramatický pokles celkových MK). Vzhledem k obecně nízkému obsahu MK ve dřeni jablek, tyto změny mohou být doprovázeny postupnými změnami textury a senzorické kvality plodů jablek.

*Tabulka 50:* Přibližný poměr nasycených a nenasycených MK v analyzovaných odrůdách jablek

Odrůda jablek	Šampion		Golden Delicious		Granny Smith	
Poměr nasycených a nenasycených MK	120 dní	180 dní	120 dní	180 dní	120 dní	180 dní
RA	2,5	7,5	0,3	10,5	2,0	6,3
FAN	0,8	6,0	0,4	5,0	0,7	6,0

Změny v obsahu a složení tuků v povrchových vrstvách, srovnávané u několika odrůd jablek při dlouhodobém skladování v řízené atmosféře, se lišily v závislosti na koncentraci kyslíku, době skladování a odrůdě jablek. Lze shrnout, že mezi nejvíce zastoupené mastné kyseliny, analyzované ve slupkách všech odrůd jablek, patří kyselina palmitová C 16:0, kyselina stearová C 18:0, kyselina olejová C 18:1-9c a kyselina linolová C 18:2-9c,12c.

V jablcích skladovaných po dobu čtyř měsíců v normální atmosféře byl zaznamenán významně vyšší obsah kyseliny palmitové, olejové a zejména kyseliny stearové. V průběhu dalších dvou měsíců došlo k poklesu všech kyselin s výjimkou kyseliny palmitové a zejména stearové, jejichž obsah výrazně převýšil hodnoty naměřené ve 4. měsíci skladování. U zimní odrůdy jablek Granny Smith bylo v šestém měsíci skladování zaznamenáno zvýšení hladiny kyseliny linolové. Jablka odrůdy Golden Delicious si zachovala mírně vyšší obsah kyseliny linolové než jablka odrůdy Šampion.

V jablcích skladovaných v modifikované atmosféře po dobu čtyř měsíců byl zaznamenán výrazně vyšší obsah kyseliny palmitové, stearové, olejové a linolové. Zastoupení kyseliny olejové výrazně převyšovalo ostatní MK ve všech testovaných odrůdách jablek. Během dalších dvou měsíců skladování došlo k nárůstu hodnot kyseliny palmitové a zejména stearové. Ostatní MK výrazně poklesly ve všech odrůdách jablek.

Dužina plodů jablek je méně bohatá na lipidické látky, avšak i zde určité zastoupení mají. Opět mezi majoritní MK patří kyselina palmitová C 16:0, kyselina stearová C 18:0, kyselina olejová C 18:1-9c, kyselina linolová C 18:2-9c,12c a také kyselina linoleová C 18:3-9c,12c,15c (na rozdíl od slupek). V dužině jablek skladovaných čtyři měsíce v normální atmosféře bylo zjištěno výrazně vyšší množství kyseliny palmitové, stearové, olejové a kyseliny linolové, oproti zbývajícím mastným kyselinám. Zastoupení kyseliny linolové výrazně převyšovalo ostatní MK ve všech testovaných odrůdách jablek. V průběhu dalších dvou měsíců došlo k výraznému zvýšení obsahu kyseliny palmitové a zejména stearové, obsah ostatních kyselin výrazně poklesl. V jablcích skladovaných v modifikované atmosféře po dobu čtyř měsíců by zaznamenán obsah kys. palmitové, stearové, olejové a linolové. Během dalších dvou měsíců skladování došlo k výraznému poklesu všech mastných kyselin.

Stárnutím jablek dochází na jedné straně k poklesu hladiny nenasycených mastných kyselin a na druhé straně k nárůstu hladiny nasycených kyselin. Vyšší hodnoty nasycených kyselin byly zaznamenány v jablcích skladovaných v normální atmosféře a zejména v jablcích s krátkou dobou skladovatelnosti (Šampion). Celkový stupeň nasycení se tedy zvyšoval s dobou skladování a s obsahem kyslíku ve skladovacím prostředí a to zejména v jablcích s krátkou dobou skladovatelnosti.

## 5.2 Studium vlivu uskladnění jablek v domácích podmínkách na obsah aktivních látek v jablečích odrůdy Golden Delicious a Idared

Jablka odrůdy Golden Delicious a Idared byla uskladněna po dobu osmi týdnů ve třech nejběžněji užívaných prostorách v domácnosti:

- větraná místnost se stálou teplotou 20,4 °C a vlhkostí 38,0 %,
- sklepní prostory se stálou teplotou 9 °C a vlhkostí 38,4 %,
- lednice se stálou teplotou 8 °C a vlhkostí 33,4 %.

### 5.2.1 Celková antioxidační aktivita jablek skladovaných ve spotřebitelských podmínkách

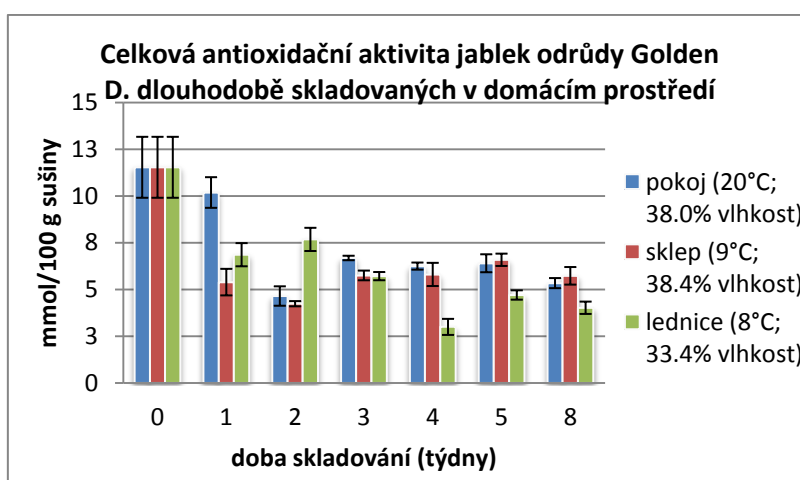
Celková antioxidační aktivita jablek byla měřena ve vzorcích jablek pomocí kitu od firmy Radox, postupem, který je uveden v kapitole 4.4.2 Celková antioxidační aktivita je vyjádřena v látkovém množství TROLOXU ve 100 g sušiny jablek (mmol/100 g sušiny).

Tabulka č. 51: Celková antioxidační aktivita jablek odrůd Golden Delicious a Idared

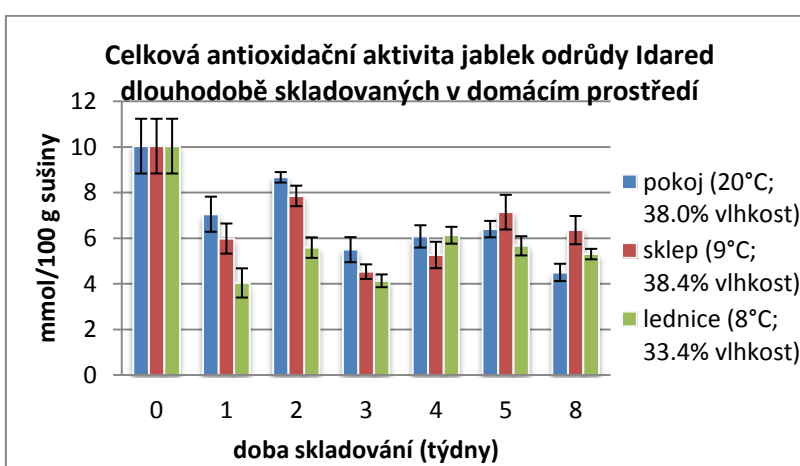
Skladovací podmínky	místnost (20°C; 38,0% vlhkost)	sklep (9°C; 38,4% vlhkost)	lednice (8°C; 33,4% vlhkost)
<b>Doba skladování (týdny)</b>	mmol/100 g sušiny	mmol/100 g sušiny	mmol/100 g sušiny
před skladováním	11,54 ± 1,63	11,54 ± 1,63	11,54 ± 1,63
1	10,19 ± 0,82	5,40 ± 0,82	6,86 ± 0,62
2	4,65 ± 0,52	4,24 ± 0,52	7,68 ± 0,61
3	6,69 ± 0,11	5,75 ± 0,12	5,72 ± 0,22
4	6,25 ± 0,19	5,81 ± 0,19	3,00 ± 0,43
5	6,40 ± 0,48	6,59 ± 0,48	4,71 ± 0,25
8	5,34 ± 0,27	5,73 ± 0,27	4,02 ± 0,33
<b>Celková antioxidační aktivita jablek odrůdy Idared skladované v domácích podmínkách</b>			
Skladovací podmínky	místnost (20°C; 38,0% vlhkost)	sklep (9°C; 38,4% vlhkost)	lednice (8°C; 33,4% vlhkost)
<b>Doba skladování (týdny)</b>	mmol/100 g sušiny	mmol/100 g sušiny	mmol/100 g sušiny
před skladováním	10,04 ± 1,20	10,04 ± 1,20	10,04 ± 1,20
1	7,05 ± 0,77	5,99 ± 0,66	4,04 ± 0,64
2	8,67 ± 0,23	7,85 ± 0,45	5,59 ± 0,45
3	5,50 ± 0,55	4,53 ± 0,32	4,13 ± 0,28
4	6,08 ± 0,49	5,26 ± 0,58	6,13 ± 0,37
5	6,40 ± 0,36	7,14 ± 0,76	5,67 ± 0,42
8	4,50 ± 0,38	6,36 ± 0,62	5,30 ± 0,23

Největší antioxidační aktivita jablek byla zaznamenána na počátku měření, tj. před uskladněním. Celková antioxidační aktivita jablek odrůdy Golden Delicious dosahovala

hodnot 11,5 mmol TROLOXU ve 100 g sušiny, v jablcích odrůdy Idared byla zaznamenána hodnota 10,0 mmol/100 g sušiny. Během prvního týdne skladování se antioxidační aktivita jablek snižovala. Nejnižší hodnoty byly naměřeny v jablcích odrůdy Golden Delicious uskladněných ve sklepě (5,4 mmol/100 g sušiny) a v jablcích odrůdy Idared skladovaných v lednici (4,0 mmol/100 g sušiny). Naopak nejvyšší množství bylo nalezeno u plodů uskladněných ve větrané místnosti s teplotou 20 °C (10,2 mmol/100 g sušiny Golden Delicious a 7,1 mmol/100 g sušiny Idared). Ve druhém týdnu skladování se celková antioxidační aktivita nepatrně zvýšila o 1 až 2 mmol/100 g sušiny ve všech vzorcích jablek odrůdy Idared a u jablek odrůdy Golden Delicious uskladněných v lednici. Ve třetím týdnu uskladnění se antioxidační aktivita jablek od. Golden Delicious uskladněných v místnosti s teplotou 20 °C zvýšila o 2 mmol/100 g sušiny, ve sklepě o 1,5 mmol/100 g sušiny, u jablek v lednici došlo k poklesu aktivity o 2 mmol.



*Obrázek č. 79:* Celková antioxidační aktivita jablek Golden Delicious skladované v domácích podmínkách



*Tabulka č. 80:* Celková antioxidační aktivita jablek Idared skladované v domácích podmínkách

U jablek odr. Idared uskladněných v místnosti s 20 °C a sklepě byl zjištěn také pokles antiox. aktivity o 3 mmol na 100 g sušiny. Jablka uskladněná v lednici snížila antiox. aktivitu o 1,5 mmol. Ve čtvrtém až pátém týdnu se antioxidační aktivita jablek obou odrůd uskladněných v místnosti s 20 °C zvyšovala na hodnotu 6,4 mmol/100 g sušiny, ve sklepě na 6,6 mmol/100 g Golden D. a 7,1 mmol/100 g sušiny Idared a v lednici u Golden D. na 4,7 mmol/100 g sušiny. Antioxidační aktivita jablek odrůdy Idared uskladněných v lednici dosáhla svého druhého maxima ve čtvrtém týdnu skladování (6,1 mmol/100 g sušiny). V osmém týdnu skladování došlo k poklesu aktivit ve všech prostředích. Nejvyšší hodnota byla naměřena u obou odrůd jablek uskladněných ve sklepě.

Lze shrnout, že u skladovaných plodů největší antioxidační aktivita jablek byla zaznamenána ještě před uskladněním (10 až 11,5 mmol TROLOXU ve 100 g sušiny). Během skladování se antioxidační aktivita jablek snižovala, k největšímu poklesu došlo u jablek ve sklepě a v lednici. Naopak nejvyšší množství bylo překvapivě nalezeno u plodů uskladněných ve větrané místnosti s teplotou 20 °C. Snížení antioxidační aktivity bylo způsobeno reakcí na změnu podmínek (zvláště teplotní změnu). V dalších týdnech skladování, kdy se jablka na změnu podmínek aklimatizovala, celková antioxidační aktivita jablek mírně kolísala. V posledním týdnu skladování došlo k poklesu aktivit ve všech prostředích, kdy nejvyšší hodnota byla naměřena u obou odrůd jablek uskladněných ve sklepě. V průběhu celého skladování se vyšší antioxidační aktivita projevila v jablcích uchovávaných v místnosti s teplotou 20 °C, nejmenší pak v lednici. Ke kolísání hodnot antioxidační aktivity došlo v důsledku zapojování obranných mechanismů jablek proti stárnutí a negativnímu vlivu okolního prostředí.

### **5.2.2 Obsah kys. askorbové v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách**

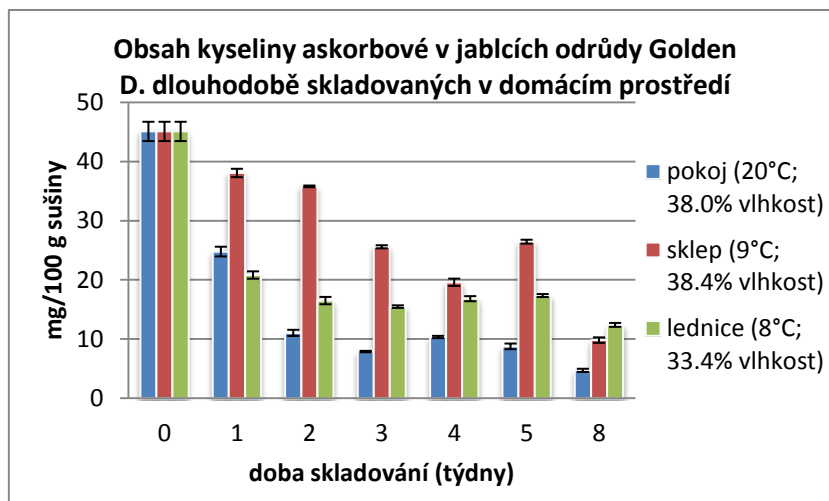
Kyselina askorbová byla stanovována titrační metodou s DCHIP po předchozí extrakci kyseliny do kyselého prostředí, postupem uvedeným v kapitole 4.4. Obsah kyseliny askorbové je vyjádřen jako množství kyseliny ve 100 g sušiny jablek (mg/100 g sušiny).

Tabulka č. 52: Obsah kys. askorbové v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

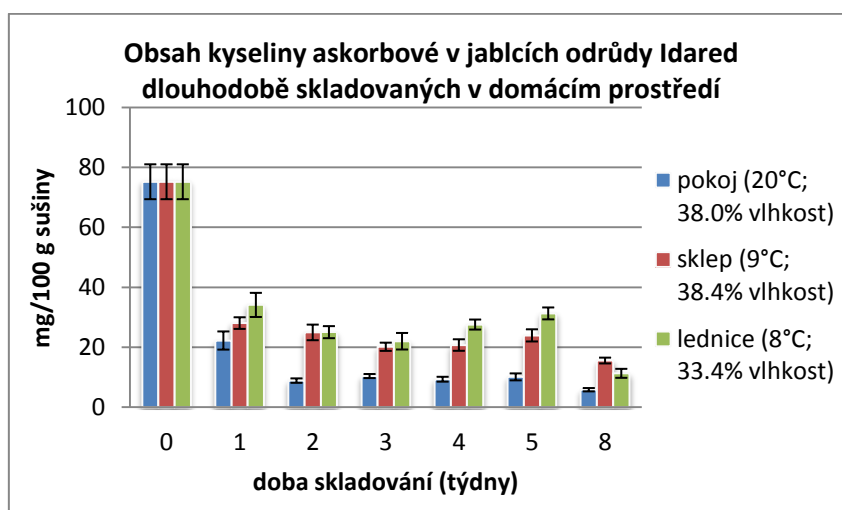
<b>Obsah kys. askorbové v jablcích odrůdy Golden Delicious skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20°C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9°C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8°C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před skladováním	45,11 ± 3,92	45,11 ± 3,92	45,11 ± 3,92
1	24,81 ± 1,33	38,09 ± 1,78	20,84 ± 1,50
2	11,07 ± 1,05	35,83 ± 2,63	16,52 ± 1,14
3	7,91 ± 1,54	25,62 ± 1,67	15,50 ± 1,48
4	10,37 ± 1,91	19,62 ± 1,08	16,84 ± 1,93
5	8,79 ± 0,52	26,48 ± 1,84	17,38 ± 1,56
8	4,74 ± 0,47	9,84 ± 0,75	12,42 ± 0,68
<b>Obsah kys. askorbové v jablcích odrůdy Idared skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20°C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9°C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8°C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před skladováním	75,24 ± 5,82	75,24 ± 5,82	75,24 ± 5,82
1	22,29 ± 3,03	28,11 ± 1,94	34,17 ± 4,02
2	8,93 ± 0,74	25,00 ± 2,60	25,09 ± 2,01
3	10,45 ± 0,68	20,21 ± 1,37	22,06 ± 2,76
4	9,39 ± 0,81	20,79 ± 1,92	27,62 ± 1,67
5	10,17 ± 1,16	24,01 ± 2,03	31,33 ± 1,99
8	5,89 ± 0,56	15,62 ± 0,97	11,36 ± 1,50

Nejvyšší hodnoty kyseliny askorbové byly naměřeny před uskladněním plodů jablek. U odrůdy Golden Delicious bylo zjištěno 45 mg kyseliny ve 100 g sušiny, u jablek odrůdy Idared 75 mg kyseliny/100 g sušiny. V průběhu prvního týdne došlo k největšímu úbytku kyseliny u obou odrůd jablek ve všech prostředích, přičemž největší rozdíly byly zaznamenány u jablek uchovávaných v místnosti s teplotou 20 °C (pokles na 25 mg/100 g sušiny Golden D. a 22 mg/100 g sušiny Idared). V dalších 3 týdnech se hladina kyseliny snižovala s výjimkou jablek odrůdy Idared skladované v místnosti s 20 °C, kdy po třech týdnech skladování se nepatrně zvýšil obsah kyseliny askorbové na 10,5 mg/100 g sušiny. V pátém týdnu skladování došlo ve všech skladovacích prostředí k mírnému zvýšení kyseliny askorbové. V osmém měsíci hladina kyseliny poklesla na minimální naměřené hodnoty. Jablka skladovaná v místnosti s 20 °C obsahovala 4,7 až 5,9 mg kyseliny askorbové ve 100 g sušiny, jablka umístěná ve sklepe 9,8 až 15,6 mg/100 g sušiny a jablka v lednici 11,3 až 12,4 mg/100 g sušiny.





*Obrázek č. 81:* Obsah kys. askorbové v jablcích Golden Delicious skladovaných v domácích podmínkách



*Obrázek č. 82:* Obsah kys. askorbové v jablcích Idared skladovaných v domácích podmínkách

Závěrem lze konstatovat, že nejvyšší hodnoty kyseliny askorbové byly naměřeny před uskladněním plodů jablek (Golden Delicious 45 mg/100 g sušiny, Idared 75 mg/100 g sušiny). V průběhu prvního týdne došlo k největšímu úbytku askorbátu u obou odrůd jablek ve všech prostředích, přičemž největší propad hodnot byl zaznamenán u jablek uchovávaných v místnosti s teplotou 20 °C. Pro uchování kyseliny askorbové v jablcích odrůdy Golden Delicious se jednoznačně jeví jako nejvhodnější skladování ve sklepních prostorech. U jablek odrůdy Idared se jako vhodné jeví uchovávání v lednici i sklepních prostorech. Je tedy zřejmé, že na obsah kyseliny askorbové má největší vliv teplota prostředí.

### 5.2.3 Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách

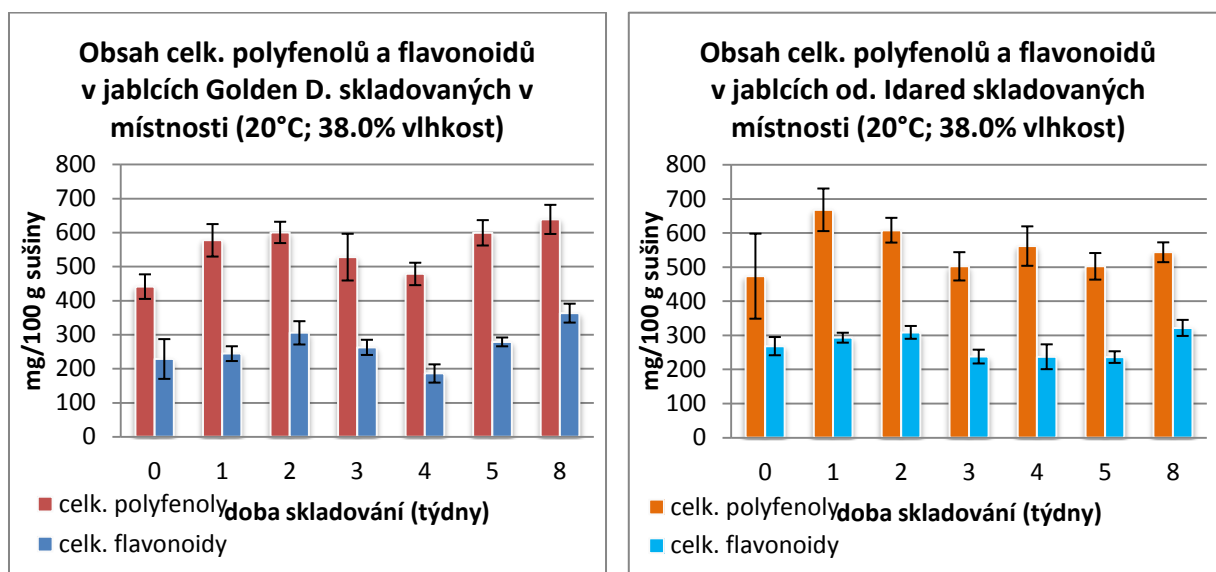
Množství celkových polyfenolů a celkových flavonoidů se stanovuje pomocí spektrometrických metod, které jsou popsány v kapitole 4.4. Obsah celkových polyfenolů je vyjádřen jako množství kyseliny galové ve 100 g sušiny jablek (mg/100 g sušiny) a flavonoidů jako množství katechinu ve 100 g sušiny jablek (mg/100 g sušiny).

*Tabulka č. 53:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v místnosti (20 °C; 38,0% vlhkost)

Odrůda jablek	Golden Delicious		Idared	
	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny
před uskladněním	440,95 ± 36,09	228,43 ± 58,40	473,43 ± 124,64	268,37 ± 26,68
1	576,92 ± 47,73	244,13 ± 21,72	667,98 ± 62,43	293,13 ± 14,52
2	600,13 ± 31,28	305,24 ± 34,26	608,15 ± 36,27	308,75 ± 18,80
3	527,59 ± 68,63	262,58 ± 22,28	502,33 ± 41,49	237,83 ± 20,20
4	478,22 ± 32,92	185,91 ± 26,85	561,70 ± 57,82	237,24 ± 36,40
5	598,93 ± 37,25	278,67 ± 12,97	502,31 ± 38,99	236,29 ± 17,06
8	638,34 ± 42,76	363,10 ± 27,79	543,54 ± 29,06	321,82 ± 23,54

V průběhu skladování se hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů kolísavě měnily, avšak po celou dobu skladování téměř neklesly pod hodnotu naměřenou před uskladněním. V jablcích odrůdy Golden Delicious bylo na počátku skladovacího procesu naměřeno ve 100 g sušiny 441 mg polyfenolů a 228 mg flavonoidů. V prvních dvou týdnech se obsah polyfenolů i flavonoidů zvyšoval, až dosáhl maxima - 600 mg polyfenolů/100 g sušiny (zvýšení o 36 %) a 305 mg flavonoidů/100 g sušiny (zvýšení o 34 %). Do konce čtvrtého týdne se jejich hladina propadala až na hodnoty 478 mg polyfenolů a 189 mg flavonoidů/100 g sušiny. V průběhu dalších dvou týdnů došlo opět k nárůstu hodnot. Nejvyšší množství pak bylo naměřeno v posledním osmém týdnu měření 638 mg polyfenolů (celk. o 45 % více) a 363 mg flavonoidů/100 g sušiny (celk. o 59 % více). V jablcích odrůdy Idared byly před uskladněním naměřeny podobné hodnoty jako u jablek odrůdy Golden Delicious. Hodnota celkových polyfenolů byla stanovena na 473 mg/100 g sušiny a flavonoidů na 268 mg/100 g sušiny. V prvním týdnu skladování se hodnota celkových polyfenolů zvýšila až na 668 mg/100 g sušiny (o 41%) a až do konce třetího týdne skladování tato hodnota klesala až na 502 mg/100 g sušiny. Ve čtvrtém týdnu hladina celkových polyfenolů vzrostla (562 mg /100 g sušiny). Na konci skladování, tj. v osmém týdnu, byla zaznamenána hodnota 544 mg celkových polyfenolů ve 100 g sušiny (celk. zvýšení o 15 %). Hladina celkových flavonoidů se zvyšovala do konce druhého týdne skladování až na hodnotu 309 mg/100 g sušiny (o 15 %). Poté se postupně snižovala až hodnotu 237 mg/100 g sušiny, která byla

naměřena na konci třetího, čtvrtého i pátého týdne skladování. V osmém týdnu se hladina flavonoidů opět zvýšila na 322 mg/100 g sušiny (celkové zvýšení o 20 %).



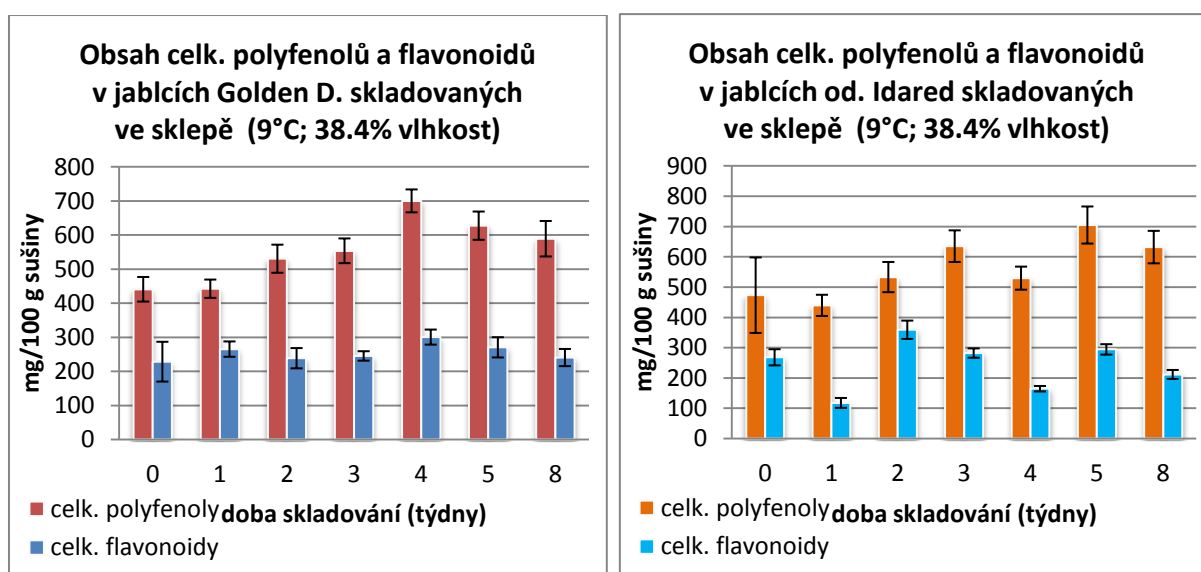
*Obrázek č. 83a,b:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích odrůd Golden Delicious (a) a Idared (b) skladované v místnosti (20 °C; 38,0% vlhkost)

*Tabulka č. 54:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované ve sklepě (9 °C; 38,4% vlhkost)

Odrůda jablek	Golden Delicious		Idared	
	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny
před uskladněním	440,95 ± 36,09	228,43 ± 58,40	473,43 ± 124,64	268,37 ± 26,68
1	442,60 ± 26,85	265,36 ± 22,50	439,79 ± 35,02	117,84 ± 16,33
2	530,57 ± 41,21	238,64 ± 29,76	533,22 ± 49,83	359,32 ± 30,27
3	553,85 ± 36,27	245,27 ± 13,92	635,28 ± 52,21	282,38 ± 15,41
4	700,31 ± 33,63	300,60 ± 22,11	529,70 ± 38,06	164,74 ± 9,00
5	627,60 ± 41,48	270,52 ± 29,72	705,10 ± 61,25	294,45 ± 17,25
8	589,28 ± 52,03	240,61 ± 25,18	632,26 ± 53,60	211,81 ± 14,82

Během skladování ve sklepě docházelo k mnohem menším výkyvům (nárůstu a poklesu) hladiny celkových polyfenolů i flavonoidů, než tomu bylo během skladování v místnosti s 20 °C a 38,0% vlhkostí. U jablek odrůdy Golden Delicious se hladina celkových polyfenolů zvyšovala až do konce čtvrtého týdne skladování na hodnotu 700 mg/100 g sušiny (o 59 %) a stejně tak i hladina flavonoidů na 301 mg/100 g sušiny (o 18 %). Až do konce osmého týdne skladování se obsah polyfenolů snižoval na 589 mg/100 g sušiny (zvýšení o 34 % oproti počáteční hodnotě) a flavonoidů na 241 mg/100 g sušiny (zvýšení o 5 % oproti

počáteční hodnotě). V jablcích odrůdy Idared se obsah celkových polyfenolů zvyšoval do konce třetího týdne na 635 mg/100 g sušiny (o 34 %). Ve čtvrtém týdnu mírně poklesl a v pátém se znovu zvýšil na maximální hodnotu 705 mg/100 g sušiny (o 49 %). V osmém týdnu skladování pak byla naměřena hodnota 632 mg celkových polyfenolů ve 100 g sušiny (zvýšení o 34 % oproti počáteční hodnotě). Obsah celkových flavonoidů se v průběhu osmi týdnů skladování ve sklepě velmi měnil. Ve druhém týdnu skladování byla naměřena hodnota 118 mg/100 g sušiny, ve druhém týdnu 359 mg/100 g sušiny (celk. zvýšení o 34 %), do konce čtvrtého týdne skladování klesala až na hodnotu 165 mg/100 g sušiny. V pátém týdnu skladování znovu vzrostla na 294 mg/100 g sušiny a v osmém týdnu byla stanovena hladina celkových flavonoidů na 212 mg/100 g sušiny (pokles o 21 % oproti počáteční hodnotě).

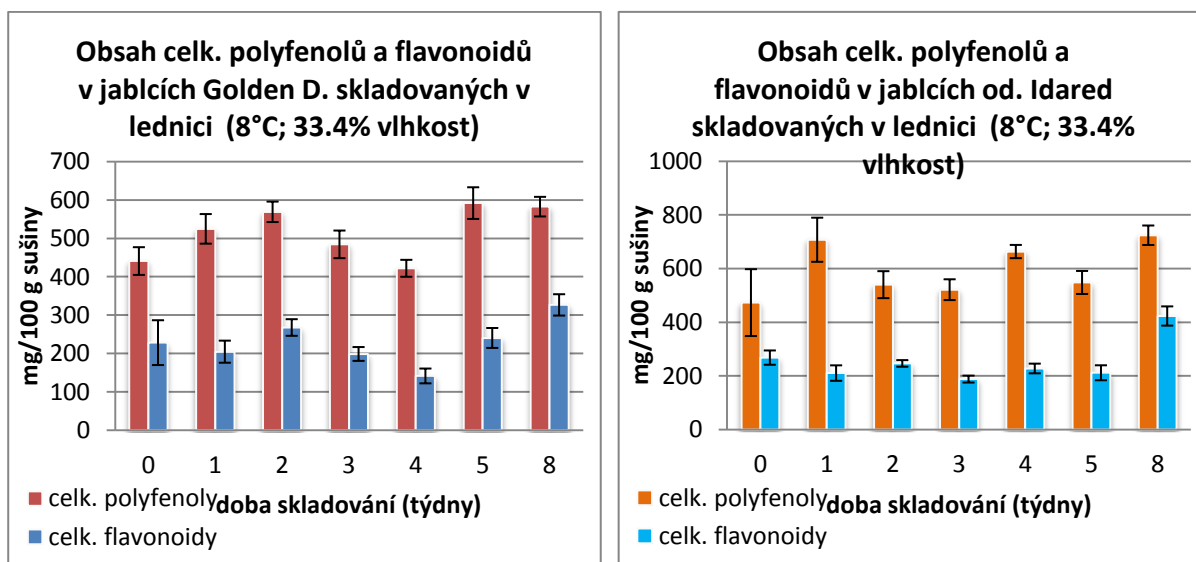


Obrázek č. 84a,b: Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích odrůd Golden Delicious (a) a Idared (b) skladované ve sklepě (9 °C; 38,4% vlhkost)

Tabulka č. 55: Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v lednici (8 °C; 33,4% vlhkost)

Odrůda jablek	Golden Delicious		Idared	
	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny	celk. polyfenoly mg/100 g sušiny	celk. flavonoidy mg/100 g sušiny
před uskladněním	440,95 ± 36,09	228,43 ± 58,40	473,43 ± 124,64	268,37 ± 26,68
1	524,78 ± 38,57	204,86 ± 28,77	707,71 ± 82,26	210,66 ± 28,82
2	569,22 ± 26,62	267,85 ± 21,64	540,30 ± 50,29	246,67 ± 12,34
3	484,47 ± 35,94	198,94 ± 18,04	521,52 ± 38,77	188,34 ± 12,92
4	422,03 ± 22,06	141,69 ± 19,28	663,76 ± 24,66	227,86 ± 18,04
5	591,90 ± 41,23	240,63 ± 25,93	548,49 ± 42,91	211,84 ± 27,93
8	582,68 ± 25,54	326,75 ± 27,80	724,46 ± 36,38	423,42 ± 35,87

Změny hladiny celkových polyfenolů a flavonoidů jablek skladovaných v lednici při teplotě 8 °C a 33,4% vlhkosti jsou velmi podobné změnám, které se odehrávaly v plodech jablek uskladněných v místnosti avšak s menším rozpětím hodnot. V jablčích odrůdy Golden Delicious se hladina celkových polyfenolů zvyšovala do konce 2. týdne na hodnotu 569 mg/100 g sušiny (o 29 %), také hladina flavonoidů na 268 mg/100 g sušiny (o 17 %). Až do konce čtvrtého týdne uskladnění docházelo k postupnému úbytku polyfenolů na 422 mg a flavonoidů na 142 mg/100 g sušiny. V pátém týdnu se hodnota celkových polyfenolů vyšplhala na 592 mg/100 g sušiny (celk. zvýšení o 34 %) a celkových flavonoidů na 241 mg/100 g sušiny (celk. o 6 %). V osmém týdnu se hladina celk. polyfenolů jen mírně lišila od hladiny naměřené v pátém týdnu uskladnění. Obsah celkových flavonoidů se naopak zvýšil na 327 mg/100 g sušiny a je tak nejvyšší naměřenou hodnotou z celého skladovacího procesu (celk. zvýšení o 43 %). V jablčích odrůdy Idared se obsah celkových polyfenolů zvýšil hned v prvním týdnu skladování na 708 mg/100 g sušiny (o 50 %). Ve druhém a třetím poklesl na hodnoty cca 530 mg/100 g sušiny. Ve čtvrtém týdnu opět vzrostl na 664 mg/100 g sušiny. V osmém týdnu skladování hladina celkových polyfenolů dosáhla hodnoty 724 mg/100 g sušiny (o 53 % více než na počátku skladování). Množství celkových flavonoidů pokleslo v prvním týdnu na 221 mg/100 g sušiny (o 22 %) a poté se v průběhu dalších týdnů sinusově měnilo o  $\pm 20$  mg/100 g sušiny. Na konci skladování, v 8. týdnu, se hodnota celk. flavonoidů rapidně zvýšila na 423 mg/100 g sušiny (celkově o 58 % oproti počátku).



*Obrázek č. 85:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablčích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v lednici (8 °C; 33,4% vlhkost)

Souhrnně lze konstatovat, že v průběhu skladování po dobu 8 týdnů ve 3 druzích běžného prostředí došlo ke změnám celkových polyfenolů i flavonoidů. V jablčích odrůdy Golden Delicious bylo na počátku skladovacího procesu naměřeno ve 100 g sušiny 441 mg

polyfenolů a 228 mg flavonoidů, v jablcích odrůdy Idared 473 mg polyfenolů a 268 mg flavonoidů ve 100 g sušiny.

Během skladování v místnosti s 20 °C, hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů téměř neklesly pod hodnotu naměřenou před uskladněním. V průběhu skladování ve sklepě docházelo k mnohem menším výkyvům hladin celkových polyfenolů i flavonoidů. Při uchovávání v lednici hodnoty značně kolísaly, přičemž na konci skladovacího období byly o polovinu vyšší než na počátku.

Z naměřených hodnot tak lze usoudit, že změny hladiny celkových polyfenolů a flavonoidů jablek kopírují trendy zvyšování a snižování celkové antioxidační aktivity jablek. Zatímco v prvním týdnu skladování došlo k poklesu antioxidační aktivity jablek, hodnoty celkových polyfenolů se zvýšily ve většině jablek. Hladina celkových flavonoidů u jablek uchovávaných v lednici v prvním týdnu skladování poklesla, u jablek skladovaných ve sklepě a místnosti 20 °C se nezměnila. Na konci skladovacího procesu se hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů zvýšily v jablcích z lednice a místnosti s pokojovou teplotou, stejně jako tomu bylo u přezrálých jablek v dlouhodobé studii skladování ve FAN a RA, naproti tomu celková antioxidační aktivita na konci skladování poklesla. Z těchto závěrů vyplývá, že zásadní vliv na celkovou antioxidační aktivitu nemá ani tak obsah fenolických látek, ale spíše obsah kyseliny askorbové (viz kap. 5.2.2).

#### 5.2.4 Obsah individuálních aktivních látek v jablcích skladovaných ve spotřebitelských podmínkách

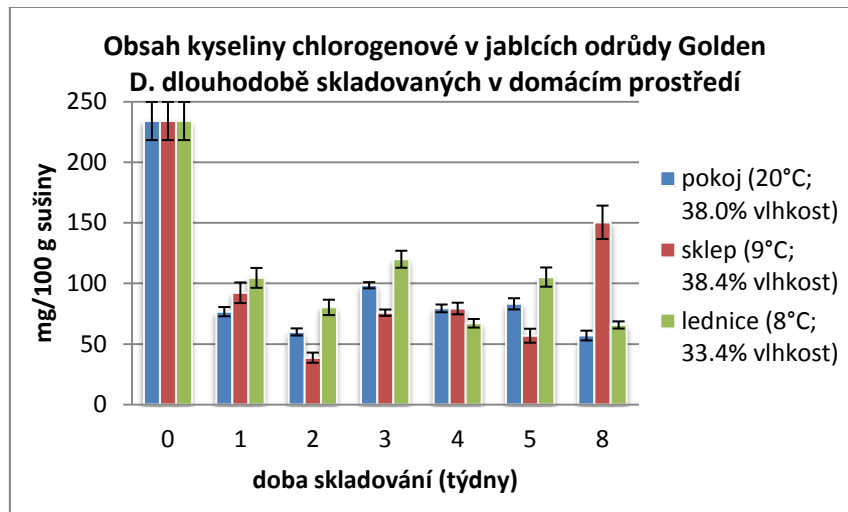
Pro stanovení vybraných individuálních aktivních látek jsme využili postupů uvedených v kapitole 4.4. Množství aktivních látek je vyjádřeno mg ( $\mu\text{g}$ ) aktivní látky ve 100 g sušiny jablek.

*Tabulka č. 56:* Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

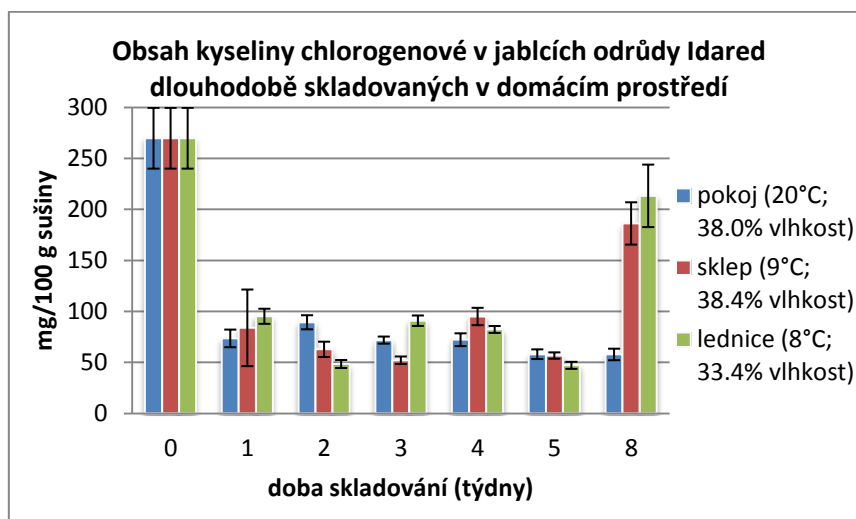
Skladovací podmínky	místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)	sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)	lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	234,02 ± 15,76	234,02 ± 15,76	234,02 ± 15,76
1	76,67 ± 3,81	92,27 ± 8,52	104,54 ± 8,20
2	59,91 ± 2,93	38,68 ± 4,19	80,19 ± 6,35
3	98,48 ± 2,55	75,80 ± 2,63	119,92 ± 7,03
4	79,38 ± 3,20	79,27 ± 4,81	67,09 ± 3,53
5	83,11 ± 4,62	56,81 ± 5,76	105,21 ± 7,94
8	56,96 ± 4,04	150,42 ± 13,77	65,69 ± 2,97
<b>Obsah kys. chlorogenové v jablcích odrůdy Idared skladované v domácích podmínkách</b>			
Skladovací podmínky	místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)	sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)	lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	269,77 ± 29,81	269,77 ± 29,81	269,77 ± 29,81
1	73,53 ± 8,65	83,90 ± 37,56	95,22 ± 7,4
2	89,33 ± 6,91	62,80 ± 7,51	48,45 ± 3,92
3	71,87 ± 3,48	52,12 ± 3,68	90,88 ± 5,12
4	72,25 ± 6,26	95,00 ± 8,51	82,29 ± 3,38
5	58,05 ± 4,74	56,72 ± 3,11	47,12 ± 3,46
8	57,78 ± 5,66	186,23 ± 20,74	213,28 ± 30,63

Obsah kyseliny chlorogenové se v průběhu skladování také sinusově měnil. Největší množství této kyseliny bylo naměřeno před skladovacím procesem. V jablcích odrůdy Golden Delicious byla naměřena počáteční hodnota kyseliny chlorogenové 234 mg ve 100 g sušiny a v jablcích odrůdy Idared 270 mg/100 g sušiny. Již v prvním týdnu skladování hodnota kyseliny poklesla o více než polovinu ve všech skladovacích podmínkách. Největší pokles (o 67 až 73 %), byl zaznamenán v plodech uskladněných v místnosti s 20 °C a 38% vlhkostí, kdy hladina kys. chlorogenové dosáhla hodnot 74 až 77 mg/100 g sušiny. Naopak, nejmenší úbytek (o 55 až 65 %) byl zjištěn u plodů uchovávaných v lednici při teplotě 8 °C a 33,4% vlhkosti, kde došlo k poklesu obsahu kyseliny na 95 až 105 mg/100 g sušiny. Po dobu dalších

čtyř týdnů se hladina kyseliny chlorogenové příliš nelišila ( $\pm 15$  mg/100 g sušiny). V osmém týdnu skladování však došlo u jablek obou odrůd skladovaných ve sklepě ke zvýšení hladin kyseliny na 150 až 186 mg/100 g sušiny. U jablek skladovaných v lednici se zvýšení projevilo jen u odrůdy Idared (213 mg/100 g sušiny). Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala v osmém týdnu pouze 66 mg kyseliny ve 100 g sušiny. Jablka uskladněná v místnosti s 20 °C a 38% vlhkostí obsahovala na konci skladovacího procesu cca 57 mg kyseliny chlorogenové ve 100 g sušiny (celkový pokles o 76 až 79 %).



*Obrázek č. 86:* Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách



*Obrázek č. 87:* Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách



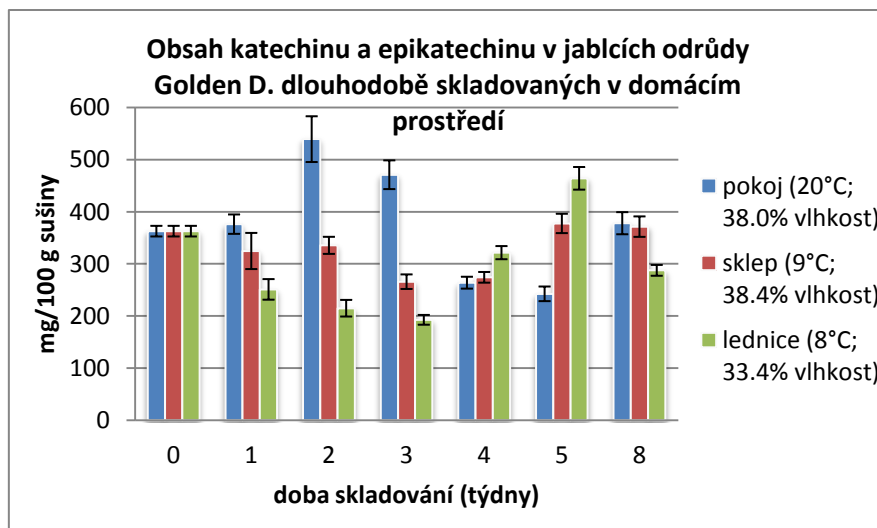
Celkově lze konstatovat, že při srovnání hodnot z prvních 5ti týdnů skladování se obsah kyseliny chlorogenové příliš nelišil v závislosti na typu skladování. Teprve v osmém týdnu skladování se projevily rozdíly v jejím zastoupení. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u jablek skladovaných při pokojové teplotě, nejvyšší pak ve sklepě. Zvýšením obsahu kyseliny chlorogenové se zřejmě přezrálé plody snaží uchovat rovnováhu volných radikálů, které se ve vyšší míře vytváří během stárnutí plodů. Jablka uchovávaná při pokojové teplotě nejsou schopna syntézy kyseliny zřejmě důsledkem vyčerpání organismu zvýšeným dýcháním, které podporuje vyšší skladovací teplota.

*Tabulka č. 57:* Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

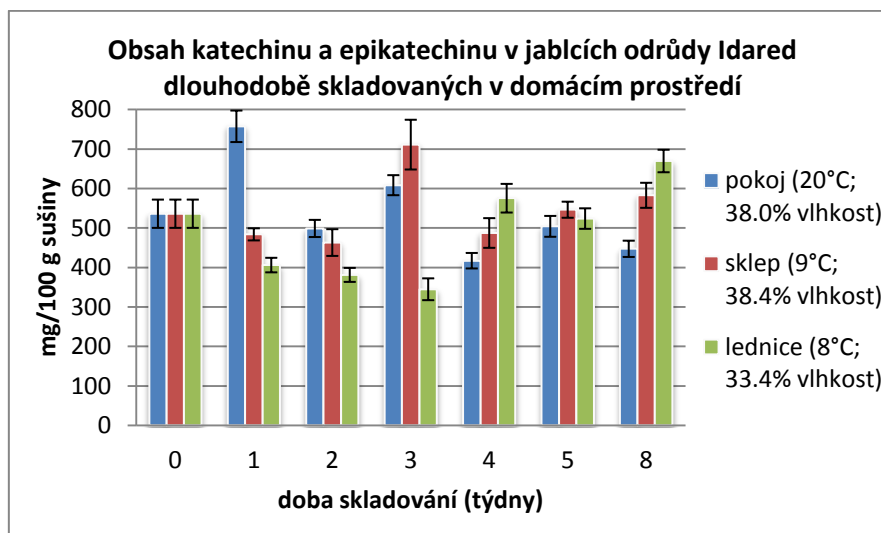
<b>Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůdy Golden Delicious skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	363,04 ± 10,20	363,04 ± 10,20	363,04 ± 10,20
1	376,48 ± 18,63	324,98 ± 34,70	251,27 ± 19,76
2	539,67 ± 43,92	335,79 ± 16,38	215,13 ± 15,95
3	471,36 ± 27,58	266,07 ± 13,96	192,87 ± 9,41
4	264,15 ± 11,39	274,45 ± 10,27	321,79 ± 12,62
5	242,77 ± 14,04	377,87 ± 18,55	464,45 ± 21,74
8	378,33 ± 21,22	371,73 ± 19,62	287,84 ± 10,39
<b>Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůdy Idared skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	536,03 ± 35,82	536,03 ± 35,82	536,03 ± 35,82
1	757,50 ± 39,91	483,87 ± 15,39	406,04 ± 18,40
2	498,76 ± 21,73	463,08 ± 33,84	381,16 ± 17,71
3	608,37 ± 25,36	711,10 ± 63,01	344,75 ± 27,63
4	417,11 ± 19,64	487,30 ± 37,58	575,36 ± 36,28
5	504,09 ± 26,44	546,24 ± 20,36	523,81 ± 25,99
8	447,22 ± 20,61	582,73 ± 31,73	669,65 ± 28,52

Obsah katechinu a epikatechinu se měnil s dobou a také způsobem uskladnění. Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala 363 mg těchto látek ve 100 g sušiny před zahájením skladovacího procesu. V prvním týdnu skladování si jablka uskladněná v místnosti s 20 °C

a 38,0% vlhkostí uchovala obsah katechinu i epikatechinu, ve druhém měsíci však došlo k jeho zvýšení až na hodnotu 540 mg/100 g sušiny. V průběhu dalších tří týdnů se hladina katechinu a epikatechinu postupně snižovala až na hodnotu 243 mg/100 g sušiny. V osmém týdnu pak byla naměřena vyšší hodnota 378 mg/100 g sušiny. Jablka, která jsme uskladnili ve sklepě, si do třetího týdne udržovala hladinu katechinu a epikatechinu na stejné výši jako před uskladněním. Ve třetím týdnu pak nastal pokles na hodnotu 266 mg/100 g sušiny a v dalších týdnech k opětovný nárůst na hodnoty cca 377 mg/100 g sušiny. U jablek z lednice bylo v prvních týdnech skladování zaznamenáno postupné snižování hladiny katechinu a epikatechinu, ve třetím týdnu skladování dosáhla minima 193 mg/100 g sušiny. Během dalších dvou týdnů se jejich hladina zvyšovala až na hodnotu 464 mg naměřenou v pátém týdnu. Na konci skladování byla zaznamenána hodnota katechinu a epikatechinu 288 mg/100 g sušiny. Jablka odrůdy Idared obsahovala na počátku skladování 536 mg katechinu a epikatechinu ve 100 g sušiny. Při skladování v místnosti s 20 °C a 38,0% vlhkostí se jejich obsah periodicky zvyšoval a snižoval. Nejvyšší hodnota katechinu a epikatechinu 758 mg/100 g sušiny byla naměřena na konci prvního týdne skladování, druhého maxima dosáhla ve třetím týdnu (608 mg/100 g sušiny), třetího v pátém týdnu skladování (505 mg/100 g sušiny). Naopak nejnižší hodnota byla naměřena ve čtvrtém týdnu (417 mg/100 g sušiny). V osmém týdnu skladování obsah katechinu a epikatechinu dosáhl hodnoty 447 mg/100 g sušiny. Jablka skladovaná ve sklepě si v prvních dvou týdnech uskladnění udržovala obsah epikatechinu a katechinu na hodnotě cca 470 mg/100 g sušiny. Ve třetím týdnu však došlo k nárůstu hodnot na 711 mg/100 g sušiny. Ve čtvrtém a pátém měsíci pak došlo ke snížení. Na konci skladování, po osmi týdnech, bylo naměřeno 583 mg katechinu a epikatechinu ve 100 g sušiny. V jablčích uskladněných v lednici byl zaznamenán postupný úbytek katechinu a epikatechinu až do konce třetího týdne skladování (345 mg/100 g sušiny). Během jednoho týdne se však jejich hladina zvedla na 575 mg/100 g sušiny a v osmém týdnu dosáhla hodnoty 670 mg/100 g sušiny.



*Obrázek č. 88:* Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách



*Obrázek č. 89:* Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

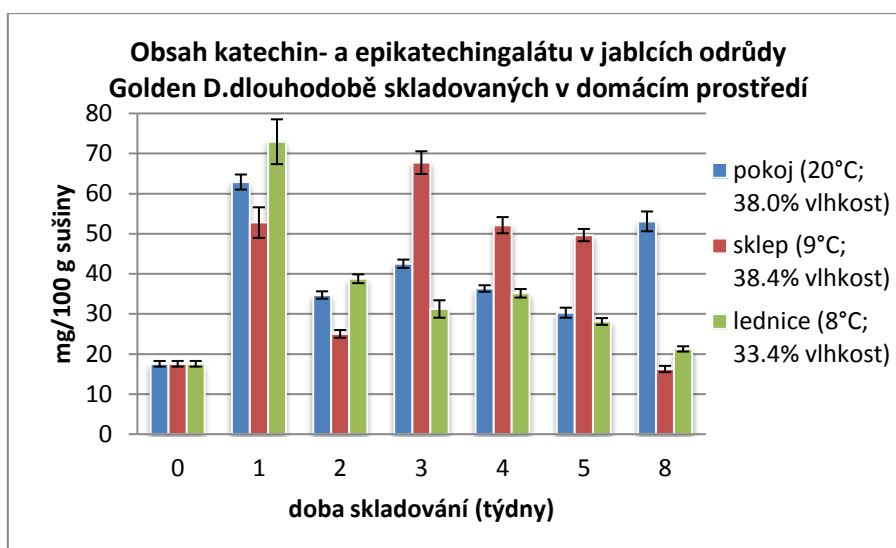
Lze tedy konstatovat, že i obsah katechinu a epikatechinu se měnil s dobou a také způsobem uskladnění. V průběhu prvních tří týdnů byla nejvyšší hladina katechinu a epikatechinu zaznamenána u jablek skladovaných při pokojové teplotě, naopak nejmenší v lednici. Naproti tomu v průběhu dalších pěti týdnů (4. až 8. týden skladování) byla vyšší hladina katechinu a epikatechinu zjištěna právě u vzorků z lednice a nejmenší u jablek z pokojové teploty. Je tedy zřejmé, že katechiny a epikatechiny nastupují jako druhá linie obrany proti oxidačnímu stresu.

Tabulka č. 58: Obsah katechin- a epikatechingalátů v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

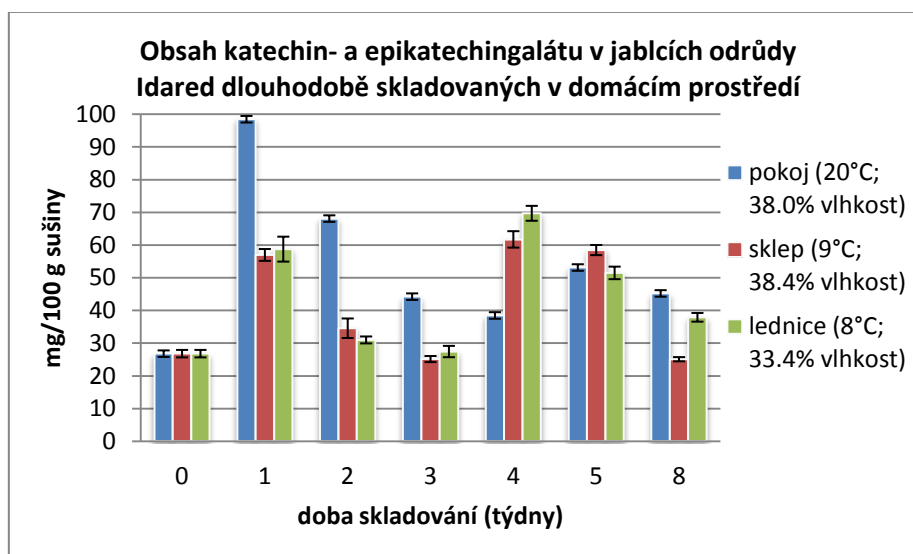
<b>Obsah katechin- a epikatechingalátů v jablcích odrůdy Golden Delicious skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	17,52 ± 0,71	17,52 ± 0,71	17,52 ± 0,71
1	62,86 ± 1,88	52,75 ± 3,81	72,91 ± 5,59
2	34,68 ± 0,92	24,98 ± 0,96	38,74 ± 1,10
3	42,48 ± 1,04	67,70 ± 2,83	31,19 ± 2,18
4	36,31 ± 0,81	52,10 ± 2,02	35,11 ± 1,07
5	30,27 ± 1,25	49,63 ± 1,53	28,08 ± 0,84
8	53,05 ± 2,47	16,22 ± 0,79	21,24 ± 0,66
<b>Obsah katechin- a epikatechingalátů v jablcích odrůdy Idared skladované v domácích podmínkách</b>			
<b>Skladovací podmínky</b>	<b>místnost (20 °C; 38,0% vlhkost)</b>	<b>sklep (9 °C; 38,4% vlhkost)</b>	<b>lednice (8 °C; 33,4% vlhkost)</b>
<b>doba skladování (týdny)</b>	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny	mg/100 g sušiny
před uskladněním	26,76 ± 1,14	26,76 ± 1,14	26,76 ± 1,14
1	98,44 ± 4,76	56,94 ± 1,81	58,72 ± 3,81
2	68,06 ± 2,58	34,53 ± 2,99	30,96 ± 1,06
3	44,19 ± 2,18	25,11 ± 0,93	27,41 ± 1,73
4	38,44 ± 1,77	61,70 ± 2,51	69,67 ± 2,28
5	53,10 ± 2,94	58,44 ± 1,55	51,46 ± 1,92
8	45,18 ± 1,89	25,06 ± 0,65	37,87 ± 1,33

Jablka odrůdy Golden Delicious na počátku skladování obsahovala 18 mg katechin- a epikatechingalátu ve 100 g sušiny. Během prvního týdne skladování se jejich hladina zvýšila na 53 mg/100 g sušiny v jablcích uskladněných ve sklepě, na 63 mg/100g sušiny v plodech skladovaných v místnosti s 20 °C a 73 mg/100 g sušiny v jablcích z lednice. Ve druhém týdnu se obsah galátů snížil na hodnoty 25 až 39 mg/100 g suš. Ve třetím týdnu skladování se u jablek skladovaných v místnosti s 20 °C opětovně zvýšil na 42 mg/100 g sušiny a u jablek ze sklepa na 68 mg/100 g sušiny. Během dalších dvou týdnů se obsah katechin- a epikatechingalátu snížil o cca 18 mg/100 g suš. V osmém týdnu skladování byla zaznamenána hodnota galátů v jablcích uskladněných ve sklepě 16 mg/100 g sušiny, v jablcích ve sklepě 21 mg/100 g sušiny a v plodech jablek skladovaných v místnosti s 20 °C 53 mg/100 g sušiny. V jablcích odrůdy Idared bylo před uskladněním naměřeno 27 mg katechin- a epikatechingalátu ve 100 g sušiny. Během prvního týdne skladování se jejich hodnota zvýšila ve všech prostředích. V jablcích skladovaných ve sklepě byla tato hodnota

nejnižší (57 mg/100 g sušiny). Jablka umístěná v lednici obsahovala 59 mg/100 g sušiny, jablka z místnosti s 20 °C dokonce 98 mg/100 g sušiny. Do konce třetího týdne skladování se hodnota galátů snižovala ve vzorcích skladovaných ve sklepě a lednici na hodnoty naměřené před uskladněním. Jablka umístěná v místnosti s 20 °C snižovala obsah galátů až do konce čtvrtého týdne na hodnotu 38 mg/100 g suš. V ostatních dvou prostředích však hladina galátů dosáhla svého maxima - 62 mg/100 g sušiny jablek ze sklepa a 70 mg/100 g sušiny jablek z lednice. V pátém týdnu byla naměřena hodnota 53 mg galátů/100 g sušiny jablek uskladněných v místnosti s 20 °C. Na konci skladování se hladina katechin- a epikatechingalátu pohybovala kolem 25 mg/100 g sušiny jablek uskladněných ve sklepě, 38 mg/100 g sušiny jablek z lednice a 45 mg/100 g sušiny jablek z místnosti s 20 °C.



*Obrázek č. 90:* Obsah katechin- a epikatechingalátu v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách



*Obrázek č. 91:* Obsah katechin- a epikatechingalátu v jablcích odrůd Golden Delicious a Idared skladované v domácích podmínkách

Během prvního týdne skladování se hladina katechin- a epikatechingalátu výrazně zvýšila u obou odrůd. V průběhu dalších týdnů se hladina galátů měnila bez jasné závislosti. Na konci skladování byla nejvyšší hladina katechin- a epikatechingalátu nalezena u obou odrůd jablek skladovaných při pokojové teplotě, nejnižší ve sklepě. Jablka tedy reagovala na prvotní změnu podmínek výrazným zvýšením obsahu katechin- a epikatechingalátu, poté se obsah proměnlivě mírně zvyšoval a snižoval. Zatímco katechiny a epikatechiny nastupují jako druhá linie obrany, galáty katechinu a epikatechinu nastupují jako první linie obrany.

### 5.3 Studium vlivu sušení na obsah aktivních látek v jablcích

Sušení patří k často využívaným technikám pro uchování potravin i v domácnostech. Oproti mražení či tepelné konzervaci je vhodná jen pro potraviny s nižším obsahem vody. Nejčastěji se v domácnostech suší ovoce, zelenina a houby, a to buď pokrácené na plátky, kostky či celé menší plody.

#### 5.3.1 Celková antioxidační aktivita sušených jablek v závislosti na použité teplotě sušení

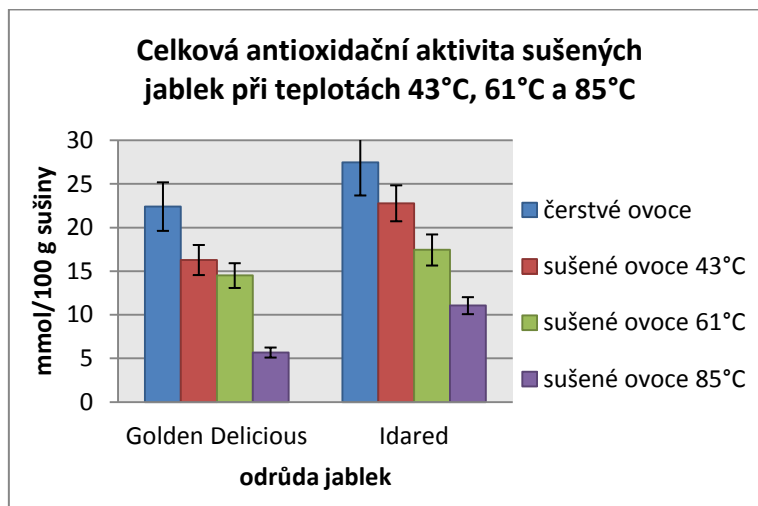
Celková antioxidační aktivita jako jeden z hlavních parametrů antioxidační kapacity vzorků byla stanovována podle postupu uvedeného v kapitole 4.4. Vzorky jablek byly připraveny nakrájením na 0,5 cm plátky, zbaveny jádřince a poté podrobeny sušicímu procesu. Celková antioxidační aktivita je vztažena na mmol TROLOXu ve 100 g sušiny jablek.

*Tabulka č. 59:* Celková antioxidační aktivita jablek odrůdy Golden Delicious a Idared podrobených sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C a 85 °C

Odrůda jablek/ TAS	Golden Delicious mmol/100 g sušiny	Idared mmol/100 g sušiny
čerstvé ovoce	17,93 ± 2,23	21,98 ± 3,03
sušené ovoce 43 °C	13,03 ± 1,38	18,23 ± 1,65
sušené ovoce 61 °C	11,60 ± 1,14	13,95 ± 1,43
sušené ovoce 85 °C	4,54 ± 0,46	8,85 ± 0,78

Z tabulky č. 59 jednoznačně vyplývá, že se celková antioxidační aktivita snižovala s narůstající sušící teplotou. V čerstvém ovoci se hladina TAS pohybovala kolem 18 mmol ve 100 g sušiny jablek odrůdy Golden Delicious a 22 mmol odrůdy Idared, vztaženo na standard TROLOX. Během sušení na 43 °C došlo k poklesu celkové antioxidační aktivity o 27 % u odrůdy Golden Delicious (13 mmol/100g sušiny) a o 17 % u odrůdy Idared (18,23 mmol/100g sušiny). Při použití sušící teploty 61 °C antioxidační aktivita poklesla

u obou odrůd jablek přibližně o 36 % (12 až 14 mmol/100 g sušiny). Sušením v elektrické troubě na 85 °C došlo k největšímu poklesu celkové antioxidační aktivity. U odrůdy Golden Delicious tento pokles činil 75 % (4,5 mmol/100 g sušiny) a u odrůdy Idared 60 % (8,9 mmol/100 g sušiny).



*Obrázek č. 92:* Celková antioxidační aktivita jablek odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Souhrnně lze konstatovat, že sušením při teplotě 43 °C po dobu 6 hodin jsme získali suché, vláčné a ohebné jablečné plátky. Sušením při vyšší teplotě 65 °C po dobu 9 hodin se jablečné plátky lámaly a byly přesušené. Celková antioxidační aktivita jablek klesala postupně se zvyšující se teplotou sušícího vzduchu. U jablek sušených v elektrické sušičce vzduchem zahřátým na 43 °C jsme zaznamenali snížení celkové antioxidační aktivity o 17 až 27 %, ve druhém režimu sušení na 61 °C antioxidační aktivita poklesla o 36 %. Sušením v elektrické troubě na 85 °C došlo k největšímu poklesu celkové antioxidační aktivity jablek. Tento způsob je pro zpracování plodů sušením nejméně vhodný.

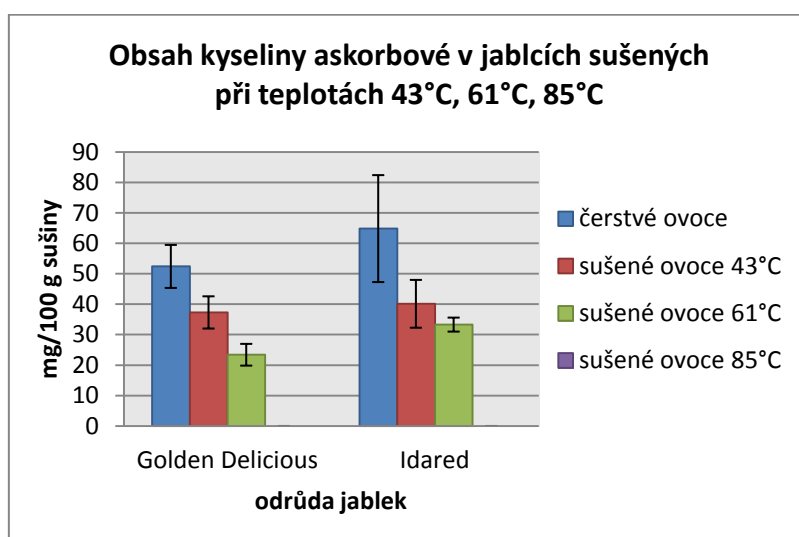
### 5.3.2 Obsah kyseliny askorbové v jablcích v závislosti na teplotě sušení

Pro stanovení kyseliny askorbové v sušeném ovoci byla použita metoda kapalinové chromatografie s fotometrickou detekcí v UV oblasti uvedená v kapitole 4.5.5. Titrační metoda s DCHIP (kap. 4.5.6) se neosvědčila jako vhodná, zvláště u vzorků sušených na vysokou teplotu. Získaný extrakt kyseliny askorbové vykazoval hnědé zbarvení vzniklé zřejmě působením vyšší teploty na cukry obsažené v ovoci, což znesnadňovalo určení barevného přechodu během titrace.

*Tabulka č. 60:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Odrůda jablek/ kys. askorbová	Golden Delicious mg/100 g suš.	Idared mg/100 g suš.
čerstvé ovoce	52,40 ± 7,06	64,83 ± 17,56
sušené ovoce 43 °C	37,30 ± 5,29	40,13 ± 7,85
sušené ovoce 61 °C	23,40 ± 3,57	33,30 ± 2,30
sušené ovoce 85 °C	-	-

Jablka odrůdy Golden Delicious před sušením obsahovala 52 mg kyseliny askorbové ve 100 g sušiny. Jablka odrůdy Idared obsahovala jen o něco vyšší množství – 65 mg ve 100 g sušiny. Působením teplého vzduchu docházelo k postupné degradaci kyseliny askorbové. Během sušení v elektrické sušičce na 43 °C došlo k poklesu u odrůdy Golden Delicious o 29 % a u odrůdy Idared o 38 %. Zvýšením teploty na 61 °C hladina kyseliny askorbové poklesla na 23 mg/100 g sušiny u odrůdy Golden Delicious (snížení o 55 %) a 33 mg/100 g sušiny u odrůdy Idared (snížení o 49 %). V ovoci, které bylo sušeno v elektrické troubě při teplotě 85 °C, byly naměřeny velmi nízké hodnoty kyseliny askorbové, které hraničily s mezí detekce.



*Obrázek č. 93:* Obsah kyseliny askorbové v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Působením teplého vzduchu docházelo k postupné degradaci kyseliny askorbové. Během sušení v elektrické sušičce na 43 °C došlo k poklesu kyseliny o cca 30 až 40 %. Zvýšením teploty na 61 °C hladina kyseliny poklesla o 49 až 55 %. Velký vliv na výraznou degradaci kyseliny askorbové při sušení v elektrické troubě může mít kromě vysoké teploty



i opakované přerušení sušícího procesu, ke kterému bylo přistoupeno z důvodu zajištění dostatečného odvodu vody ze vzorků. Díky tomu došlo k větším teplotním změnám (snížení a opětovné zvýšení teploty vzorků v několika cyklech) oproti vzorkům ze sušičky.

### 5.3.3 Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v jablcích v závislosti na teplotě sušení

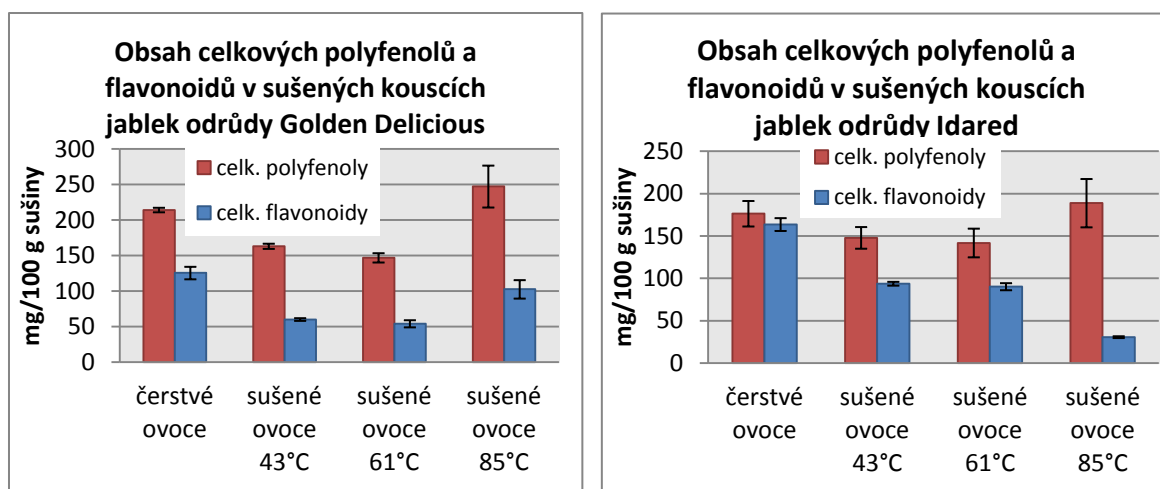
Pro stanovení celkových polyfenolů a celkových flavonoidů byl použit postup uvedený v kapitolách 4.4.3 a 4.4.5 Obsah celk. polyfenolů je vyjádřen jako množství (mg) kys. galové ve 100 g sušiny jablek. Obsah celk. flavonoidů je vyjádřen jako množství (mg) katechinu ve 100 g sušiny jablek.

*Tabulka č. 61:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů jablek odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušícímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Odrůda jablek	Golden Delicious		Idared	
	celk. polyfenoly mg/100 g suš.	celk. flavonoidy mg/100 g suš.	celk. polyfenoly mg/100 g suš.	celk. flavonoidy mg/100 g suš.
Teplota sušení				
<b>čerstvé ovoce</b>	214,24 ± 3,17	125,47 ± 8,80	176,26 ± 15,03	163,52 ± 7,56
<b>sušené ovoce 43 °C</b>	163,16 ± 3,63	60,04 ± 1,92	147,79 ± 12,78	93,70 ± 2,23
<b>sušené ovoce 61 °C</b>	146,89 ± 6,55	54,02 ± 5,11	141,77 ± 16,91	90,21 ± 4,15
<b>sušené ovoce 85 °C</b>	247,30 ± 29,50	102,50 ± 13,03	188,72 ± 28,50	30,68 ± 1,05

Množství celkových polyfenolů a flavonoidů ve vzorcích jablek se zároveň s navýšením teploty snižovalo. V čerstvém ovoci odrůdy Golden Delicious bylo naměřeno 214 mg polyfenolů a 125 mg flavonoidů ve 100 g sušiny. Sušením při teplotě 43 °C došlo k poklesu hladiny polyfenolů na 163 mg (snížení o 24 %) a flavonoidů dokonce na polovinu původního množství - 60 mg/100 g sušiny. Při teplotě 61 °C byly ztráty ještě intenzivnější. Celkové polyfenoly poklesly na hodnotu 147 mg (pokles o 31 %) a flavonoidy na 54 mg (pokles o dalších 57 %). Sušením v elektrické troubě na 85 °C však došlo k mírnému nárůstu hodnot celkových polyfenolů na 247 mg, zatímco hodnota celkových flavonoidů poklesla oproti původní hodnotě o 18 %.

Množství celkových polyfenolů a flavonoidů ve vzorcích jablek se zároveň s navýšením teploty snižovalo. Sušením jablek při teplotě 43 °C došlo k poklesu hladiny polyfenolů o 16 až 24 % a flavonoidů dokonce na polovinu původního množství. Při vyšší teplotě 61 °C byly ztráty intenzivnější, celkové polyfenoly poklesly o 19 až 31 % a flavonoidy o 45 až 57 %. Sušením v elektrické troubě na 85 °C však došlo k nárůstu hodnot celkových polyfenolů o 7 až 15 %. Obsah celkových flavonoidů u odrůdy Golden Delicious poklesl jen o 18 %, u odrůdy Idared až o 81 % oproti hodnotám naměřených v čerstvém ovoci. K nárůstu hodnot celkových polyfenolů a flavonoidů naměřených ve vzorcích sušených při teplotách 85 °C došlo zřejmě v důsledku tvorby antioxidantů jako produktů Maillardových reakcí.



*Obrázek č. 94:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů jablek odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Celkově lze konstatovat, že sušením za mírných podmínek poklesl obsah celkových polyfenolů i flavonoidů v závislosti na odrůdě o cca 20 % (Idared) až cca 50 % (Golden).

### 5.3.4 Obsah individuálních aktivních látek v jablcích v závislosti na teplotě sušení

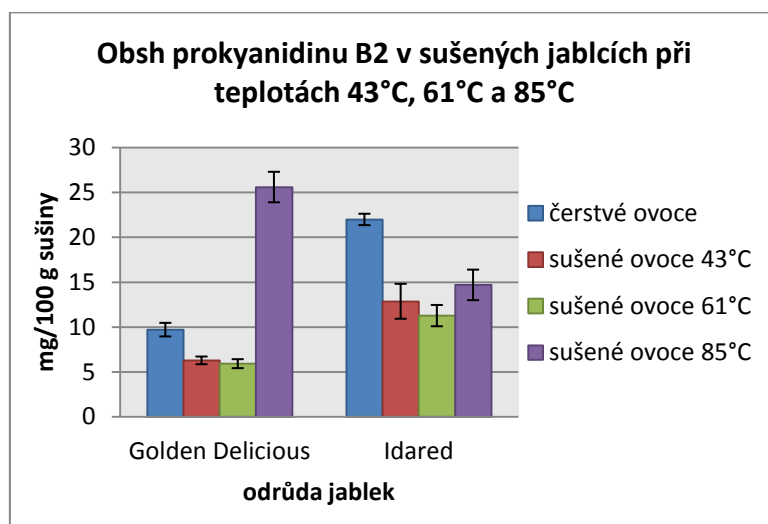
Individuální aktivní látky byly stanovovány po jejich extrakci a zkoncentrování pomocí kapalinové chromatografie s fotometrickou a MS detekcí. Příprava extraktů a podmínky následného stanovení jsou uvedeny v kapitolách 4.3 a 4.4. Pro srovnání byly vybrány následující aktivní látky – prokyanidin B2, kyselina chlorogenová, katechin a epikatechin.

*Tabulka č. 62:* Obsah prokyanidinu B2 v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C a 85 °C

Odrůda jablek/ prokyanidin B2	Golden Delicious mg/100 g suš.	Idared mg/100 g suš.
čerstvé ovoce	9,71 ± 0,77	21,97 ± 0,64
sušené ovoce 43 °C	6,29 ± 0,43	12,86 ± 1,94
sušené ovoce 61 °C	5,92 ± 0,51	11,27 ± 1,19
sušené ovoce 85 °C	25,58 ± 1,69	14,68 ± 1,75

Jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala 9,7 mg prokyanidinu B2 ve 100 g sušiny. Více než dvojnásobné množství (21,9 mg) bylo nalezeno u odrůdy Idared. Sušením v elektrické sušičce při teplotách 43 °C a 61 °C došlo k úbytku prokyanidinu B2 ve všech vzorcích jablek. U odrůdy Golden Delicious došlo k poklesu o 35 % v jablcích sušených při 43 °C a o 39 % u plodů vystavených teplotě 61 °C. U jablek odrůdy Idared sušených

při teplotě 43 °C se snížila hladina prokyanidinu B2 o 41 % a u jablek sušených při 61 °C se hodnota prokyanidinu B2 snížila o 49 %. Zvýšením sušící teploty na 85 °C došlo u jablek odrůdy Idared k nejmenšímu úbytku prokyanidinu B2 (pokles o 33 %). Ve vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious došlo k velmi výraznému zvýšení prokyanidinu B2 na hodnotu 25,6 mg/100 g sušiny.

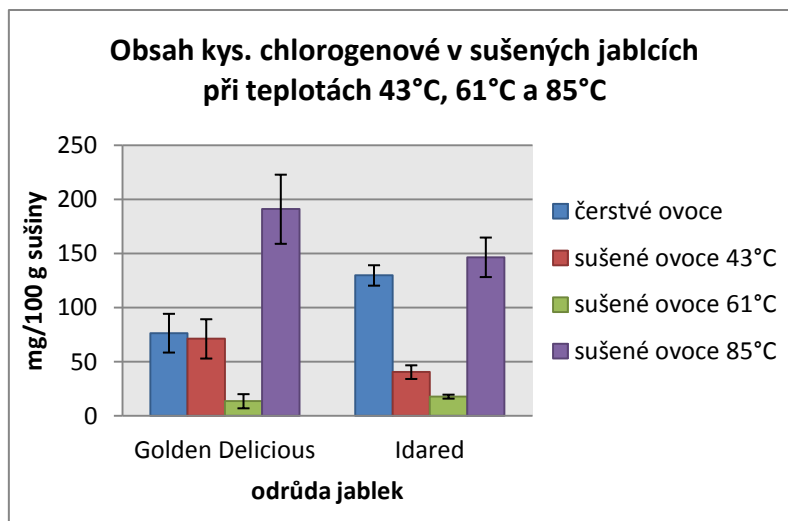


*Obrázek č. 95:* Obsah prokyanidinu B2 v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

*Tabulka č. 63:* Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Odrůda jablek/ kys. chlorogenová	Golden Delicious mg/100 g suš.	Idared mg/100 g suš.
čerstvé ovoce	76,51 ± 17,89	129,87 ± 9,44
sušené ovoce 43 °C	71,24 ± 18,16	40,52 ± 6,31
sušené ovoce 61 °C	13,63 ± 6,55	17,87 ± 1,84
sušené ovoce 85 °C	191,05 ± 31,95	146,63 ± 18,26

Zastoupení kyseliny chlorogenové se měnilo ve stejném trendu jako obsah prokyanidinu B2 v závislosti na sušící teplotě. Čerstvá jablka odrůdy Golden Delicious obsahovala 77 mg kyseliny chlorogenové ve 100 g sušiny. Sušením při teplotě 43 °C poklesla hladina kyseliny jen velmi málo (o 7 %) na rozdíl od jablek sušených při teplotě 61 °C, kde zaznamenáváme velký pokles (o 82 %). Čerstvá jablka odrůdy Idared obsahovala 130 mg kyseliny chlorogenové ve 100 g sušiny. Podrobením teplotě 43 °C po dobu 6 hodin její hodnota poklesla o 69 %. Při sušení na teplotu 61 °C došlo k degradaci kyseliny a k poklesu o 86%. Sušením v elektrické troubě na 85 °C došlo k nárůstu obsahu kyseliny chlorogenové u obou odrůd jablek. U Idared bylo naměřeno zvýšení pouze o 13 %, zatímco u jablek odrůdy Golden Delicious o 150 % oproti čerstvým plodům.

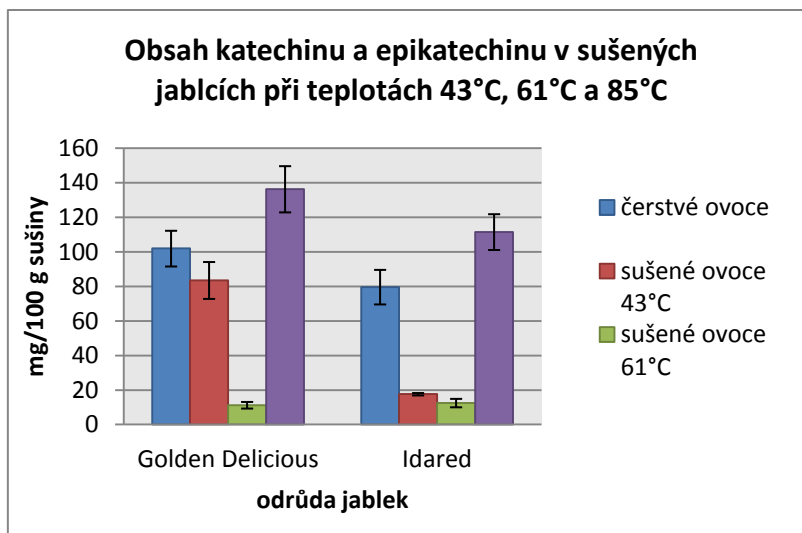


*Obrázek č. 96:* Obsah kyseliny chlorogenové v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

*Tabulka č. 64* Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Odrůda jablek/ epi+katechin	Golden Delicious mg/100 g suš.	Idared mg/100 g suš.
čerstvé ovoce	101,95 ± 10,34	79,64 ± 10,00
sušené ovoce 43 °C	83,52 ± 10,68	17,64 ± 0,71
sušené ovoce 61 °C	11,27 ± 1,91	12,52 ± 2,44
sušené ovoce 85 °C	136,31 ± 13,38	111,52 ± 10,36

Podobně jako v případě prokyanidinu B2 a kyseliny chlorogenové i obsah katechinu a epikatechinu se měnil se stoupající teplotou sušícího vzduchu. Jablka odrůdy Golden Delicious před sušicím procesem obsahovala 102 mg katechinu a epikatechinu ve 100 g sušiny. Působením vzduchu o teplotě 43 °C v elektrické sušičce došlo ke snížení jejich obsahu o 18 %. Zvýšením teploty na 61 °C hladina katechinu a epikatechinu klesla až o 89 %. Čerstvá jablka odrůdy Idared obsahovala 80 mg katechinu a epikatechinu ve 100 g sušiny. Sušením při teplotě 43 °C došlo k jejich úbytku o 78 % a působením teploty 61 °C o 84 %. U vzorků jablek sušených v elektrické troubě při teplotě 85 °C se obsah katechinu a epikatechinu zvýšil o 34 % u jablek odrůdy Golden Delicious a o 40 % u odrůdy Idared.



*Obrázek č. 97:* Obsah katechinu a epikatechinu v jablcích odrůdy Golden Delicious a Idared, které jsme podrobili sušicímu procesu při teplotách 43 °C, 61 °C, 85 °C

Souhrnně lze konstatovat, že zastoupení individuálních aktivních látek se měnilo u všech analyzovaných látek podobně. Sušením při mírnějších podmínkách (43 °C a 61 °C) došlo u všech sledovaných derivátů k poklesu hodnot, přičemž pokles byl závislý na odrůdě i na teplotě sušení. V případě sušení v elektrické troubě při 85 °C bylo u většiny látek zaznamenáno jejich zvýšení, což by mohlo být způsobeno tepelnou destrukcí plodů a uvolněním látek vázaných z biologických forem. Také mohlo dojít k nárůstu produktů Maillardových reakcí.

#### 5.4 Studium vlivu mražení na obsah aktivních látek v jablcích

Pro testování vlivu mražení na obsah aktivních látek jsme zamrazili celé plody i zpracované (na plátky jablek, na impregnované plátky a taktéž surovou dřeň a dřeň s přídavkem sacharózy).

Pro analýzu vlivu mražení na obsah aktivních byly vybrány 2 reprezentativní odrůdy - Golden Delicious a Idared. Zamrazili jsme jak celé plody jablek, tak i zpracované na plátky a jablečnou dřeň. U zpracovaných vzorků byla vytvořena další skupina vzorků s přídavkem protektantů (aditiv). Ke dření jablek byla přidána sacharóza a k impregnaci plátků byl použit roztok glukózy, sacharózy, kyseliny askorbové, chloridu vápenatého a chloridu sodného, který se nechal působit vždy 30 minut.

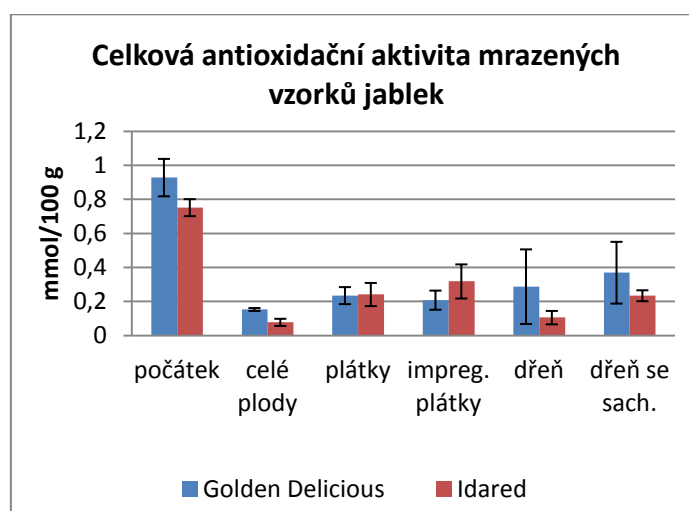
#### 5.4.1 Celková antioxidační aktivita mražených vzorků jablek

Celková antioxidační aktivita mražených vzorků jablek se měřila ihned po rozmražení podle postupu uvedeného v kapitole 4.4.2. Aktivita jablek je vyjádřena v mmol/100 g.

*Tabulka č. 64:* Celková antioxidační aktivita v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared (mmol/100 g)

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mmol/100 g)	Idared (mmol/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	0,15 ± 0,01	0,08 ± 0,02
plátky	0,23 ± 0,05	0,24 ± 0,07
Impregnované plátky	0,21 ± 0,06	0,32 ± 0,10
dřeň	0,29 ± 0,22	0,11 ± 0,04
dřeň s 10 % sacharózy	0,37 ± 0,18	0,23 ± 0,03

Celková antioxidační aktivita jablek před zamražením dosahovala hodnot 0,93 mmol/100 g u odrůdy Golden Delicious a 0,75 mmol/100 g u jablek odrůdy Idared. Mražením se však antioxidační aktivita vzorků plodů jablek rapidně snížila. Nevyšší pokles byl zaznamenán v celých plodech – 0,15 mmol/100 g jablek Golden Delicious a 0,08 mmol/100 g Idared. I porcované plody, tj. plátky jablek vykazovaly aktivitu pouze 0,23 až 0,24 mmol/100 g jablek, impregnované plátky pak 0,21 až 0,32 mmol/100 g. V jablečných dřevích se celková antioxidační aktivita pohybovala v rozmezí 0,11 až 0,29 mmol/100 g. Ve dřevích s přídavkem sacharózy byly tyto hodnoty o něco vyšší - 0,23 až 0,37 mmol/100 g.



*Obrázek č. 98:* Celková antioxidační aktivita v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Lze konstatovat, že mražením se antioxidační aktivita vzorků jablek poměrně značně snížila. Je pravděpodobné, že se antioxidační látky rychleji odbourávaly jak vlivem prudké změny metabolismu jablek a také vlivem destrukce tkání způsobené tvorbou ledových krystalků. Nevyšší pokles byl zaznamenán v celých plodech (o 84 %) v jablcích Golden Delicious a (o 89 %) v jablcích odrůdy Idared. V jablcích porcovaných na plátky došlo k podobnému poklesu celkové antioxidační aktivity v neošetřených i v impregnovaných plodech. V jablečných dřevích byla celková antioxidační aktivita vyšší ve vzorcích s přídavkem sacharózy. Přestože jsou naměřené hodnoty ve vzorcích dřeví a plátků velmi podobné, mírně vyšší celková antioxidační aktivita se projevila ve vzorcích s přidanými ochrannými látkami.

#### 5.4.2 Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v mražených vzorcích jablek

Množství celkových polyfenolů a flavonoidů bylo stanovováno podle postupu uvedeného v kapitolách 4.4.3 a 4.4.4. Celkové množství polyfenolů i flavonoidů je vyjádřeno v jednotkách mg/100 g jablek.

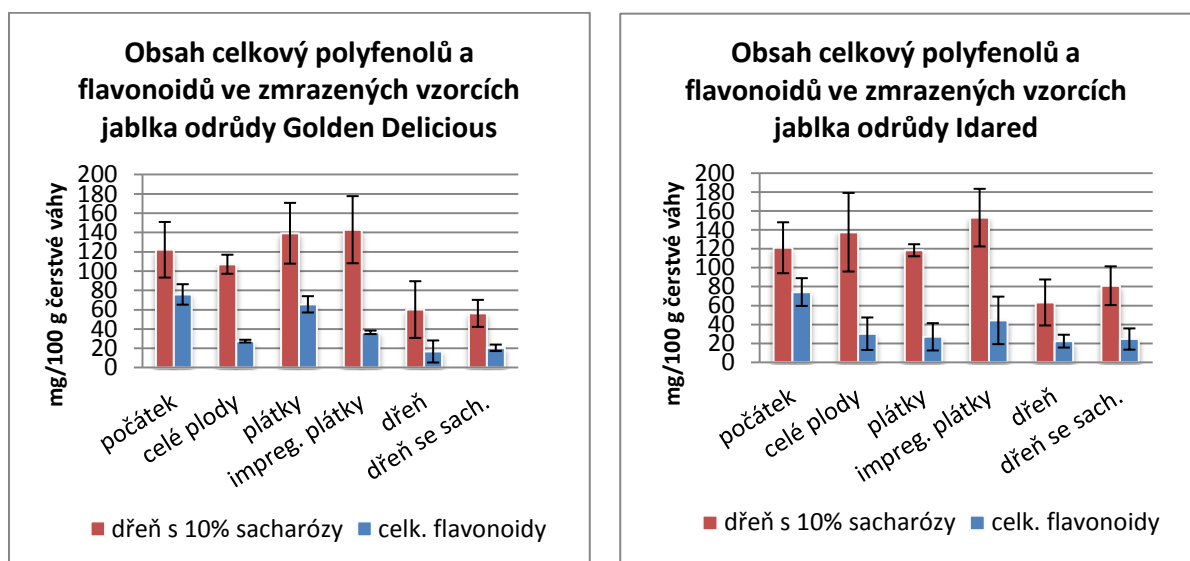
*Tabulka č. 65:* Obsah celkových polyfenolů v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	107,08 ± 9,87	137,50 ± 41,58
plátky	139,21 ± 31,49	118,42 ± 6,36
Impregnované plátky	142,89 ± 34,77	152,93 ± 30,49
dřeň	60,13 ± 29,37	63,20 ± 24,31
dřeň s 10 % sacharózy	56,22 ± 13,97	80,92 ± 20,51

*Tabulka č. 66:* Obsah celkových flavonoidů v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	27,41 ± 1,42	30,14 ± 17,20
plátky	65,55 ± 8,46	26,85 ± 14,43
Impregnované plátky	36,55 ± 1,82	44,24 ± 25,14
dřeň	16,71 ± 11,42	22,28 ± 6,77
dřeň s 10 % sacharózy	20,50 ± 3,37	24,53 ± 11,24

Hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů se v průběhu mrazícího procesu vzorků jablek příliš nelišily, avšak u některých došlo k nárůstu a poklesu hodnot oproti počátku (před zmražením). Nejnižší obsah polyfenolů i flavonoidů byl nalezen v surové jablečné dřeni 60 až 63 mg polyfenolů a 17 až 22 mg flavonoidů ve 100 g. U dřeni ošetřené 10% roztokem sacharózy byly naměřeny lehce vyšší hodnoty, tedy 56 až 81 mg polyfenolů a 21 až 25 mg flavonoidů/100 g. Naopak nejvyšší obsah těchto látek byl nalezen u impregnovaných plátků jablek obou odrůd, které obsahovaly 143 až 153 mg polyfenolů a 37 až 44 mg flavonoidů. Obsah celkových polyfenolů po zmražení je tak lehce vyšší než na počátku (122 mg), což je zřejmě způsobeno hydrolýzou polymerních fenolů.



*Obrázek č. 99:* Obsah celkových polyfenolů a flavonoidů v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů se v průběhu mrazícího procesu vzorků jablek příliš neměnily. Nejvyšší hladina byla nalezena v plátcích jablek obou odrůd, naopak nejnižší obsah byl nalezen v jablečných dřeních. Přídavek aditiv měl pozitivní vliv na udržení hladiny celkových polyfenolů a flavonoidů po zmražení a opětovném rozmražení vzorků jablek. Odchytky měřených parametrů jsou dosti vysoké, i když jednotlivé vzorky byly rozmrazovány za poměrně uniformních podmínek (teplota, čas, objem vzorku). Možnou roli zde může hrát umístění vzorků v mrazicím boxu, kde mohlo dojít k vyššímu a také rychlejšímu poklesu teploty u vzorků umístěných blízko chladících těles.



### 5.4.3 Obsah individuálních fenolických látek v mražených vzorcích jablek

Stanovení individuálních fenolických látek probíhalo po rozmražení vzorků podle postupu uvedeného v kapitole 4.5.6.

*Tabulka č. 66:* Obsah prokyanidinu B2 v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	1,06 ± 0,32	1,94 ± 1,49
plátky	0,71 ± 0,10	1,41 ± 0,77
Impregnované plátky	0,87 ± 0,13	1,56 ± 1,00
dřeň	1,21 ± 0,50	1,06 ± 0,25
dřeň s 10 % sacharózy	1,14 ± 0,61	1,20 ± 0,21

Naměřené množství prokyanidinu B2 se na počátku mrazicího procesu pohybovalo kolem 0,6 mg/100 g jablek odrůdy Golden Delicious a 1,2 mg/100 g jablek Idared. Po zmražení a opětovném rozmražení několika sérií vzorků v průběhu dvou měsíců bylo zjištěno, že obsah prokyanidinu B2 zůstal stejný, nebo se jeho hladina lehce zvýšila. Ve vzorcích odrůdy Idared došlo k významnému zvýšení u celých plodů, a to na hodnotu 1,9 mg. Ve vzorcích odrůdy Golden Delicious byla nejvyšší hodnota zjištěna v čisté dřeni - 1,2 mg. V celých plodech bylo naměřeno o 0,15 mg prokyanidinu B2 méně. Přestože jsou naměřené hodnoty prokyanidinu B2 ve vzorcích dřeni a plátků velmi podobné, mírně vyšší hodnoty byly zjištěny u vzorků s ochrannými látkami (cca o 0,1 mg vyšší).

*Tabulka č. 67:* Obsah kyseliny chlorogenové v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	7,65 ± 1,93	14,15 ± 1,59
plátky	5,12 ± 0,23	11,09 ± 2,76
Impregnované plátky	3,05 ± 0,25	10,02 ± 0,62
dřeň	6,44 ± 0,84	13,07 ± 0,42
dřeň s 10 % sacharózy	6,30 ± 1,03	10,39 ± 3,60

Obsah kyseliny chlorogenové se vlivem mražení zvýšil ve všech vzorcích jablek. Největší navýšení bylo zjištěno u celých plodů. Ještě před zmražením se hodnoty u obou odrůd pohybovaly kolem 2 mg/100 g. Po dvou měsících mražení se hodnoty kyseliny chlorogenové u odrůdy Golden Delicious zvýšily u celých plodů na 7,6 mg, u neošetřených

plátků na 5,1 mg a u impregnovaných na 3,1 mg/100 g. U odrůdy Idared byly tyto hodnoty dvojnásobné. U celých plodů došlo ke zvýšení na 14,2 mg, u neošetřených plátků na 11,1 mg a u impregnovaných na 10,4 mg/100 g.

*Tabulka č. 68:* Obsah katechinu a epikatechinu v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

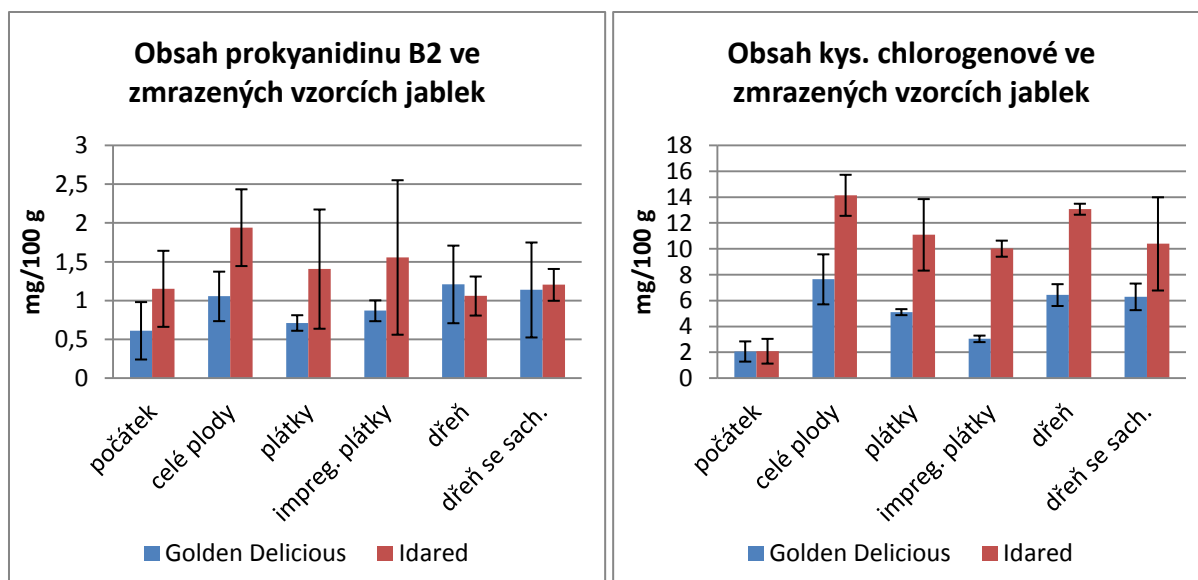
Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	6,91 ± 2,17	10,50 ± 1,23
plátky	6,46 ± 2,88	10,93 ± 4,00
Impregnované plátky	6,50 ± 0,89	16,31 ± 3,03
dřeň	6,24 ± 3,03	12,66 ± 3,82
dřeň s 10 % sacharózy	7,04 ± 0,80	13,23 ± 5,21

Podobně jako u kyseliny chlorogenové došlo v průběhu mražení i ke zvýšení hodnot katechinu a epikatechinu. U všech vzorků odrůdy Idared bylo zjištěno jejich dvojnásobné množství než u odrůdy Golden Delicious. Jablka Golden Delicious obsahovala před zmražením 1,8 mg katechinu a epikatechinu ve 100 g. V průběhu mražení se hodnoty ve všech vzorcích zvýšily na přibližně stejnou hodnotu (6,2 až 7,0 mg/100 g). U odrůdy Idared se hodnoty katechinu a epikatechinu na počátku mrazícího procesu pohybovaly kolem 3,0 mg/100 g. V průběhu dvou měsíců mražení byl naměřen nárůst hodnot na 10,5 až 16,3 mg/100 g. Ve dřevních jablek odrůdy Golden Delicious bylo naměřeno 6,2 mg katechinu a epikatechinu, zatímco u dřevní s přísadkou 10 % sacharózy 7,0 mg ve 100 g. U odrůdy Idared bylo zjištěno v čisté dřevni 12,7 mg těchto látek a ve dřevni se sacharózou 13,2 mg ve 100 g. V plátcích jablek u odrůdy Golden Delicious byly naměřeny velmi podobné hodnoty katechinu a epikatechinu - cca 6,5 mg. U odrůdy Idared se v impregnovaných plátcích byla zjištěna hodnota 16,3 mg, zatímco v neošetřených jen 10,9 mg ve 100 g.

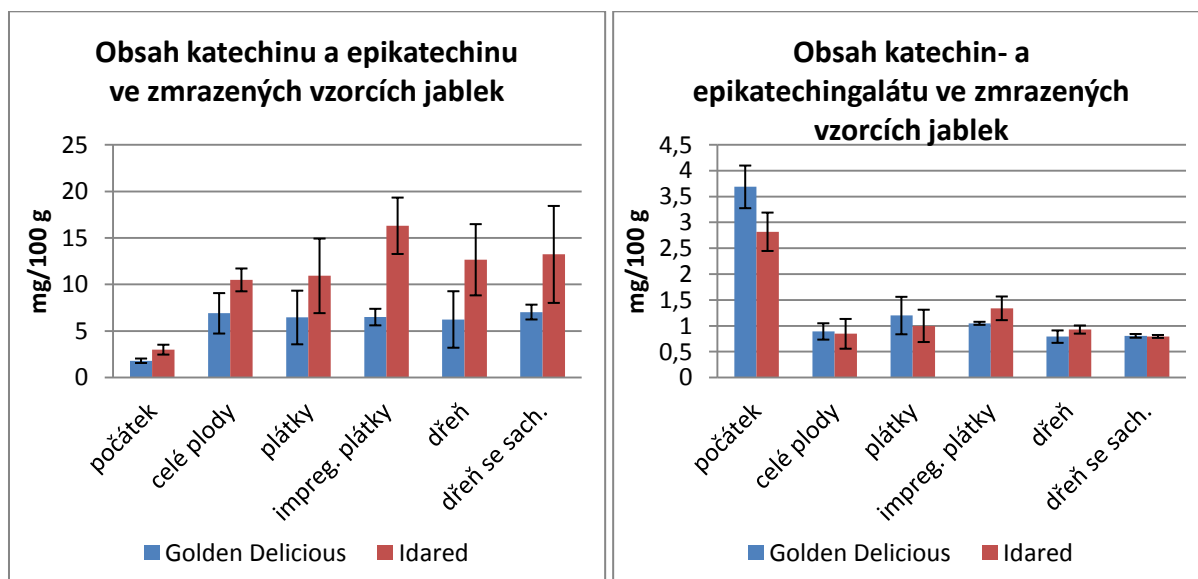
*Tabulka č. 69:* Obsah katechin- a epikatechingalátu v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Odrůda jablek/ zpracování vzorku	Golden Delicious (mg/100 g)	Idared (mg/100 g)
Doba mražení	2 měsíce	2 měsíce
celé plody	0,89 ± 0,16	0,85 ± 0,29
plátky	1,20 ± 0,36	1,00 ± 0,31
Impregnované plátky	1,05 ± 0,03	1,34 ± 0,23
dřeň	0,79 ± 0,12	0,93 ± 0,08
dřeň s 10 % sacharózy	0,81 ± 0,04	0,80 ± 0,03

Na rozdíl od volných forem, se obsah galátů katechinu a epikatechinu v průběhu mražení snížil ve všech vzorcích pod hranici 1,4 mg/100 g z původních 3,7 mg v odrůdě Golden Delicious a 2,8 mg v odrůdě Idared. Největší snížení bylo zaznamenáno u celých plodů. V plátcích jablek se obsah galátů pohyboval od 1,0 do 1,3 mg, ve dřeních od 0,8 do 0,9 mg/100 g.



Obrázek č. 100a,b: Obsah prokyanidinu B2 (a) a kyseliny chlorogenové (b) v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared



Obrázek č. 101a,b: Obsah katechinu a epikatechinu (a) a jejich galátů (b) v mražených vzorcích jablek odrůdy Golden Delicious a Idared

Souhrnné srovnání změn individuálních fenolických látek v mražených různě ošetřených vzorcích jablek a polotovarů prokázalo, že po zmražení a opětovném rozmražení několika sérií vzorků v průběhu dvou měsíců obsah prokyanidinu B2 zůstal stejný nebo se jeho hladina jen lehce zvýšila, zatímco u ostatních sledovaných látek – kyseliny chlorogenové, katechinů a epikatechinů byl zaznamenán nárůst ve všech vzorcích jablek u obou odrůd. Nejvyšší hodnoty kyseliny chlorogenové byly zjištěny v celých plodech, naopak nižší hodnoty byly naměřeny u ošetřených vzorků jablek impregnačním roztokem a sacharózou. Toto snížení hladiny kyseliny chlorogenové může být způsobeno reakcí s aditivními látkami či větším narušením tkání plodů. Z naměřených hodnot nelze zcela jasně usoudit, který způsob zpracování je vhodnější pro udržení co nejvyšší hladiny jak kyseliny chlorogenové, tak i katechinu a epikatechinu. Je však patrné, že ve vzorcích s přidavkem ochranných látek byly zjištěny vyšší hodnoty než ve vzorcích bez přidaných látek. Na rozdíl od volných forem, se obsah galátů katechinu a epikatechinu v průběhu mražení snížil ve všech vzorcích, což bylo zřejmě způsobeno částečnou hydrolýzou. Nelze však jednoznačně říci, zda přidavek ochranných látek měl pozitivní vliv na uchování galátů v upravených vzorcích dření a plátků.

## 6 Závěry

Předložená práce je zaměřena na sledování změn metabolického profilu jablek v průběhu různých způsobů dlouhodobého skladování a uchovávání. Výsledky práce jsou rozděleny do tří tematických celků podle způsobu uchovávání.

Průběžně byla prováděna rovněž senzorická analýza plodů jablek a posouzení spotřebitelské přijatelnosti.

### 1. Změny metabolického profilu jablek v průběhu dlouhodobého uchovávání v modifikované atmosféře se sníženým obsahem kyslíku (FAN) a normální atmosféře

Pro dlouhodobé uchovávání jablek v modifikované atmosféře (FAN) a normální atmosféře bylo vybráno 5 odrůd jablek (Jonagored, Idared, Šampion, Granny Smith a referenční odrůda Golden Delicious). Skladování probíhalo ve dvou skladovacích obdobích 2007/2008 a 2008/2009, ve kterých byly vzorky ve dvou měsíčních intervalech analyzovány za účelem zjištění změn zastoupení aktivních látek, antioxidační kapacity, mikrobiální kontaminace a pro studium změn lipidických látek v povrchových strukturách.

- Kontaminace jablek patogeny, narušení povrchových vrstev a složení mikroflóry ve skladovacích prostorách jsou významné faktory ovlivňující životaschopnost plodů. Jablka uskladněná v modifikované atmosféře mají na svém povrchu více bakteriálních zárodků než jablka uskladněná v normální atmosféře, což je způsobeno nižší koncentrací kyslíku. Ze stejného důvodu jsme přepokládali nižší kontaminaci povrchu zárodky hub jablek skladovaných v modifikované atmosféře, avšak tento předpoklad byl zjištěn jen u jablek odrůdy Granny Smith, u ostatních odrůd byly hodnoty srovnatelné s RA. Množství zárodků hub se nejprve během čtyř měsíců skladování snížilo, pravděpodobně z důvodu zhoršení růstových podmínek (snížení teploty, snížení množství kyslíku), avšak kontaminace opět narostla v šestém měsíci, kdy se změnila nejen struktura slupky jablek, ale také celková metabolická kondice jablek.
- Umělá infekce dlouhodobě skladovaných jablek pomocí plísni *Gloeosporium album* (běžný skládkový patogen - sbírkový kmen) a *Penicillium* (izolát z místa přirozené infekce) potvrdila, že jablka podléhala rychlejšímu šíření infekce způsobené patogenem *Gloeosporium album*, přičemž jablka skladovaná v modifikované atmosféře odolávala infekci snadněji než jablka uskladněná v normální atmosféře.
- Porovnáním hodnot celkové antioxidační aktivity z obou studií, konzumní zralosti a s přihlédnutím k výsledkům ze senzorické analýzy lze říci, že se hodnoty celkové

antioxidační aktivity zvyšovaly do počátku konzumní zralosti. Poté došlo k jejich postupnému poklesu. Opětovné zvýšení hodnot bylo zaznamenáno u konzumně přezrálých plodů, které vykazovaly známky otlacení a jejichž slupka byla svrašťelá, někdy s náznakem infekce. U plodů skladovaných v modifikované atmosféře byl celý proces stárnutí pozorován se zpožděním 1 až 2 měsíců v porovnání s plody uchovávanými v normální atmosféře, což vysvětluje nižší obsah kyslíku ve skladovací atmosféře a tím pádem pomalejší výměnu plynů a celkové zpomalení metabolismu plodů.

- Jablka ve sklizňové zralosti vykazovala nejvyšší hladiny kyseliny askorbové. V průběhu dalšího skladování došlo k postupnému úbytku, který byl výraznější u plodů uchovávaných v normální atmosféře. Nejvíce kyselinu askorbové bylo nalezeno u odrůdy Golden Delicious, avšak na rozdíl od ostatních odrůd zde došlo k největšímu úbytku v průběhu skladování. Nejlépe si hladinu kyseliny askorbové uchovala jablka odrůd Jonagored a Šampion, která dozrávala ve skladech nejkratší dobu. Jablka si tedy i při dlouhodobém uchovávání zachovávají obsah askorbátu; po 6 měsících skladování neklesla jeho hladina v plodech o více než 1/3 – v závislosti na odrůdě, v regulované atmosféře byl pokles hodnot ještě nižší. V celých plodech je zřejmě kyselina askorbová stabilizována vazbou na přirozené struktury nebo aktivitou jiných antioxidačních mechanismů, takže i uskladněná jablka si uchovávají poměrně vysoký obsah vitamínu C, což přispívá k jejich nutriční kvalitě.
- Do doby dosažení konzumní zralosti se obsah celkových polyfenolů i flavonoidů navyšoval v závislosti na testované odrůdě jablek, poté došlo opět k jejich postupnému úbytku. U přezrálých plodů došlo po tomto poklesu dalšímu zvýšení hodnot celkových polyfenolů i flavonoidů, zřejmě jako reakce na oxidační stres způsobený zejména destrukcí tkání vlivem stárnutí plodů. Plody uchovávané v modifikované atmosféře si uchovaly poměrně vysoké množství celkových polyfenolů i flavonoidů. Rovněž obsah celkových polyfenolů významně přispívá k nutriční kvalitě skladovaných jablek.
- Majoritní individuální fenolické látky (kyselina chlorogenová, prokyanidin B2, katechiny, epikatechiny a jejich galáty a florizin) tvoří převážnou část celkových polyfenolů a představují nutričně významnou složku plodů jablek. Zastoupení jednotlivých derivátů je specifické pro odrůdy, ale řádově se příliš neliší. Jablka rané odrůdy Jonagored byla ze všech testovaných odrůd nejchudší na většinu fenolických látek. Naopak nejvíce kyseliny chlorogenové a epikatechinu bylo nalezeno v jablcích odrůdy Šampion. Nejvíce prokyanidinu B2 a katechinů bylo nalezeno u odrůdy Granny Smith. Současně se stárnutím plodů a jejich dozráváním se zvyšuje obsah kyseliny chlorogenové. V přezrálých plodech jablek však dochází k jejímu úbytku. Plody v modifikované atmosféře se zpomaleným dozráváním obsahují méně kyseliny chlorogenové než stejně staré plody skladované v regulární atmosféře. Zastoupení

prokyanidinu B2 v testovaných odrůdách jablek příliš nelišilo, jeho hladina prokyanidinu B2 se v průběhu skladování kopírovala stoupající a klesající tendence celkové antioxidační aktivity. Volba skladovací atmosféry nemá na obsah prokyanidinu B2 výrazný vliv. V průběhu skladování bylo zjištěno postupné zvyšování obsahu katechinu ve všech vzorcích jablek. Od čtvrtého měsíce skladování byla naměřena vyšší hladina katechinu v jablcích uskladněných v modifikované atmosféře na rozdíl od jablek z normální atmosféry. Vyšší obsah katechingalátu před skladováním byl nalezen u odrůd s pozdější sklizňovou zralostí (Granny Smith a Idared). V průběhu prvních dvou měsíců skladování došlo též k navýšení hodnot katechingalátu ve všech skladovaných odrůdách jablek. Tyto změny jsou více patrné u jablek skladovaných v normální atmosféře. Zdá se, že s postupným dozríváním plodů do konzumační zralosti se zvyšuje obsah katechingalátu, s dalším stárnutím plodů jeho hladina klesá. Hladina epikatechinu se v průběhu skladování rovněž postupně zvyšovala ve všech odrůdách jablek v obou skladovacích atmosférách, přičemž vyšší hodnoty byly nalezeny u jablek skladovaných v modifikované atmosféře. Množství epikatechingalátu se v jablcích před uskladněním příliš nelišilo. Do čtvrtého měsíce skladování jablek v normální atmosféře se hladina epikatechingalátu zvyšovala a v šestém měsíci byl zaznamenán její pokles. V jablcích uskladněných v modifikované atmosféře se hodnoty epikatechingalátu zvyšovaly v průběhu celého skladování.

- Hladina floridzinu se zvyšovala do dosažení konzumní zralosti a poté se postupně snižovala. Zatímco předchozí diskutované majoritní fenolické látky mají podíl zřejmě zejména na antioxidačních vlastnostech plodů, z průběhu hodnot floridzinu je patrné, že pokles v průběhu posklizňového dozrívání a dalšího uchovávání má za následek postupnou ztrátu typické chuti, vůně a částečně i barvy jablek, tento flavonoid se tedy podílí nejen na nutričních, ale významně i na sensorických charakteristikách jablek.
- Hladiny minoritních fenolických látek – rutinu, morinu, kvercetin a hladiny karotenoidů mohou souviset s postupnou změnou sensorických a chuťových vlastností plodů jablek. Postupný pokles obsahu těchto byl pozorován v obou atmosférách, ve FAN byl úbytek poněkud pomalejší.
- Z antioxidačních enzymů přítomných v jablkách má nejvyšší aktivitu ze všech testovaných enzymů kataláza. V plodech uchovávaných v normální atmosféře byla její aktivita mírně vyšší než v plodech uskladněných v modifikované atmosféře. V jablcích zimní odrůdy Idared byla aktivita katalázy nejvyšší. Aktivita superoxiddismutázy v jablcích skladovaných v normální atmosféře byla naopak nižší než v jablcích z modifikované atmosféry. V jablcích odrůdy Golden Delicious byla zjištěna nejnižší aktivita SOD ze všech testovaných odrůd. Aktivita polyfenoloxidázy (PPO) byla z testovaných enzymů nejnižší,

a to zejména v jablcích z normální atmosféry. Celkově byla nejvyšší aktivita všech enzymů nalezena v jablcích s odrůdy Idared, naopak nejnižší v jablcích odrůdy Golden Delicious, což může být způsobeno vyčerpáním enzymů během obrany buněk vůči stárnutí a vlivům okolního prostředí.

- V rámci studia změn složení povrchových vrstev jablek byla optimalizována metoda stanovení mastných kyselin zastoupených ve slupkách a dužině jablek. Před analýzu methylesterů mastných kyselin pomocí GC/FID byla zařazena jako preseparační krok tenkovrstvá chromatografie polárních a zejména nepolárních lipidů. Mezi nejvíce zastoupené mastné kyseliny ve slupkách všech analyzovaných odrůd jablek patří kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina olejová a kyselina linolová. Dužina plodů jablek je méně bohatá na lipidické látky, mezi majoritní patří kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina olejová, kyselina linolová a také kyselina linoleová (na rozdíl od slupek). Stárnutím jablek dochází k poklesu hladiny nenasycených mastných kyselin a současně k nárůstu hladiny nasycených kyselin. Vyšší hodnoty indexu nasycenosti byly zaznamenány v jablcích skladovaných v normální atmosféře. Celkový stupeň nasycení se tedy zvyšoval s dobou skladování a s obsahem kyslíku ve skladovacím prostředí, a to zejména u jablek s krátkou dobou skladování. Změny složení povrchové bariéry plodů mohou souviset i s vnímavostí jablek k mikrobiální infekci.

## **2. Metabolické změny jablek v průběhu skladování v různých domácích podmínkách**

Jablka odrůdy Golden Delicious a Idared byla uskladněna po dobu osmi týdnů ve třech nejběžněji užívaných prostorách v domácnosti vyznačujících se poměrně stálou teplotou a vlhkostí: místnost s 20 °C a vlhkostí 38,0 %, sklepní prostory s 9 °C a vlhkostí 38,4 %, lednice s 8 °C a vlhkostí 33,4 %.

- Největší antioxidační aktivita jablek byla zaznamenána před uskladněním. V prvním týdnu skladování došlo výraznému k poklesu antioxidační aktivity zřejmě jako reakce na změnu okolních podmínek, zejména teplotu. V dalších týdnech skladování, kdy se jablka na změnu podmínek aklimatizovala, se celková antioxidační aktivita jablek měnila v malém rozpětí hodnot. V posledním týdnu skladování došlo k poklesu antioxidační aktivity ve všech prostředích, přičemž nejvyšší hodnota byla naměřena u obou odrůd jablek uskladněných ve sklepě. V průběhu celého skladování se vyšší antioxidační aktivita projevila v jablcích uchovávaných v místnosti s teplotou 20 °C, nejmenší pak v lednici. Ke kolísání hodnot antioxidační aktivity došlo v důsledku zapojování obranných mechanismů jablek proti stárnutí a negativnímu vlivu okolního prostředí.



- Nejvyšší hodnoty kyseliny askorbové byly naměřeny před uskladněním plodů jablek. V průběhu prvního týdne došlo k největšímu úbytku kyseliny u obou odrůd jablek ve všech prostředích, přičemž největší pokles hodnot byl zaznamenán u jablek skladovaných v místnosti s teplotou 20 °C. Po osmi týdnech skladování hladina kyseliny askorbové dosáhla minimálních hodnot. Pro uchování kyseliny askorbové se jednoznačně jeví jako nejvhodnější skladování ve sklepních prostorech, jako nejhorší skladování při pokojové teplotě.
- V průběhu skladování došlo ke změnám celkových polyfenolů i flavonoidů, které kopírují trendy zvyšování a snižování celkové antioxidační aktivity jablek. Na konci skladovacího procesu se hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů zvýšily v jablcích z lednice a místnosti s pokojovou teplotou, zatímco u jablek skladovaných ve sklepě se hodnoty těchto látek mírně snížily. Podobně tomu bylo u přezrálých jablek v dlouhodobé studii skladování ve FAN a RA, i když celková antioxidační aktivita na konci skladování poklesla. Z těchto závěrů vyplývá, že zásadní podíl na hodnotě na celkové antioxidační aktivity má obsah kyseliny askorbové.
- Individuální antioxidanty rovněž podléhaly výrazným změnám v průběhu uchování. Obsah kyseliny chlorogenové po osmém týdnu skladování byl nejnižší v jablcích skladovaných při pokojové teplotě, nejvyšší pak ve sklepě. Zvýšením obsahu kyseliny chlorogenové se zřejmě přezrálé plody snaží uchovat rovnováhu tvorby a odstraňování volných radikálů, které se ve vyšší míře vytváří během stárnutí plodů. Obsah katechinu a epikatechinu se kolísavě měnil s dobou a také způsobem uskladnění. V průběhu prvních třech týdnů byla nejvyšší hladina katechinu a epikatechinu zaznamenána u jablek skladovaných v pokoji, naopak nejmenší v lednici. V průběhu dalších pěti týdnů (4. až 8. týden skladování) byla vyšší hladina katechinu a epikatechinu zjištěna právě u vzorků z lednice a nejmenší u jablek z pokoje. Je tedy pravděpodobné, že katechiny a epikatechiny nastupují jako druhá linie antioxidační obrany. Příslušné katechin- a epikatechingaláty pak působí pravděpodobně v počátcích skladování.

### **3. Vlivu způsobu zpracování jablek na obsah aktivních látek v jablcích v průběhu sušení a mražení**

#### **I. Sušení jablek**

Sušení patří k často využívaným technikám pro uchování potravin i v domácnostech. V předložené práci bylo modelováno sušení v několika spotřebitelsky dostupných a hojně využívaných zařízeních - elektrické sušičce s regulovaným rozvodem teplého vzduchu pomocí

zabudovaného ventilátoru při teplotě 43 °C a 61 °C a v elektrické troubě se zajištěným odvodem páry při 85 °C.

- Sušením při teplotě 43 °C po dobu 6 hodin byly získány suché, vláčné a ohebné jablečné plátky. Sušením při vyšší teplotě 65 °C po dobu 9 hodin se jablečné plátky lámaly a byly přesušené.
- Celková antioxidační aktivita jablek klesala postupně se zvyšující se teplotou sušícího vzduchu. U jablek sušených v elektrické sušičce vzduchem zahřátým na 43 °C bylo zaznamenáno snížení celkové antioxidační aktivity asi o čtvrtinu hodnoty v čerstvém ovoci, sušením při 61 °C o třetinu a sušením při 85 °C došlo k poklesu antioxidační aktivity až o tři čtvrtiny.
- Působením teplého vzduchu docházelo k postupné degradaci kyseliny askorbové. Během sušení v elektrické sušičce na 43 °C došlo k poklesu kyseliny o třetinu množství naměřeného v čerstvém ovoci. Zvýšením teploty na 61 °C hladina kyseliny poklesla až na polovinu. V ovoci, které jsme sušili v elektrické troubě při teplotě 85 °C, byly naměřeny velmi nízké hodnoty kyseliny askorbové. Na tomto významném poklesu se mohla podílet jak degradace samotné kyseliny askorbové, tak i její uvolnění z vázaných forem vlivem destrukce plodů způsobené zvýšenou teplotou.
- Množství celkových polyfenolů a flavonoidů ve vzorcích jablek se ze zvyšující teplotou snižovalo. Sušením jablek při teplotě 43 °C došlo k poklesu hladiny polyfenolů na čtvrtinu původního množství a flavonoidů dokonce na polovinu. Během sušení při vyšší teplotě 61 °C byly ztráty podobné. Sušením v elektrické troubě na 85 °C však došlo k nárůstu hodnot celkových polyfenolů i flavonoidů, což je pravděpodobně důsledek tvorby některých produktů Maillardových reakcí a rovněž tepelné destrukce tkání s následným uvolněním fenolických látek z vázaných struktur.
- Sušením při nižších teplotách došlo k úbytku všech sledovaných individuálních flavonoidů - prokyanidinu B2, kyseliny chlorogenové, katechinu i epikatechinu. Při sušení jablek na teplotu 61 °C došlo k největšímu úbytku aktivních látek. Naopak sušením při teplotách 85 °C došlo ke zvýšení obsahu aktivních látek nad hodnoty naměřené v čerstvém ovoci. K tomuto navýšení došlo zřejmě v důsledku odštěpení aktivních látek z vázaných forem.

## II. Mražení jablek

Pro analýzu vlivu mražení na obsah aktivních látek byly vybrány dvě reprezentativní odrůdy – Golden Delicious a Idared. Byly mraženy celé i upravené plody a rovněž plody

ošetřené vybranými ochrannými látkami. Ke dření jablek byla přidána sacharóza, k impregnaci plátků byl použit roztok glukózy, sacharózy, kyseliny askorbové, chloridu vápenatého a chloridu sodného, které se nechaly působit po dobu 30 minut.

- Reakcí na teplotní šok byl u analyzovaných vzorků jablek výrazný pokles celkové antioxidační aktivity. Antioxidační látky se rychleji odbourávaly jak vlivem prudké změny metabolismu jablek, tak i vlivem destrukce tkání způsobené tvorbou ledových krystalků. Nejvyšší pokles byl zaznamenán v celých plodech jablek. Přestože jsou hodnoty celkové antioxidační aktivity ve vzorcích dření a plátků velmi podobné, mírně vyšší aktivita se projevila právě ve vzorcích s ochrannými látkami.
- Hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů se v průběhu mrazícího procesu vzorků jablek příliš neměnily. Nejvyšší hladina byla nalezena v plátcích jablek obou odrůd, naopak nejnižší obsah byl nalezen v jablečných dřenicích. Přídavek aditiv měl pozitivní vliv na udržení hladiny celkových polyfenolů a flavonoidů po rozmražení vzorků jablek.
- Obsah individuálních fenolických látek se měnil podobně jako obsah celkových polyfenolů. Obsah prokyanidinu B2 zůstal stejný nebo se jeho hladina jen lehce zvýšila. V průběhu mražení byl zaznamenán mírný nárůst obsahu kyseliny chlorogenové ve všech vzorcích jablek u obou odrůd. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny v celých plodech, naopak nižší hodnoty byly naměřeny u ošetřených vzorků jablek. Toto snížení hladiny kyseliny chlorogenové může být způsobeno reakcí s aditivními látkami či větším narušením pletiv. Obsah katechinu a epikatechinu se mražením rovněž zvýšil ve všech vzorcích, avšak nelze zcela jasně usoudit, který způsob zpracování je vhodnější pro udržení co nejvyšší hladiny individuálních fenolických látek. Je však patrné, že ve vzorcích s přídavkem ochranných látek byly zjištěny mírně vyšší hodnoty než ve vzorcích bez přidaných látek.

Obecně lze konstatovat, že jablka jsou cenným zdrojem řady významných nutričních látek typu vitaminů, provitaminů a antioxidantů. V průběhu skladování tyto látky vykazují značnou ochrannou funkci plodů. Dlouhodobé skladování (zejména v modifikované atmosféře) umožňuje uchovat většinu těchto nutričně cenných látek, a to v závislosti na odrůdě a podmínkách skladování. Mražení je vůči plodům jablek šetrné (zejména v přítomnosti ochranných látek), zatímco v průběhu sušení dochází k poklesu hodnot všech sledovaných antioxidantů v závislosti na teplotě a podmínkách sušení. Při volbě metody uchovávání je třeba zohlednit jak nutriční, tak i sensorické charakteristiky a spotřebitelské požadavky.

Na základě získaných výsledků lze uzavřít, že jablka i skladovaná nebo jinak vhodně uchovávaná patří ke kvalitním tuzemským zdrojům přírodních vitaminů, provitaminů, minerálů, vlákniny a dalších cenných látek a patří k nejvíce zastoupeným a hodnotným druhům ovoce využívaným s výhodou v čerstvém (resp. uskladněném) i zpracovaném stavu.

## 7 Seznam použité literatury

1. Slattery M.L., Benson, Curtin J.K., Ma K., Schaeffer D., Potter J.D.: Carotenoids and colon cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, vol. 71, 575-582 p. ISSN 0002-9165.
2. Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Boelens P. G., Norren K., Leeuwen P.: Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, vol. 74, 418-425 p. ISSN 0002-9165.
3. Terry P., Jain M., Miller A.B., Howe G.R., Rohan T.E.: Dietary carotenoids and risk of breast cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2002, vol. 76, 883-888 p. ISSN 0002-9165.
4. Prior R. L.: Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2003, vol. 78, 570-578 p. ISSN 0002-9165.
5. Hancock J.F.: *Temperate Fruit Crop Breeding- Germplasm to Genomics*. Springer Netherlands, 2008, 460 p. ISBN: 978-1-4020-6906-2.
6. Ovocnářská unie České republiky <unie@volny.cz> Součastnost v ovocnářství. [on-line HTML dokument]. Holovousy: *Ovocnářská unie České republiky* [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/soucasnost.php>>.
7. Kolářová M.: Monitoring biologické rozmanitosti ovocných sadů v České republice [on-line HTML dokument]. Praha: ČZU [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[http:// www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Monitoring-biologicke-rozmanitosti-ovocnych-sadu-v-Ceske-republice\\_\\_s513x55365.html](http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Monitoring-biologicke-rozmanitosti-ovocnych-sadu-v-Ceske-republice__s513x55365.html)>.
8. Bodokova S. <bodokova@uzpi.cz> Češi patří k největším konzumentům jablek ve světě [on-line HTML dokument]. Praha: *Ústav zemědělské ekonomiky a informací*, 2010 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.agronavigator.cz/ekozem/default.asp?ch=99&typ=1&val=97354&ids=0&cmo=9&cye=2010>>.
9. Svaz pro integrované systémy <lansky@vsuo.cz> *Odrůdy jednotlivých ovocných druhů povolené k výsadbě v roce 2010* [on-line HTML dokument]. Holovousy: *Ovocnářská unie České republiky*, 2010 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo>>.
10. Ovocnářská unie České republiky <lansky@vsuo.cz> *Sklizně ovoce z plodných intenzivních sadů v tunách* [on-line PDF dokument]. Holovousy: *Ovocnářská unie České republiky*, 2010 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[www.ovocnarska-unie.cz/pdf/odhad\\_ovoce\\_9\\_2010.pdf](http://www.ovocnarska-unie.cz/pdf/odhad_ovoce_9_2010.pdf)>.

11. Tržní informační systém <tis.ovoce@szif.cz> Zpráva o trhu ovoce [on-line PDF dokument]. Praha: *Státní zemědělský intervenční fond*, 2011 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous/CmDocument?rid=%2Fapa\\_anon%2Fcs%2Fzpravy%2Ftis%2Fzpravy\\_o\\_trhu%2F06%2F1301577353874.pdf](http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous/CmDocument?rid=%2Fapa_anon%2Fcs%2Fzpravy%2Ftis%2Fzpravy_o_trhu%2F06%2F1301577353874.pdf)>.
12. Ministerstvo zemědělství: Redakčně upravená roční zpráva [on-line PDF dokument]. Praha: *MZ ČR* [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[www.mze-vyzkum-infobanka.cz/DownloadFile/52942.aspx](http://www.mze-vyzkum-infobanka.cz/DownloadFile/52942.aspx)>.
13. Janssen B.J., Thodey K., Schaffer R.J., Alba R., Balakrishnan L., Bishop R., Bowen J.H., Crowhurst R.N., Gleave A.P., Ledger S., McArtney S., Pichler F.B., Snowden K.C., Ward S.: Global gene expression analysis of apple fruit development from the floral bud to ripe fruit. *BMC Plant Biology*, 2008, vol. 8, no. 16. ISSN 1471-2229.
14. Kupferman E.: The Role of Ethylene in Determining Apple Harvest and Storage Life. *Post Harvest Pomology Newsletter*, 1986, vol. 4, no. 1. ISSN 0882-8024.
15. Kouřimská L.: Změny při skladování jablek [on-line HTML dokument]. Praha: *ČZU* [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Zmeny-pri-skladovani-jablek\\_\\_s513x48400.html](http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Zmeny-pri-skladovani-jablek__s513x48400.html)>.
16. Kalinová J.: Posklizňová úprava, skladování a zpracování rostlinných produktů [on-line PDF dokument]. České Budějovice: *Jihočeská universita, Zemědělská fakulta* [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/ecologica/kva.pdf>>.
17. Swindeman A.M.: Fruit Packing and Storage Loss Prevention Guidelines. [on-line PDF dokument] *Washington state university – Tree fruit research and extension center*, 2002 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/REP2002D.pdf>>.
18. Zagory D., Kader A.A.: Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technology*, 1988, vol. 42, no. 9, 70-77 p. ISSN 1438-2385.
19. Husáková M.: Nové technologie ve skladování ovoce [on-line HTML dokument]. Praha 2009 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Nove-technologie-ve-skladovani-ovoce\\_\\_s513x45080.html](http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Nove-technologie-ve-skladovani-ovoce__s513x45080.html)>.
20. Fellows P.J.: Controlled- or modified-atmosphere storage and packaging. *Food Processing Technology - Principles and Practice 2*. vyd. Woodhead Publishing, 2000. 406-417, 436 p. ISBN 978-1-59124-070-9.
21. Fellows P.J.: Modified- and controlled-atmosphere storage (MAS and CAS). *Food Processing Technology - Principles and Practice 2*. vyd. Woodhead Publishing, 2000. 409 p. ISBN 978-1-59124-070-9.
22. Nečas T.: Základy skladování v modifikované atmosféře [on-line PDF dokument]. *Multimediální učební skriptum ovocnictví*, 2004 [cit. 20. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://>>

[http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav\\_551/eltronic\\_ovoc/\\_private/ovoc\\_1/data/rizena\\_atmo.pdf](http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/eltronic_ovoc/_private/ovoc_1/data/rizena_atmo.pdf)>.

23. Sisler E.C.: The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnology Advances*, 2006, vol. 24, no. 4, 357-367 p. ISSN 0734-9750.
24. Beaudry R.: Use of 1-MCP on Apples. *Perishables Handling Quarterly*, 2001, vol. 108, 12-16 p.
25. Jongen W.: Fruit and Vegetable Processing - Improving Quality. *Woodhead Publishing*, 2002. 356-363 p. ISBN 978-1-59124-432-5.
26. Martinez-Monzo J., Martinez-Navarette N., Chiralt A., Fito P.: Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*, 1998, vol. 63, no. 3, 499–503 p. ISSN 0022-1147.
27. Jongen, W.: Fruit and Vegetable Processing - Improving Quality. *Woodhead Publishing*, 2002. 363-372 p. ISBN 978-1-59124-432-5.
28. BLANDA, Giampaolo, et al. Phenolic content and antioxidant capacity versus consumer acceptance of soaked and vacuum impregnated frozen nectarines. *European Food Research and Technology*. 2008, 1, s. 191-197. ISSN 1438-2377.
29. Scott K.J., Wills R.B.H.: Vacuum infiltration of calcium chloride: a method for reducing bitter pit and senescence of apples during storage at ambient temperatures. *Journal of Horticultural Science*, 1977, vol. 12, no. 1, 71–72 p. ISSN 1118-2733.
30. Poovaiah B.W.: Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, 1986, vol. 9. ISSN 0015-6639.
31. Tirmazi S.I.H., Wills R.B.H.: Retardation of ripening of mangoes by postharvest application of calcium. *Journal of Tropical Agriculture*, 1981, vol. 58, 137–141 p. ISSN 0254-8755.
32. Ponappa T., Scheerens J.C., Miller A.R.: Vacuum infiltration of polyamines increases firmness of strawberry slices under various storage conditions. *Journal of Food Science*, 1993, vol. 58, no. 2, 361–364 p. ISSN 0022-1147.
33. Valero D., Martinez-Romero D., Serrano M., Riquelme F.: Influence of postharvest treatment with putrescine and calcium on endogenous polyamines, firmness, and abscisic acid in lemon (*Citrus lemon L. Burm Cv. Verna*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, vol. 46, 2102–2109 p. ISSN 0021-8561.
34. Valero D., Martinez-Romero D., Serrano M., Riquelme F.: Postharvest gibberellin and heat treatment effects on polyamines, abscisic acid and firmness in lemons. *Journal of Food Science*, 1998, vol. 63, no. 4, 611–615 p. ISSN 0022-1147.

35. Lidster P.D., Dick A.J., Demarco A., Mcrae K.B.: Application of flavonoid glycosides and phenolic acid to suppress firmness loss in apples. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 1986, vol. 111, no. 6, 892–896 p. ISSN 0003-1062.
36. Zoufala J., Vejl P., Melounova M., Blazek J., Krelinova J.: Apple genetics resources and their molecular analysis. *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, 2009, vol. 55, 69–79 p. ISSN 0551-3677.
37. Pulkrábek J., Capouchová I.: Speciální fytotechnika - Ovocnictví [on-line HTML dokument]. *ČZU Systém multimediální elektronické dokumentace*, verze 3.1, kap. 12, 2003 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul\\_key=4&idkapitola=204](http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul_key=4&idkapitola=204)>.
38. Melounová M., Vejl P., Sedlák P., Zoufalá J., Blažek J. <melounova@af.czu.cz> Studium segregace majorgenů řídicích rezistenci jabloní vůči padlí jabloňovému a strupovitosti. [on-line PDF dokument] Praha: *ČZU Katedra genetiky a šlechtění* [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.agris.cz/etc/textforwarder.php?iType=2&iId=142118>>.
39. Čiháková K.: Padlí jabloňové [on-line JPG obrázek]. Praha, 2008 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.biolib.cz/IMG/GAL/64148.jpg>>.
40. Gall J.: Strupovitost jabloně [on-line JPG obrázek]. Praha, Agromanuál 2011 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.agromanual.cz/userfiles/image/gall\\_kalendar/07-2011/11\\_strupovitost\\_3499.jpg](http://www.agromanual.cz/userfiles/image/gall_kalendar/07-2011/11_strupovitost_3499.jpg)>.
41. Kader, A.A.: Postharvest Technology of Horticultural Crops. UC Postharvest Research & Information Center, UC Davis 2002. Dostupný z: <<http://postharvest.ucdavis.edu>>.
42. Pierson CH.F., Ceponis M.J., McColloh L.P.: *Blue Mold Rot*. [on-line HTML dokument] Market Diseases of Apples, Pears, and Quinces - Agriculture Handbook No. 376. United States: Department of Agriculture, 1971, [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/marketdiseases/bluemold.html>>.
43. Jebáček P.: Modrá hniloba jablek [on-line JPG obrázek]. [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://media1.jex.cz/images/\\_tmb/media1:498ae010d7d10.jpg/%C5%A1ed%C3%A1%20hniloba.jpg](http://media1.jex.cz/images/_tmb/media1:498ae010d7d10.jpg/%C5%A1ed%C3%A1%20hniloba.jpg)>.
44. Gall J.: Šedá hniloba hroznů [on-line JPG obrázek]. Praha, Agromanuál 2011 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.agromanual.cz/userfiles/image/gall\\_kalendar/07-2011/20\\_seda\\_hniloba\\_298.jpg](http://www.agromanual.cz/userfiles/image/gall_kalendar/07-2011/20_seda_hniloba_298.jpg)>.
45. Jones, A.L., Aldwinkle H.S.: Compendium of Apple and Pear Diseases. St. Paul, MN: APS Press 1990, 36-38 p. ISBN 978-0-89054-109-8.
46. Kloutvorová J.: *Pezicula alba Guthrie (anamorfní stadium Phlyctaena vagabunda Desm, syn. Gloeosporium album Osterw.) – popis patogena, metody kultivace a umělé infekce plodů jablek*. [on-line PDF dokument]. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z <<http://vsuo.cz/pdf/pez-alba.pdf>>.



47. Hrdinová R.: Kruhová hniloba [on-line JPG obrázek]. ihned.cz 2012 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://img.ihned.cz/attachment.php/860/36129860/aiou5BDE7HIJLMO6QcdeghprzTU29Vmn/kruhov\\_hniloba.JPG](http://img.ihned.cz/attachment.php/860/36129860/aiou5BDE7HIJLMO6QcdeghprzTU29Vmn/kruhov_hniloba.JPG)>.
48. Sikora E. J.: *Bitter Rot of Apple*. [on-line PDF dokument] Plant Disease Notes Alabama A & M and Auburn Univerites 2004 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z <<http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-1180/ANR-1180.pdf>>.
49. Štěpánek P.: Hořká skvrnitost (pihovitost) jablek [on-line JPG obrázek]. Agromanuál 2006 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<https://admin.smartemailing.cz/link.php?M=24355489&N=12242&L=20648&F=H>>.
50. Doubrava N.: Black Rot [on-line JPG obrázek]. Clemson University 2009 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.clemson.edu/extension/hgic/graphics/2000/black\\_rot300.jpg](http://www.clemson.edu/extension/hgic/graphics/2000/black_rot300.jpg)>.
51. Magnarelli L.: White Rot [on-line JPG obrázek]. Agricultural experiment station 2008 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://www.ct.gov/caes/lib/caes/IMAGES/Plant\\_Pest/whiterot.jpg](http://www.ct.gov/caes/lib/caes/IMAGES/Plant_Pest/whiterot.jpg)>.
52. Tree fruit research <tfrec@wsu.edu>: Mucor Rot on a Golden Delicious fruit [on-line JPG obrázek]. Washington State University Postharvest Diseases of apple and pear 2005 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://decay.tfrec.wsu.edu/images/mucor-golden-side-200.jpg>>.
53. Bayer S.A.: *Alternaria alternata* tomate [on-line JPG obrázek]. [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.bayercropscience.cl/soluciones/fichaproblema.asp?id=21>>.
54. Van Dyk J.: Cladosporium ear rot [on-line JPG obrázek]. Iowa State University Entomology Department 1996 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ent.iastate.edu/images/plantpath/corn/cladosporium/1355.35cladosporium.jpg>>.
55. Holb I.J., H. Scherm H.: Temporal Dynamics of Brown Rot in Different Apple Management Systems and Importance of Dropped Fruit for Disease Development. *The American Phytopathological Society*, 2007, vol. 97, 1104-1111 p. ISSN 0191-2917.
56. Sedlářová M., Vašutová M.: *Monilinia fructigena* [on-line JPG obrázek]. Universita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta 2007, oprava 2011 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ent.iastate.edu/images/plantpath/corn/cladosporium/1355.35cladosporium.jpg>>.
57. Havlíková P.: Změny v celkové antioxidační kapacitě séra u depresivní poruchy, *Disertační práce*, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Psychiatrická klinika, 2006, s 23.
58. Ahn T., Paliyath P., Murr D.P.: Antioxidant enzyme activities in apple varieties and resistance to superficial scald development. *Food Research International*, 2007, vol. 40, no. 8, 1012-1019 p., ISSN 0963-9969.
59. Šťavíková L.: Charakterizace vlastností extraktů z hroznových bobulí pomocí moderních analytických metod, *Disertační práce*, Chemická fakulta Vysokého učení technického v Brně, 2010, s 11-12.



60. Měřínská R.: Analýza flavonoidů v pivu metodou LC-MS, *Diplomová práce*, Chemická fakulta Vysokého učení technického v Brně, 2010, s 10-11.
61. Lattanzio V., Lattanzio V. M. T., Cardinali A.: *Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects*. *Phytochemistry: Advances in Research*, Research Signpoint, 2006, 23-67 p., ISBN 81-308-0034-9.
62. Adyanthaya I.: *Antioxidant response mechanism in apples during post-harvest storage and implications for human health benefits*. Ph.D. Thesis. University of Massachusetts Amherst, 2007, 76 p.
63. Jaakola L., Määtä K., Pirttilä A.M., Törrönen R., Kärenlampi S., Hohtola A.: Expression of Genes Involved in Anthocyanin Biosynthesis in Relation to Anthocyanin, Proanthocyanidin, and Flavonol Levels during Bilberry Fruit Development. *Plant Physiology*, 2002, vol. 130, 729–739 p. ISSN 1532-2548.
64. Wang H, Cao G, Prior RL.: The oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, vol. 45, 304–9 p. ISSN 0021-8561.
65. Macheix J, Fleuriet A, Billot J.: Fruit phenolics. *Boca Raton, FL: CRC Press*, 1990.
66. Gould K., Davies K.M., Winefield Ch.: Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications, Springer, 2009 s.89. ISBN: 978-0-387-77334-6
67. Seeram N.P., Bourquin L.D., Nair M.G.: Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, vol. 49, 4924–4929 p. ISSN 0021-8561.
68. Boyer J., Liu R. H.: Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 2004, vol. 3. ISSN 1541-6100.
69. Usermeds: Ascorbic acid [on-line PNG obrázek]. Usermeds Medication [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://usermeds.com/static/bae9e5ebb2eac62608d14f0baee17d1f.png>>.
70. Behrens W.A., Madere R.: Ascorbic acid, isoascorbic acid, dehydroascorbic acid, and dehydroascorbic acid in selected food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1994, vol. 7, no. 3, 158-170 p. ISSN 1096-0481.
71. Lachman J.: Antioxidační komplex bioflavonoidů a askorbové kyseliny v jablkách (*Malus pumila Mill.*). [on-line WORD dokument] [cit. 21. 1. 2012]. [www.agris.cz](http://www.agris.cz), 2000. Dostupný z <<http://www.agris.cz/etc/filereader.php?ild=126&PHPSESSID=481f96c28a5bf9751777e40fb9afb7f8>>.
72. Wheeler G.L., Jones MA., Smirnoff N.: The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 1998, vol. 393, 365-369 p. ISSN 0028-0836.

73. Wills R.B.H., Widjanarko S.B.: Changes in physiology, composition and sensory characteristics of Australian papaya during ripening. *Australian Journal Experimental Agriculture*, 1995, vol. 35, no. 8, 1173-1176 p. ISSN 0816-1089.
74. Barata-Soares A.D., Gomez M.L., Mesquita C.H., Lajolo F.M.: Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Plant Physiology*, 2004, vol. 16, no. 3, 147-154 p. ISSN 1532-2548.
75. Barošová M.: Sledování antioxidantů v sušeném ovoci. Diplomová práce Chemická fakulta Vysokého učení technického v Brně, 2008, s 19.
76. Merzlyak M.N., Solovchenko A.E.: Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence. *Plant Science*, 2002, vol. 163, 881-888 p. ISSN 0306-4484.
77. MacDougall D.B.: *Colour in Food - Improving Quality*. [on-line PDF dokument] Woodhead Publishing, 2002 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <[http://knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_bookid=654&VerticalID=0](http://knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=654&VerticalID=0)>.
78. deMan, John M.: Principles of Food Chemistry (3rd Edition). *Springer – Verlag*, 1999, 33p. ISBN 978-1-59124-786-9.
79. Ju Z., Bramlage W.J.: Developmental changes of cuticular constituents and their association with ethylene during fruit ripening in 'Delicious' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, vol. 21, 257–263 p. ISSN 0925-5214.
80. Song J., Bangerth F.: Fatty acids as precursors for aroma volatile biosynthesis in pre-climacteric and climacteric apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, vol. 30, 113-121 p. ISSN 0925-5214.
81. Altisent R., Graell J., Lara I., Lo'pez L., Echeverri'a G.: *Increased straight-chain esters content after ultra low oxygen storage and its relation to the lipoxygenase system in 'Golden Reinders' apples*. European Food Research Technolgy, 2010. ISSN: 1438-2385.
82. Fellman J.K., Miller T.W., Mattinson D.S., Mattheis J.S.: Factors that influence biosynthesis of volatile flavor compounds in apple fruits. *HortScience*, 2000, vol. 35, 1026–1033 p. ISSN 0018-5345.
83. Balejová M.: Předběžná identifikace anaerobních bakterií. [on-line HTML dokument] European Food Research Technolgy, 2007 [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.szu.cz/tema/prevence/predbezna-identifikace-anaerobnich-bakterii>>.
84. SVÚ: Diagnostické metody používané na oddělení bakteriologie. [on-line HTML dokument] Jihlava: Státní veterinární ústav [cit. 21. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.svujihlava.cz/119-diagnosticke-metody.html>>.

85. Identifizierung von Mikroorganismen jenseits der Klassischen Mikrobiologie. *BRAUWELT*, 2010, 150, č. 31-32, s. 946-947.
86. Hamal, P., Jandová, B., Mencl, K.: Identification of yeasts from clinical material. An overview of current opportunities with a focus on phenotypic methods and commercial products. *Zdravotnické noviny*, PM příloha 5/2010. ISSN: 0044-1996
87. Drogoudi P.D., Michailidis Z., Pantelidis G.: Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 2008, vol. 115, 149-153 p. ISSN 0304-4238.
88. Renard C., Dupont N., Guillermin P.: Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no. 8, 1128-1138 p. ISSN 0031-9422.
89. Gardner P.T., White T.A.C., McPhail D.B., Duthie G.G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 2000, vol. 68, 471-474 p. ISSN 0308-8146.
90. Kasai S., Arakawa O.: Antioxidant levels in watercore tissue in 'Fuji' apples during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, vol. 55, 103-107 p. ISSN 0925-5214.
91. Li M.J., Ma F.W., Zhang M., Pu F.: Distribution and metabolism of ascorbic acid in apple fruits (*Malus domestica* Borkh cv. Gala). *Plant Science*, 2008, vol. 174, 606-612 p. ISSN 0306-4484.
92. Djioua T., Charles F., Freire M., Filgueiras H., Ducamp-Collin M.N., Sallanon H.: Combined effects of postharvest heat treatment and chitosan coating on quality of fresh-cut mangoes (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, vol. 45, 849-855 p. ISSN 0950-5423.
93. Czyzowska A., Pogorzelski E.: Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Total polyphenols and phenolic acids. *European Food Research and Technology*, 2002, vol. 214, no. 2, 148-154 p. ISSN 1438-2377.
94. Huang Z., Wang B., Williams P., Pace R.D.: Identification of anthocyanins in muscadine grapes with HPLC-ESI-MS. *LWT - Food Science and Technology*, 2009, vol. 42, 819-824 p. ISSN 1096-1127.
95. Łata B.: Apple peel antioxidant status in relation to genotype, storage type and time. *Scientia Horticulturae*, 2008, vol. 117, no. 1, 45-52 p. ISSN 0304-4238.
96. Poláková M., Márová I., Hiemer J., Kotrla R., Valášek P., Drdák M.: Antioxidanty a jejich vliv na lidské zdraví [on-line DOC dokument]. XXXIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin - Souhrny, 2002, s. 45. [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.vscht.cz/zkp/ustav/doc/SouhrnySD02.doc>>.

97. Yang J., Gadi R., Paulino R., Thomson T.: Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food Chemistry*, 2010, vol. 122, no. 3, 627-632 p. ISSN 0308-8146.
98. Ming-Yen Juan, Cheng-Chun Cho: Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715. *Food Microbiology*, 2010, vol. 27, no. 5, 586-591p. ISSN 0740-0020.
99. Gursoy N., Sarikurkcu C., Cengiz M., Solak M.H. Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, vol. 47, no. 9, 2381-2388 p. ISSN 0278-6915.
100. Šavikin K., Zdunić G., Janković T., Tasić S., Menković N., Stević T., Đorđević B.: Phenolic Content and Radical Scavenging Capacity of Berries and Related Jams from Certificated Area in Serbia. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2009, vol. 64, no. 3, 212-217 p. ISSN 0921-9668.
101. Chvátalová K.: Studium antiradikálové aktivity fenolových kyselin a jejich vlivu na redoxní stav železa a mědi. *Disertační práce*. Biochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, 2006, s. 29.
102. Paulová H., Bochořáková H. Táborská E.: Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické Listy*, 2004, vol. 98, 174–179 p. ISSN 0009-2770.
103. Cocci E., Rocculi P., Romani S., Rosa M.D.: Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 2006, vol. 39, no. 3, 265-271 p. ISSN 0925-5214.
104. Sun T., Powers J.R, Tang J.: Effect of enzymatic macerate treatment on rutin content, antioxidant activity, yield, and physical properties of asparagus juice. *Journal of Food Science*, 2007, vol. 72, no. 4, 267-271 p. ISSN 0022-1147.
105. Atala E., Vásquez L., Speisky H., Lissi E., López-Alarcón C.: Ascorbic acid contribution to ORAC values in berry extracts: An evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology. *Food Chemistry*, 2009, vol. 113, no. 1, 331-335 p. ISSN 0308-8146.
106. Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H.: Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, vol. 19, no. 6-7, 669-675 p. ISSN 0889-1575.
107. Zulueta A., Esteve M.J., Frígola A.: ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 2009, vol. 114, no. 1, 310-316 p. ISSN 0308-8146.

108. Wu J., Gao H., Zhao L., Liao X., Chen F., Wang F., Hu X.: Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry*, 2007, vol. 103, 88–93 p. ISSN 0308-8146.
109. Zhang Ch., Tian S.: Crucial contribution of membrane lipids' unsaturation to acquisition of chilling-tolerance in peach fruit stored at 0°C. *Food Chemistry*, 2009, vol. 115, 405–411 p. ISSN 0308-8146.
110. Rocha A.M.C.N., Morais A.M.M.B.: Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from Jonagored apple. *Food Control*, 2001, vol.12, 85-90 p. ISSN 0956-7135.
111. Abassi N.A., Kushad M.M, Endress A.G.: Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. *Scientia Horticulturae*, 1998, vol. 74, 183–194 p. ISSN 0304-4238.
112. Fan X., Matthesis J.P.: Inhibition of Oxidative and Antioxidative Enzymes by Trans-Resveratrol. *Journal of Food Science*, 2001, vol. 66, no. 2, 200-2013 p. ISSN 0022-1147.
113. Queiroz Ch., Ribeiro da Silva A.D., Mendes Lopes M.L., Fialho E., Valente-Mesquita V.E.: Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. *Food Chemistry*, 2011, vol. 125, no. 1, 128-132 p. ISSN 0308-8146.
114. Abbasi N.A., ZORA Singh Z., Khan A.S.: Dynamics of antioxidant levels and activities of reactive oxygen-scavenging enzymes in „Pink Lady“ apple fruit during maturation and ripening. *Pakistan Journal of Botany*, 2010, vol. 42, no. 4, 2605-2620 p. ISSN 2070-3368.
115. Trujillo J.P.F., Nock J.F., Kupferman E.M., Brown S.K., Watkins Ch.B.: Peroxidase Activity and Superficial Scald Development in Apple Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, no. 24, 7182–7186 p. ISSN 1520-5118.
116. Valderrama P., Clemente E.: Isolation and thermostability of peroxidase isoenzymes from apple cultivars Gala and Fuji. *Food Chemistry*, 2004, vol. 87, no. 4, 601-606 p., ISSN 0308-8146.
117. Zhou Y., Dahler J.M., Underhill S.J.R., Wills R.B.H.: Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chemistry*, 2003, vol. 80, no. 4, 565-572 p. ISSN 0308-8146.
118. Kar M., Mishra D.: Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. *Plant Physiology*, 1976, vol. 57, 315-319 p. ISSN 1532-2548.
119. Sala J.M., María T. Lafuente M.T.: Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biology and Technology*, 2000 vol. 20, no. 1, 81-89 p. ISSN 0925-5214.

120. Perez F.J., Lira W.: Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. *Journal of Plant Physiology*, 2005, vol. 162, no. 3, 301-308 p. ISSN 0176-1617.
121. Ludvík M.: Golden Delicious. [on-line HTML dokument]. Ovocnářská unie – povolené odrůdy jablek, [cit. 23. 9. 2010]. Dostupný z: <[http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/golden\\_d.htm](http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/golden_d.htm)>.
122. Hajduček P.: Golden Delicious [on-line HTML dokument]. Uniplant - šlechtění ovocných dřevin, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.uniplant.cz/jablon-golden-delicious.htm>>.
123. Orange Pippin: Granny Smith apple [on-line HTML dokument]. Orange Pippin, 2012 [cit. 23. 9. 2010]. Dostupný z: <<http://www.orangepippin.com/apples/granny-smith>>.
124. Ludvík M.: Idared [on-line HTML dokument]. Ovocnářská unie – povolené odrůdy jablek, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/idared.htm>>.
125. Hajduček P.: Idared [on-line HTML dokument]. Uniplant - šlechtění ovocných dřevin, [cit. 23. 9. 2010]. Dostupný z: <<http://www.uniplant.cz/jablon-idared.htm>>.
126. Ludvík M.: Jonagored [on-line HTML dokument]. Ovocnářská unie – povolené odrůdy jablek, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/jonagored.htm>>.
127. Mezey J.: Jonagored – jedna z perspektivních a moderných odrůd, [on-line HTML dokument]. KOVaV-FZKI-SPU Nitra, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.koha-plant.sk/2008040011-jonagored-jedna-z-perspektivnych-a-modernych-odr-d>>.
128. Ludvík M.: Šampion [on-line HTML dokument]. Ovocnářská unie – povolené odrůdy jablek, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/sampion.htm>>.
129. Blanda, Giampaolo: Osmotic dehydrofreezing of strawberries: Polyphenolic content, volatile profile and consumer acceptance. *Food Science and Technology*. 2009, vol. 42, s. 30-36. ISSN: 0023-6438.
130. Blanda, Giampaolo: Effect of frozen storage on the phenolic content of vacuum impregnated Granny Smith and Stark Delicious apple cvv. *European Food Research and Technology*. 2008, vol. 5, s. 1229-1237. ISSN 1438-2377.
131. Ferdová J.: Změny aktivit enzymů v ovoci v průběhu dlouhodobého uchování, *Diplomová práce*, Chemická fakulta Vysokého učení technického v Brně, 2010, s. 39-40.
132. Christopherson S.W., Glass R.L.: Preparation of milk fat methyl esters by alcoholysis in an essential nonalcoholic solution. *Journal of Dairy Science* 1969, vol. 55, s. 1289-1290. ISSN: 0022-0302.

133. Čertík M., Šajbidor, J.: Variability of fatty acid composition in strains *Mucor* and *Rhizopus* and its dependence on the submersed and surface growth. *Microbios.*, vol. 85, 1996, s. 151-160. ISSN: 0026-2633.
134. Čertík M., Ješko D.: Profil mastných kyselín ako marker kategorizácie rôznych druhov ovsa. *Zborník z XV. medzinárodnej konferencie LABORALIM Banská Bystrica, 2005*, s. 37-44.
135. Douša M.: Statistické zpracování analytických dat [on-line HTML dokument]. HPLC.cz:Validační program pro statistické zpracování analytických dat, [cit. 22. 1. 2012]. Dostupný z: <[www.hplc.cz/Validace/program\\_validace.htm](http://www.hplc.cz/Validace/program_validace.htm)>.
136. Dohnal L.: Analýza rozpytlu. *Štatistické metódy pre klinickú epidemiológiu a laboratórnu prax*, 2008, kap. 4, s.7-42. ISBN: 9788089346004.
137. Yodoi J., Nishinaka Y.: Oxidative Stress Signal and Redox Regulation. *Molecular Immunology* 2002, vol. 38/10, s. 713–721. ISSN: 0161-5890.

## 8 Seznam použitých zkratek

AAPH	2,2'-Azobis(2-AmidinoPropane) Hydrochloride
ABTS	[2,2'-AzinoBis(3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulfonic acid)]
BAN	Boarding ANaerobiosis
CFU	Colony Forming Unit
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
DPPH	DiPhenylPicrylHydrazyl
FAN	Fluctuated ANaerobiosis
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Potencial
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MAS	Modified Atmosphere Storage
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
RP-HPLC	Reverse Phase - High Performance Liquid Chromatography
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
ULO	Ultra Low Oxygen
UV	Ultra Violet



## 9 Přílohy

Příloha č. 9.1: Skladování jablek v normální atmosféře na MZLU Lednice

Příloha č. 9.2: Skladování jablek v modifikované atmosféře na MZLU Lednice

Příloha č. 9.3: Chromatogram katechinů

Příloha č. 9.4: Chromatogram flavonoidů

Příloha č. 9.5: Chromatogram skupin nepolárních lipidů ze slupky jablek Granny Smith (čárové nanášení – detekce jodovými parami)

Příloha č. 9.6: Chromatogram skupin nepolárních lipidů ze slupky jablek (bodové nanášení – detekce 5% kyselinou sírovou v methanolu)

Příloha č. 9.7: Chromatogram mastných kyselin ze slupky jablek odrůdy Golden Delicious

*Příloha č. 9.1: Skladování jablek v normální atmosféře na MZLU Lednice*

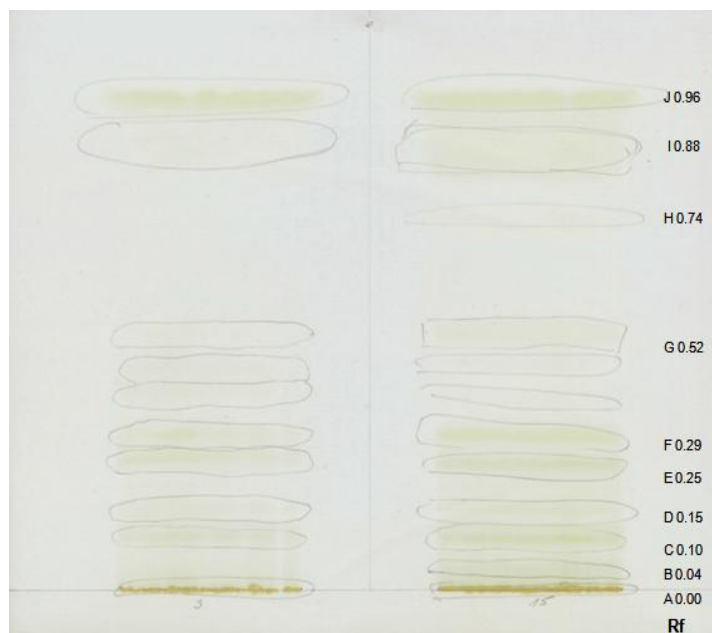


*Příloha č. 9.2: Skladování jablek v modifikované atmosféře na MZLU Lednice*

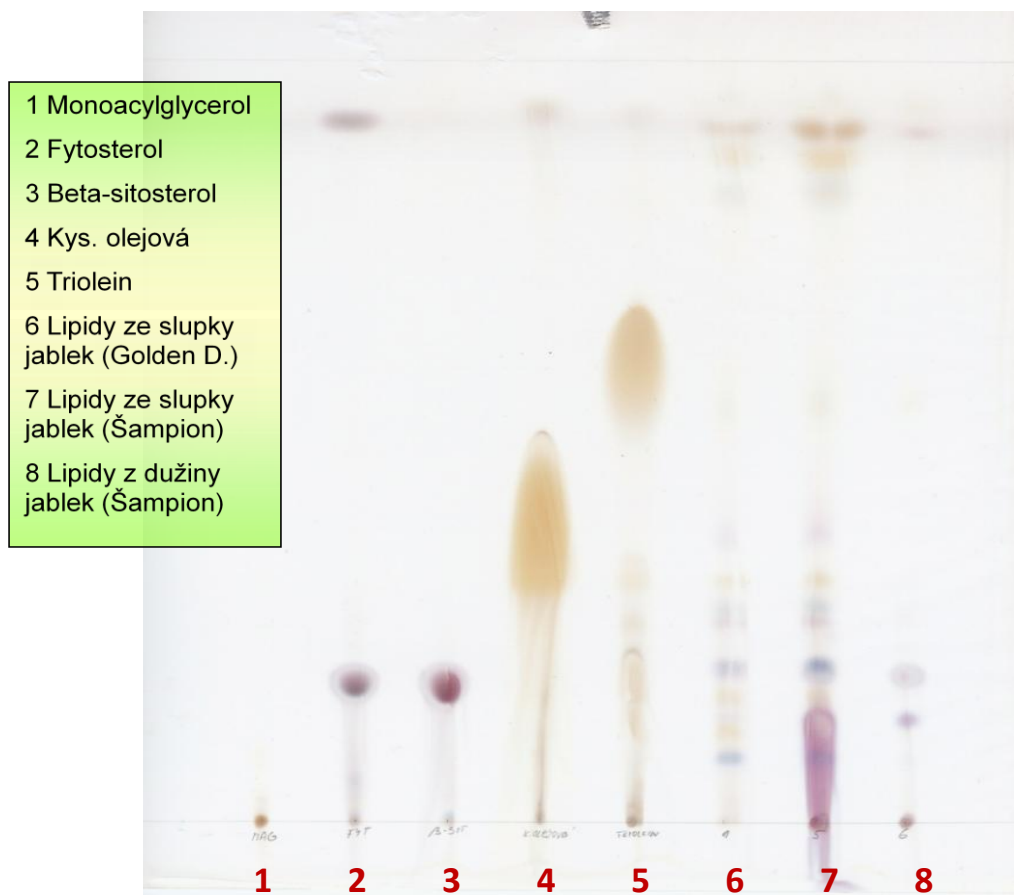




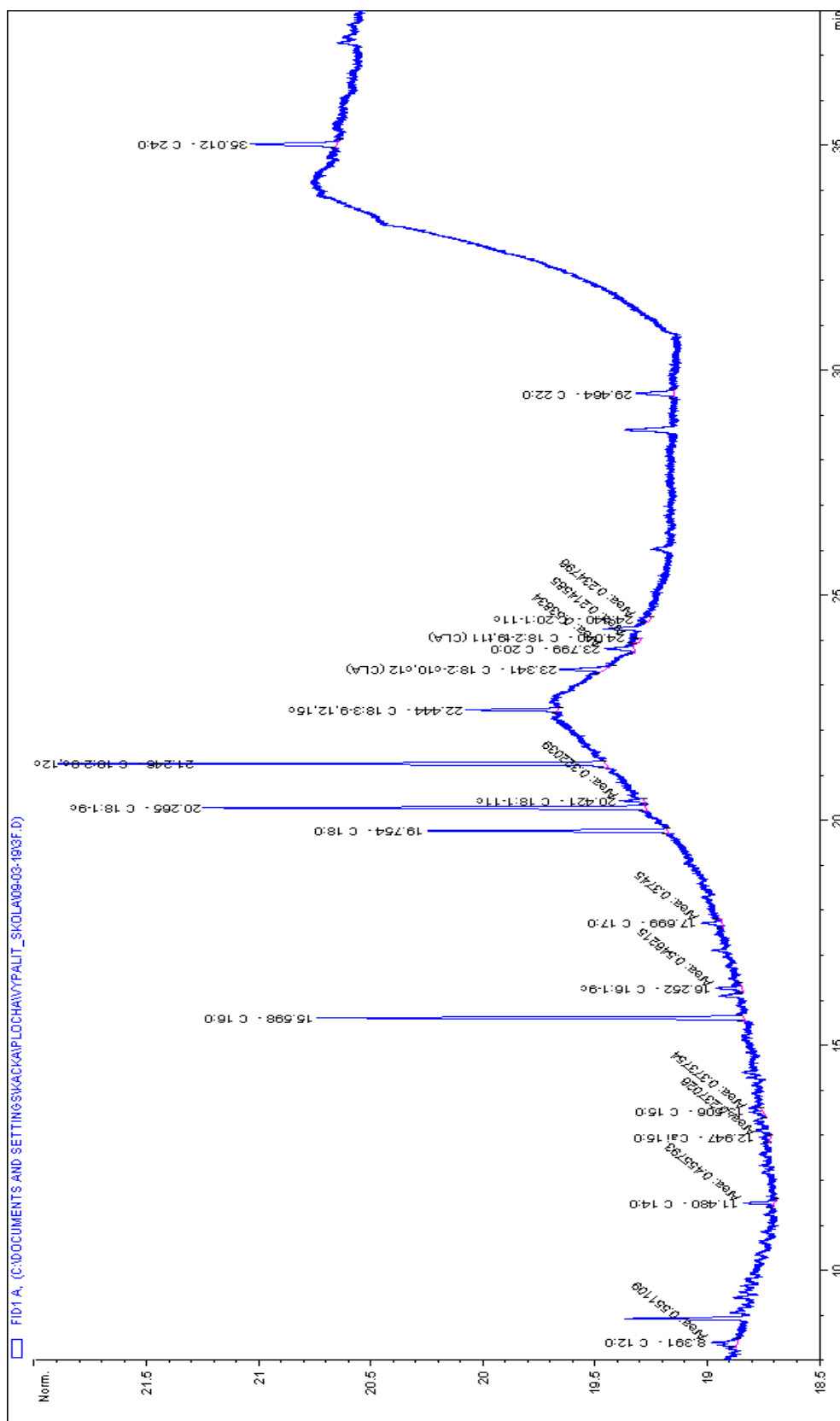
*Příloha č. 9.5:* Chromatogram skupin nepolárních lipidů ze slupky jablek Granny Smith (čárové nanášení – detekce jodovými parami)



*Příloha č. 9.6:* Chromatogram skupin nepolárních lipidů ze slupky jablek (bodové nanášení – detekce 5% kyselinou sírovou v methanolu)



Příloha č. 9.7: Chromatogram mastných kyselin ze slupky jablek odrůdy Golden Delicious



## 10 Životopis autora a publikační činnost

<b>Jméno:</b>	Kateřina Duroňová
<b>Datum narození:</b>	4. 2. 1983
<b>Adresa:</b>	Hrubá Strana 102, 696 32 Ždánice
<b>Rodinný stav:</b>	svobodná
<b>Vzdělání:</b>	1989-1998 Masarykova základní škola Ždánice 1998-2002 Střední zdravotnická škola, Brno, obor Zdravotní laborant 2002-2007 FCH VUT, Brno, Chemie a technologie potravin, obor Potravinářská chemie a biotechnologie, ukončeno státní závěrečnou zkouškou, Ing.
<b>Zaměstnání:</b>	06/2008-12/2011 Technik pro analýzu potravin, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická 01/2009-12/2009 Hlavní řešitel grantu G4/2639 FRVŠ Sledování změn metabolické aktivity jablek v průběhu skladování v regulované atmosféře. 01/2010-12/2010 Spoluřešitel grantu G4/2750 FRVŠ Studium potravin a potravinových doplňků z pohledu zvýšení jejich bezpečnosti, zdraví prospěšnosti, autentičnosti a využití odpadů, které vznikají při zpracování surovin pro potravinářské účely.
<b>Znalost jazyků:</b>	angličtina
<b>Studijní pobyt:</b>	12/2008-08/2009, STU FCHPT Bratislava 10/2010-12/2010, STU FCHPT Bratislava
<b>Kurzy:</b>	2008, 2009 rekvalifikační kurzy společností Merck (mikrobiologie), Sigma-Aldrich (separační techniky), Brno 09/2011-04/2012 kurz angličtiny s rodilým mluvčím a příprava k FCE, Americká jazykovka, Brno 2010 Komunikační dovednosti, Timemanagement, Řízení vztahu se zákazníky, ICV Brno

### **Publikace v časopisech:**

DUROŇOVÁ K., MÁROVÁ I., ČERTÍK M., OBRUČA S. CHANGES OF LIPID COMPOSITION IN THE SURFACE LAYERS OF APPLES DURING LONG-TERM STORAGE UNDER CONTROLLED ATMOSPHERE. *Chemical Papers*, accepted 21.3.2012. (SCI)

MÁROVÁ, I.; KUČERÍK, J.; MIKULCOVÁ, A.; DUROŇOVÁ, K.; VLČKOVÁ, Z. STUDY OF ANTIMUTAGENIC AND/ OR GENOTOXIC EFFECT OF PROCESSED HUMATES. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, roč. 8, č. 3, s. 1-5. ISSN: 1610-3653.(SCI)

DUROŇOVÁ, K.; PAŘILOVÁ, K.; HALIENOVÁ, A.; FERDOVÁ, J.; KOČÍ, R.; GOLIÁŠ, J.; MÁROVÁ, I. INFLUENCE OF LONG- TERM STORAGE CONDITIONS ON ANTIOXIDANT AND OTHER ACTIVE COMPONENT CONTENT IN SEVERAL SORTS OF APPLES. *Chemické listy*, 2008, roč. 102, č. 15, s. 624-625. ISSN: 1213-7103. (Scopus)

MÁROVÁ, I.; BAROŠOVÁ, M.; TOMKOVÁ, M.; VONDRÁČKOVÁ, H.; DUROŇOVÁ, K.; KOČÍ, R. ANTIOXIDANT AND ANTIMUTAGENIC ACTIVITY OF DRIED FRUITS, FRUIT TEAS AND CEREAL FRUIT PRODUCTS. *Chemické listy*, 2008, roč. 102, s. 722-723. ISSN: 1213- 7103. (Scopus)

MÁROVÁ, I.; JELÉNKOVÁ, Z.; DUROŇOVÁ, K.; KOČÍ, R. ANALYSIS OF ACTIVE SUBSTANCES IN HONEY - A CONTRIBUTION TO HONEY AUTHENTICITY. *Chemické listy*, 2008, roč. 102, s. 720-721. ISSN: 1213- 7103. (Scopus)

### **Články ve sbornících - fulltexty:**

PAŘILOVÁ, K.; MĚŘÍNSKÁ, R.; BENEŠOVÁ, P.; DUROŇOVÁ, K.; MÁROVÁ, I. ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN DIFFERENT KINDS OF BEER. *XIV. Setkání biochemiků a molekulárních biologů*. Brno: MU Brno, 2010. s. 70-71. ISBN: 978-80-210-5164-5.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; MÁROVÁ, I.; ČERTÍK, M. STUDY OF MOLECULAR CHANGES IN SURFACE LAYERS OF APPLES STORED IN DIFFERENT CONDITIONS. *Chemické listy*, 2010, roč. 104 (2010), č. 6, s. 573-574. ISSN: 0009-2770.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; DVOŘÁKOVÁ, T.; MÁROVÁ, I. CHANGES OF ACTIVE SUBSTANCES IN TWO APPLE VARIETIES DURING LONG- TERM STORAGE UNDER VARIOUS CONDITIONS. *ChemZi*, 2009, roč. 5/ 2009, č. 9, s. 218-219. ISSN: 1336-7242.

DUROŇOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; LICHNOVÁ, A. ANALYSIS OF FLAVONOIDS IN HONEY OF DIFFERENT ORIGIN BY LC/MS/ ESI. 8th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods and 15th Internacional Symposium on Separation Sciences; Proceedings. Pécs, Hungary: Hungarian Society for Separation Sciences, 2009. s. 180-181. ISBN: 978-963-06-7878-0.

DUROŇOVÁ, K.; DVOŘÁKOVÁ, T.; MATĚJKOVÁ, M.; FERDOVÁ, J.; HALIENOVÁ, A.; MÁROVÁ, I. CHANGES OF ANTIOXIDANT STATUS IN IDARED AND GOLDEN DELICIOUS APPLES DURING STORAGE. *Vitamis, Nutrition and Diagnostic 2009, Proceedings*. Zlín: Universita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. s. 168-169. ISBN: 978-80-7318-809-2.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; HALIENOVÁ, A.; BAROŠOVÁ, M.; KOČÍ, R.; GOLIÁŠ, J.; MÁROVÁ, I. CHANGES OF ANTIOXIDANT STATUS IN APPLES DURING LONG- TERM STORAGE UNDER NORMAL AND MODIFIED ATMOSPHERE. *Vitamins, Nutrition and Diagnostics*. 2008. s. 126-127. ISBN: 978-80-7318-708-8.

DUROŇOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; MACUCHOVÁ, S.; MIKULÍKOVÁ, R. STUDY OF ANTIMUTAGENIC ACTIVITY OF BARLEY AND MALT. *Proceedings, Vitamins 2007*. Praha: Radanal, spol. s r.o., 2007. s. 129-130. ISBN: 978-80-7194-937-4.

#### **Konferenční příspěvky – abstrakty:**

DUROŇOVÁ, K.; MATĚJKOVÁ, M.; MÁROVÁ, I. STUDY OF CHANGES IN ANTIOXIDANT LEVELS IN SEASONAL BERRY FRUITS DURING LONG- TERM STORAGE BY FREEZING. *Chemické listy*, 2011, roč. 121, s. 1004. ISSN: 0009-2770.

DUROŇOVÁ, K.; ČERTÍK, M.; MÁROVÁ, I. ANALYSIS OF POLAR AND NONPOLAR LIPIDS IN THE SURFACE LAYERS OF LONG- STORED APPLES IN THE ATMOSPHERE WITH DIFFERENT OXYGEN CONTENT. *Chemické listy*, 2011, roč. 121, s. 1004-1005. ISSN: 0009-2770.

PAŘILOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; JAŠKOVÁ, M.; DUROŇOVÁ, K.; LICHNOVÁ, A. ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN SOME BABY BEVERAGES. *11th International Nutrition and Diagnostic Conference*. Brno: RADANAL Ltd., Pardubice, 2011. s. 109. ISBN: 978-80-7395-378-2.

MATOUŠEK, R.; JANDA, O.; DUROŇOVÁ, K. DIRECT QUANTITATIVE EVALUATION OF YEAST USING IMAGE PROCESSING. *34th Annual Conference on Yeasts, Book of abstracts*, 2010, roč. 2010, č. 38, s. 106-106. ISSN: 1336-4839.

DUROŇOVÁ, K.; ČERTÍK, M.; MÁROVÁ, I.; FERDOVÁ, J.; MATĚJKOVÁ, M. MONITORING OF LIPID AND FATTY ACID CHANGES IN APPLE SURFACE LAYERS DURING LONG- TERM STORAGE. *16th International Symposium on Separation Science, Recent Advancements in Chromatography and Capillary Electromigration Techniques*. Rome: Interdivisional Group of Separation Science of the Italian Chemical Society, 2010. s. 161.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; ŠTINDLOVÁ, J.; MÁROVÁ, I. ANTIOXIDANT STATUS IN SEVERAL LOCAL FRUITS DURING STORAGE. *XL. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin. Sborník příspěvků XXXVII. Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin*. Praha: Výzkumný ústav potravinářský Praha, 2010. s. 44-45. ISSN: 1802-1433.

DUROŇOVÁ, K.; LICHNOVÁ, A.; PAŘILOVÁ, K.; MÁROVÁ, I. STUDY OF ANTIMUTAGENIC EFFECT OF "CZECH BEER" USING YEAST TEST SYSTEM SACCHAROMYCES CEREVISIAE D7. *35th Annual Conference on Yeasts, Book of abstracts*, 2010, s. 91. ISSN: 1336-4839.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; MATĚJKOVÁ, M.; MÁROVÁ, I. STUDY OF CHANGES IN METABOLIC ACTIVITY OF APPLES STORED IN ULO AND REGULAR ATMOSPHERE. *Sborník abstraktů*. Purkyňova 464/118, 61200 Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2010. s. 44-44. ISBN: 978-80-214-4212-2.



PAŘILOVÁ, K.; BENEŠOVÁ, P.; DUROŇOVÁ, K.; MĚŘÍNSKÁ, R.; MÁROVÁ, I. ANALYSIS OF ACTIVE COMPOUNDS IN SELECTED TYPES OF BEER. *Sborník příspěvků XL. Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin. Sborník příspěvků XXXVII. Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin.* Praha: 2010. s. 44-45. ISSN: 1802- 1433.

PAŘILOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; DUROŇOVÁ, K.; MĚŘÍNSKÁ, R.; BENEŠOVÁ, P. ANALYSIS OF HEALTHY BEERY COMPONENTS IN SEVERAL KINDS OF BEER. In *BOOK OF ABSTRACTS Interdivisional Group of Separation Science of the Italian Chemical Society.* Rome: 2010. s. 87.

DVOŘÁKOVÁ, T.; LICHNOVÁ, A.; DUROŇOVÁ, K.; SKUTEK, M.; OBRUČA, S.; MÁROVÁ, I. ANTIOXIDANT AND ANTIMUTAGENIC PROPERTIES OF SEVERAL KINDS OF HONEY. *Vitamins, Nutrition and Diagnostics 2009.* Brno: 2009. s. 166-167. ISBN: 978-80-7318-809-2.

DUROŇOVÁ, K.; FERDOVÁ, J.; MATĚJKOVÁ, M.; HALIENOVÁ, A.; MÁROVÁ, I. CHANGES OF ANTIOXIDANT STATUS IN APPLE FRUITS DURING LONG- TERM STORAGE. *XIII. Setkání biochemiků a molekulárních biologů.* Brno: Masarykova univerzita, 2009. s. 57. ISBN: 978-80-210-4830-0.

DUROŇOVÁ, K.; LICHNOVÁ, A.; MÁROVÁ, I. USE OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE D7 TEST SYSTEM TO STUDY OF ANTIMUTAGENICITY/ GENOTOXICITY OF SEVERAL KINDS OF HONEY. *34th Annual Conference on Yeasts, Book of abstracts, 2009, roč. 2009, č. 37, s. 100.* ISSN: 1336-4839.

DUROŇOVÁ, K.; PAŘILOVÁ, K.; HALIENOVÁ, A.; FERDOVÁ, J.; KOČÍ, R.; GOLIÁŠ, J.; MÁROVÁ, I. INFLUENCE OF LONG- TERM STORAGE CONDITIONS ON ANTIOXIDANT AND OTHER ACTIVE COMPONENT CONTENT IN SEVERAL SORTS OF APPLES. *4th Meeting on Chemistry and Life.* Brno: CSCH, 2008. s. 2. 44. ISBN: 978-80-214-3715-9.

DUROŇOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; KOČÍ, R.; TRČKOVÁ, M.; MÜLLER, L. ISOLATION AND ANALYSIS OF INDIVIDUAL PHENOLICS FROM SEVERAL PLANT FOODS. *NEW ACHIEVEMENTS IN CHROMATOGRAPHY.* 2008. s. 75-75. ISBN: 978-953-6894-36-9.

DUROŇOVÁ, K.; MÁROVÁ, I.; MACUCHOVÁ, S.; MIKULÍKOVÁ, R. USE OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE D7 TEST SYSTEM TO STUDY OF ANTIMUTAGENICITY/ GENOTOXICITY OF MALT AND BEER. *33th Annual Conference on Yeasts.* 2008. s. 50-51.

MACUCHOVÁ, S.; MÁROVÁ, I.; DUROŇOVÁ, K.; MIKULCOVÁ, A.; MIKULÍKOVÁ, R.; HAVLOVÁ, P. ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BARLEY, MALT AND BEER. *Book of abstracts.* Brno: 2007. s. 66-67. ISBN: 978-80-210-4234-6.

MÁROVÁ, I.; DUROŇOVÁ, K.; OBRUČA, S.; ONDRUŠKA, V.; MIKULCOVÁ, A.; KUČERÍK, J.; DAVID, J.; VOJTOVÁ, L.: ANALYSIS OF GENOTOXICITY OF BIOCOMPOSITE DEGRADATION PRODUCTS USING SACCHAROMYCES CEREVISIAE D7 TEST SYSTEM. *Book of abstracts.* Slovakia: SAS, 2007. s. 57-57. ISBN: 0-01-336483-9.