

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

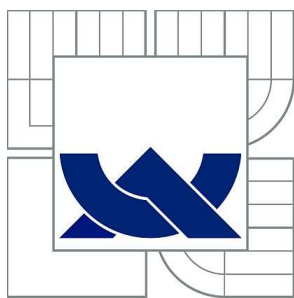
STANOVENÍ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ V PLODECH
NOVÝCH ODRŮD RYBÍZŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. BLANKA PELIKÁNOVÁ

BRNO 2014



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ V PLODECH NOVÝCH ODRŮD RYBÍZŮ

DETERMINATION OF SELECTED CHEMICAL PARAMETERS OF FRUIT OF NEW CURRANT
VARIETIES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

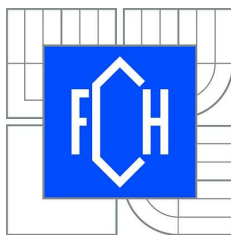
Bc. BLANKA PELIKÁNOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. MILENA VESPALCOVÁ, Ph.D.

BRNO 2014



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0833/2013	Akademický rok: 2013/2014
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Blanka Pelikánová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. František Paprštejn, CSc.	

Název diplomové práce:

Stanovení vybraných chemických parametrů v plodech nových odrůd rybízů

Zadání diplomové práce:

Teoretická část:

- 1) Stručná botanická charakteristika rodu Ribes, využití rybízu v potravinářství, biologicky aktivní látky rybízu
- 2) Fenolické látky, jejich vlastnosti a význam, metody stanovení
- 3) Vitamin C, jeho vlastnosti a význam, metody stanovení
- 4) Celková antioxidační aktivita, metody jejího stanovení

Experimentální část:

- 1) Ověření vybraných metod stanovení jednotlivých chemických parametrů na standardech
- 2) Stanovení vybraných chemických parametrů ve vzorcích studovaných odrůd rybízů
- 3) Zpracování získaných experimentálních dat a interpretace výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 9.5.2014

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

Bc. Blanka Pelikánová
Student(ka)

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2014

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Předkládaná diplomová práce se zabývá stanovením vybraných chemických parametrů v plodech nových odrůd rybízů.

Teoretická část je věnována charakteristice rybízu, biologicky aktivním látkám v jeho plodech a také využití rybízu v potravinářství. Dále se teoretická část věnuje hlavním zkoumaným chemickým parametrům – polyfenolům, antokyanům, vitaminu C a antioxidační aktivitě.

V praktické části byly stanoveny vybrané chemické parametry v šesti bílých, dvanácti červených a třinácti černých odrůdách rybízů. Antokyany a polyfenoly byly stanoveny spektrofotometricky. Obsah kyseliny askorbové ve vybraných odrůdách rybízu byl stanoven metodou HPLC. Pro stanovení antioxidační aktivity byla zvolena metoda volného radikálu DPPH.

ABSTRACT

Presented diploma thesis is dedicated to the determination of selected chemical parameters of fruits of new currant varieties.

The theoretical part is focused on the characteristics of currant, the biologically active substances of its fruits and also the utilization of currant in the food industry. Further part of the theory deals with the main chemical parameters which were examined: polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid and antioxidant activity.

In the practical part there were determined selected chemical parameters in six white, twelve red and thirteen black varieties of currant. Anthocyanins and polyphenols have been determined spectrophotometrically. The content of ascorbic acid in selected varieties of currant was determined by HPLC. As a technique for the determination of the antioxidant activity was selected the method of free radical DPPH.

KLÍČOVÁ SLOVA

Rybíz, *Ribes L.*, polyfenoly, antokyany, vitamin C, antioxidační aktivita, spektrofotometrie, HPLC, DPPH

KEYWORDS

Currant, *Ribes L.*, polyphenols, anthocyanins, vitamin C, antioxidant activity, spectrophotometry, HPLC, DPPH

PELIKÁNOVÁ, B. *Stanovení vybraných chemických parametrů v plodech nových odrůd rybízů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 147. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí své diplomové práce RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D. za odborné vedení, konzultace, potřebné rady, cenné připomínky při řešení práce a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Jitce Cetkovské za pomoc při analýze vitamínu C a Zuzaně Olšovcové za rady a pomoc. A také bych chtěla poděkovat Kateřině Javorské a Veronice Hamalové, díky kterým byla experimentální část práce nejen nepřetržitá a tvrdá práce v laboratoři, ale také zábava.

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Rybíz (<i>Ribes</i>).....	8
2.1.1	Taxonomie.....	8
2.1.2	Historie pěstování rybízu.....	8
2.1.3	Charakteristika rybízu.....	9
2.1.4	Druhy rybízu.....	10
2.1.5	Choroby a škůdci.....	11
2.1.6	Biologicky aktivní látky rybízu.....	13
2.1.7	Využití rybízu v potravinářství.....	18
2.1.8	Výrobky z rybízu.....	18
2.2	Fenolické látky.....	20
2.2.1	Polyfenoly.....	20
2.2.2	Metody pro stanovení fenolických látek.....	27
2.2.3	Metody pro stanovení antokyanů.....	28
2.3	Vitamin C.....	32
2.3.1	Struktura.....	32
2.3.2	Fyziologie a výživa.....	33
2.3.3	Metody pro stanovení vitamínu C v potravinách.....	35
2.4	Celková antioxidační aktivita.....	39
2.4.1	Antioxidanty.....	39
2.4.2	Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity.....	42
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	46
3.1	Použité vzorky.....	46
3.2	Laboratorní vybavení.....	46
3.3	Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin – Ciocalteuova činidla.....	48
3.3.1	Statistické zpracování.....	50
3.4	Stanovení antokyanů v plodech rybízu pH diferenciální metodou.....	51
3.5	Stanovení vitamínu C prostřednictvím HPLC.....	53
3.6	Stanovení antioxidační kapacity v plodech rybízu metodou DPPH.....	55
4	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	57
4.1	Stanovení polyfenolů.....	57

4.1.1	Stanovení polyfenolů u odrůd bílých rybízů.....	57
4.1.2	Stanovení polyfenolů u odrůd červených rybízů	63
4.1.3	Stanovení polyfenolů u odrůd černých rybízů	70
4.2	Stanovení antokyanů.....	79
4.2.1	Stanovení antokyanů u odrůd bílých rybízů	79
4.2.2	Stanovení antokyanů u odrůd červených rybízů.....	86
4.2.3	Stanovení antokyanů u odrůd černých rybízů.....	95
4.3	Zralost plodů	103
4.4	Stanovení vitamínu C.....	112
4.4.1	Stanovení vitamínu C u odrůd bílých rybízů	112
4.5	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH	118
4.5.1	Stanovení antioxidační aktivity u odrůd bílých rybízů.....	118
4.5.2	Stanovení antioxidační aktivity u odrůd červených rybízů	119
4.5.3	Stanovení antioxidační aktivity u odrůd černých rybízů	121
5	ZÁVĚR.....	123
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	126
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	133
8	SEZNAM PŘÍLOH	135
9	PŘÍLOHY	137

1 ÚVOD

Tato diplomová práce je součástí projektu QI111A141 Ministerstva zemědělství. Název projektu je Výzkum nových technologií v pěstování angreštu a rybízu se zaměřením na kvalitu a využití plodů. Cílem práce je stanovení vitamínu C, antokyanových barviv, polyfenolů a antioxidační aktivity v odrůdách bílého, červeného a černého rybízu. Odrůdy jsou z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka. Jednotlivé odrůdy byly sbírány ze 2 tvarových modifikací KEŘ a V. Dalším úkolem bylo porovnání daných nutričních hodnot mezi bobulemi KEŘ a V a jejich srovnání mezi rybízem z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka.

Rybíz je velice nenáročnou rostlinou na pěstování, daří se mu i ve vyšších nadmořských výškách, vlhčích i suchých půdách, nižších teplotách (6 – 9 °C). Rybíz je bohatým zdrojem nutričně významných látek. Obsahuje velké množství kyselin, cukrů, pektinů, barevných a aromatických složek, vitamínu A a vitamínu C, který je poměrně stabilní i po tepelném zpracování. Rybíz urychluje trávení a díky nízké kalorické hodnotě zabraňuje ukládání tuků. Využívá se v potravinářském průmyslu na výrobu sirupů, džemů, rosolů, kompotů, vín a jiných alkoholických nápojů. V léčitelství se šťáva z plodů přidává do léků proti kašli, chrapotu a léků vyvolávajících pocení. Je vhodný i pro léčení dny, zlepšuje pružnost cév a zvyšuje odolnost organismu proti prochladnutí. Listy rybízu se také osvědčily v léčitelství. Jsou močopudným prostředkem, vyvolávají pocení a působí proti průjmům, proto se přidávají do čajů, podporujících trávení. Listy i plody podporují látkovou výměnu. Své využití má rybíz i v kosmetickém průmyslu jako přísada do šamponů, krémů, balzámů, mýdel a solí do koupele.

V roce 2013 se v České republice sklídilo 2032 tun čerstvého bílého a červeného rybízu a 605 tun černého rybízu. Rybíz je pěstován hlavně u drobných pěstitelů a na soukromých zahrádkách. Nejvyšší výnos byl za rok 2013 zaznamenán ve východních Čechách, kde se sklídilo 565 tun bílého a červeného rybízu a 240 tun černého rybízu. Velký podíl plodů se vyváží do zahraničí (hlavně Německo a Itálie), kde se zpracovává převážně do tekutého a polotekutého stavu. V České republice se takto zpracovává jen zhruba 20 % plodů čerstvého rybízu, dává se přednost spíše mraženým a konzervovaným plodům. Roční spotřeba čerstvého rybízu na osobu činí zhruba 1,2 kg. Největšími zahraničními producenty rybízu jsou Francie a Nizozemsko.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 RYBÍZ (*RIBES*)

2.1.1 Taxonomie

Rybíz (revíz, meruzalka) má okolo 120 odrůd. Je rozšířen v mírně tropickém a subtropickém pásmu (od Středozemního moře až k Norsku). Rybíz je ovocný keř, který patří do řádu lomikamenotvaré (řád vyšších dvouděložných rostlin). Rybíz je jediný rod čeledi meruzalkovité.

Tabulka 1: Taxonomie rybízu [1]

Říše	rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Nadoddělení	Semenné rostliny (<i>Spermatophyta</i>)
Oddělení	Krytosemenné rostliny (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída	Dvouděložné vyšší rostliny (<i>Rosopsida</i>)
Podtřída	<i>Rosidae</i>
Řád	Lomikamenotvaré (<i>Saxifragales</i>)
Čeď	Meruzalkovité (<i>Grossulariaceae</i>)
Rod	Rybíz (<i>Ribes L.</i>)
Druh	Rybíz černý (<i>Ribes nigrum L.</i>), Rybíz červený (<i>Ribes rubrum L.</i>), rybíz bílý (<i>Ribes glandulosum L.</i>)

2.1.2 Historie pěstování rybízu

První zmínky o rybízu pochází již ze 14. století, kdy se začal v západní Evropě černý rybíz pěstovat pro léčebné účely. V 15. století se začal pěstovat v Holandsku, Dánsku a Německu jako zahradní ovoce. V 16. století se pěstování rybízu rozšířilo do dalších zemí a začal se vysazovat ve velkém měřítku. Největší pozornost byla věnována šlechtění černého rybízu oproti rybízu červenému a bílému. Od 19. století se začal rybíz využívat k výrobě vína.

O začátcích pěstování rybízu u nás nejsou písemné zmínky, ale pravděpodobně se k nám dostal v 16. století z Německa. Vysazoval se u nás především v klášterních a zámeckých zahradách. Velký rozmach výsadby a pěstování byl zaznamenán v 19. století. V současné době se produkce rybízu snižuje a velká část zejména černého rybízu je vyvážena do zahraničí [2, 3, 4, 5].

2.1.3 Charakteristika rybízu

Rybíz vytváří víceleté středně velké keře bez trnů. Na zahrádkách se pěstuje také jako stromek.

Kořeny rostliny jsou silné, jemně rozvětvené a nejsou příliš hluboké. Rozvíjí se v hloubce 5 – 20 cm.

Listy mají dlouhé řapíky, dlaňovitě laločnatý a zubatý tvar. Na zimu opadají.

Květy jsou žlutozelené až načervenalé a u černého rybízu až nafialovělé. Jednotlivé květy mají talířovitý nebo miskovitý tvar a mají různě husté a dlouhé hrozny.

Rybíz začíná kvést zhruba v polovině dubna. Délka květu je závislá na teplotních podmínkách (8 – 20 dní). Samotné bobule dozrávají v polovině června a vydrží do poloviny srpna.

Červenému a bílému rybízu se nejlépe daří ve vlhčích hlinitých, hlinitopísečných a písčitohlinitých půdách (optimální pH 5,5 - 6,5) a teplotě 6 – 8 °C. Černý rybíz je méně náročný na přísun vody. Daří se mu i v lehčích, výhřevných a humózních půdách s neutrálním až slabě alkalickým pH. Optimální teplota pro černý rybíz je 7 – 9 °C.

U některých druhů rybízu probíhá samoopylení (autogamie), tedy přenos vlastního pylu z prašníku na bliznu. Ostatní druhy jsou opylovány hmyzem (entomofilní opylení). Opylení cizím pylem je nutné. Čím je opylení lepší, tím je větší úroda. Bylo prokázáno, že černý rybíz produkuje více nektaru než rybíz červený a bílý.

Rybíz se rozmnožuje dvěma způsoby – generativně nebo vegetativně. Generativní rozmnožování je rozmnožování rostlin semenem. Vegetativně se rybíz rozmnožuje šesti způsoby – zdřevnatělými řízkami, polodřevnatými řízkami s listy za zelena, křížením, nakopčením, dělením keřů nebo roubováním na meruzalku [2, 3, 4, 6].

2.1.4 Druhy rybízu

2.1.4.1 Rybíz bílý

Nejznámějšími odrůdami bílého rybízu jsou Blanka, Jantar, Olin, Orion, Primus, Viktoria.

Bílý rybíz vznikl mutací a křížením červených rybízů. Barva bobulí je bílá, krémová až žlutá, někdy až s nádechem do růžova. Pro Jantar, Orion a Primus je typická jejich sladkokyselá chuť. Ostatní odrůdy jsou oproti nim kyselější. Obecně platí, že bílý rybíz je méně kyselý než červený. Bobule bílého rybízu jsou méně šťavnaté, mají velká semena, ale to je dáno tím, že velikost bobulí je oproti červenému a černému rybízu menší. Bílý rybíz se zpracovává s ostatním drobným ovocem (angrešt, maliny, černý rybíz, červený rybíz) na šťávy, marmelády, rosoly atd. Z odrůdy Jantar se připravuje bílé víno, které je chuťově srovnatelné s vínem z pravých hroznů. V odrůdě Jantar se nachází nejvyšší množství vitamínu C a v odrůdách Blanka a Orion je obsah vitamínu C střední [4, 7].

2.1.4.2 Rybíz červený

Mezi odrůdy červeného rybízu patří Detvan, Jesan, Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, Losan, NŠLS 11/6, Ronda, Rovada, Rubigo, Stansa, Tatran.

Červený rybíz má osvěžující nakyslou chuť. Používá se pro výrobu marmelády, džemu, vína a kompotů. Plody obsahují velké množství vlákniny a vitamínu C, vitaminy skupiny B, minerální látky (Fe, Mg, Zn) [4, 7].

2.1.4.3 Rybíz černý

Odrůdy černého rybízu jsou Ben Conan, Ben Gairn, Ben Hope, Ben Lomond, Ceres, Černý Neguš, Démon, Fokus, Lota, Moravia, Ometa, Ruben, Triton.

Černý rybíz je bohatým zdrojem vitamínu C a P, na obsah flavonoidů ho převyšují pouze ostružiny, maliny, lékořice, šípky a rakytník. Řadí se mezi léčivé látky a antioxidanty. Konzumace šťávy z černého rybízu slouží jako prevence před demencí, stárnutím orgánů, revmatickými onemocněními a také zabraňuje vzniku ledvinových kamenů [4, 7].

2.1.5 Choroby a škůdci

Tak jako každá rostlina, tak i rybíz může být ohrožen napadením virovými chorobami nebo škůdci. U takto napadených jedinců se poté snižuje úrodnost až o 90 %.

2.1.5.1 Virové choroby

Mozaika rybízu

Tato choroba je přenášena mšicemi a roubováním. Na listech se projevuje žlutými skvrnami, nebo žilkovanou kresbou. Úroda takto napadených keřů je nižší. Choroba napadá zejména černé a červené odrůdy rybízu [2, 3].

Zvrat černého rybízu

Toto virové onemocnění je rozšířeno zejména v Evropě a jsou jím napadeny odrůdy černého rybízu. Projevuje se až v následujícím roce po infekci deformací na listech a květenství. Listy jsou menšího nesouměrného vzrůstu s výraznějším zoubkováním na okrajích. Květenství jsou menší, mají nesouměrný tvar, nedochází k jejich opylení. Květy proto rychleji zaschnou a opadají. V pokročilém stádiu nákazy mohou být keře úplně neplodné. Choroba se přenáší roubováním, semeny a pylem [2, 4, 5].

2.1.5.2 Škůdci rybízu

Antraknóza rybízu

Jde o houbovou chorobu, kterou způsobuje pakustřebka rybízová (*Drepanopeziza ribis*). Napadá hlavně listy červeného a bílého rybízu. Na listech jsou pozorovatelné žlutozelené skvrny (1 – 3 mm) se světlezeleným okrajem. Skvrny postupně přibývají, listy hnědnou, až dojde k úplnému odpadnutí listu. Pokud dojde k opadu listů ještě před sklizní, je keř oslaben, bobule nedozrají a rychleji podléhá namrznutí [2, 4, 5].

Rez vejmutovková

Tato choroba napadá především černý rybíz, ve výjimečných případech i rybíz červený. Projevuje se žlutými puchýřky na spodní straně listu, ve kterých se vytvoří tzv. letní výtrusy. Puchýřky na listech zhnědnou a začnou z nich vyrůstat rezavé chloupky (2 mm) tzv. zimní výtrusy. Rez vejmutovková způsobuje hnědnutí listů a jejich předčasný opad. Rez vejmutovková parazituje také na borovici vejmutovce [2, 3].

Americké padlí angreštové

Jde o houbovitou chorobu napadající černý rybíz. Projevuje se bílým povlakem na letorostech, které později zhnědnou. Letorosty postupně zakrňují a listy jsou deformované, kroucí se a předčasně opadají. Stejným způsobem jsou napadeny i plody [2, 5].

Plíseň šedá

Většinou se objevuje na namrzlých oslabených keřích a stromech rybízu. Prorůstá hluboko do dřeva a postupně dochází k usychání celé rostliny. Plíseň šedá může výjimečně napadat i listy. Na listech se vytvoří hnědé skvrny, které se pokrývají šedožlutým práškovitým povlakem [4].

Choroš rybízový

Jde o houbovité onemocnění nazývané také jako ohňovec. Vyskytuje se na rybízu, ale také na velkém množství jiných dřevin. Na samotném dřevu se vytvoří hnědé skvrny, na kterých se postupně vytvoří žlutohnědé plodnice. Takto napadené rostliny postupně usychají a odumírají [4].

Mšice rybízová

Jde o velmi škodlivou mšici, které napadá červený rybíz. Na listech se projevuje nápadným vyklenutím a červeně zbarvenými puchýřky. Mšice nakladou černá vajíčka, která přezimují a na jaře se vylíhnou. Vylíhnuté mšice se přesunou na pupeny a sají z nich [2, 5].

Sviluška chmelová

Sviluška chmelová neboli červený pavouček, je parazitem všech druhů rybízu. Listy napadené sviluškou nejprve šednou, poté rezavějí a opadávají. Keř roste pomaleji a v zimě dochází k jeho snadnějšímu namrznutí. Na jaře kladou samičky na listy vajíčka. Na spodní straně listů si svilušky tvoří jemnou pavučinku, která zjednodušuje pohyb a zachycuje prach [2].

Mšice lociková a mšice meruzalková

Jde o mšice vyskytující se na černém a červeném rybízu a to jak na listech, tak i na výhoncích. Tyto mšice nezpůsobují na rostlinách žádné závažnější změny [3].

Pilatka rybízová

Jde o vosičku, jejíž housenky mají světle zelenou až modrozelenou barvu s černými bradavičkami, jejich délka je 4,5 – 5,5 mm. Pilatky jsou schopny za velmi krátkou dobu ohlodat celou rostlinku rybízu [2, 5].

Píd'alka angreštová

Housenky tohoto motýla okusují listy i květenství. Vylíhnutí motýlci kladou vajíčka na spodní stranu listu a housenky vykousávají dírky na spodní straně listů [5].

Nesytky rybízová

Nesytky rybízová je drobný motýlek, jehož housenky vykousávají vnitřek větviček a tvoří chodbičky, na jejichž dolní části je otvor, kterým housenka vytlačuje trus. Napadení se projevuje, když rybíz dozrává. Housenky nesytka mají bílou barvu a hnědou hlavu. Nesytka parazituje hlavně na zanedbaných černých a červených rybízech. Způsobí jejich zaschnutí a opadání větviček [2].

2.1.6 Biologicky aktivní látky rybízu

Rybíz obsahuje velké množství vitaminů (vitamin C, vitamin A) a esenciálních látek. Množství vitaminu C v jedné bobulce rybízu je 2 mg, tedy 40 bobulek rybízu denně pokryje denní doporučenou dávku vitaminu C. Plody mají nízkou kalorickou hodnotu (nízký obsah glycidů, tuků a dusíkatých látek), nízký obsah sacharosy, vysoký obsah vody, glukosy a fruktosy. Dále obsahují pektin, celulózu, škrob. Z organických kyselin jsou v nejvyšších množstvích zastoupeny kyselina citronová, kyselina jablečná a kyselina vinná.

Černý rybíz je velmi bohatý na minerální a organické látky, které mají bakteriocidní účinky. Je velmi bohatý na vitamin C a vitamin P. Obsah tříslovin u rybízu se pohybuje okolo 0,42 – 0,80 % [3, 4].

Tabulka 2: Chemické složení rybízu přepočtené na 100 g čerstvého ovoce [4]

	Rybíz		
	bílý	červený	černý
Sušiny (%)	-	17,6	15,9 – 23,4
Nerozpustné látky (%)	-	6,3	6,4
Cukry (%)	4,0 – 7,0	2,5 – 4,5	5,3 – 9,8
– Glukosa (%)	1,6 – 2,8	1,0 – 1,5	3,3
– Fruktosa (%)	2,4 – 2,8	1,5 – 3	3,9
– Sacharosa (%)	0,0 – 0,8	-	1,15 – 1,3
Vláknina (%)	6,3	4,33	5,40
Pektin (%)	1,08	0,24 – 1,47	0,11 – 1,6
Tuky (%)	-	1,73	0,50 – 0,92
Bílkoviny (%)	-	1,0 – 1,97	0,9 – 1,49
Vitamin C (mg %)	16 – 60	15 – 60	50 – 300
Obsah vitaminů (mg %)	310 – 400	220 – 450	1000 – 2138
Provitamin A (mg %)	-	0,012 – 0,150	0,072 – 0,900
B₁ (mg %)	-	0 – 0,1	0,06 – 0,22
B₂ (mg %)	-	0 – 0,02	0,02 – 0,07
PP (mg %)	-	-	0,30
Kyselina citronová (%)	-	97	-
Kyselina vinná (%)	-	0 – 2	-
Třísloviny	-	0,083 – 0,119	0,332 – 0,420
Minerální látky: K₂O (mg %)	-	47,7	44,3
– Na₂O (mg %)	-	3,7	5,4
– CaO (mg %)	-	6,3	9,1
– MgO (mg %)	-	3,1	4,2
– F₂O₃ (mg %)	-	1,4	0,7
– P₂O₅ (mg %)	-	15,9	18,6
– SO₃ (mg %)	-	7,2	4,1

Sacharidy

Sacharidy neboli cukry jsou obsaženy ve všech rostlinných a živočišných buňkách. Rozdělují se do dvou skupin aldosa (polyhydroxyaldehydy) a ketosa

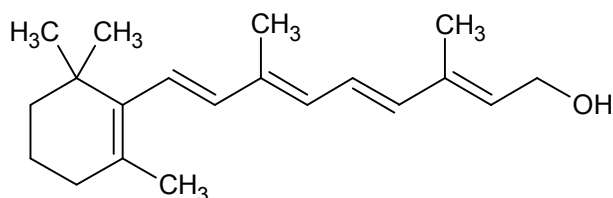
(polyhydroxyketony). Mají v molekule minimálně tři alifaticky vázané uhlíkové atomy. Podle počtu uhlíků v molekule se sacharidy rozdělují na triosy, tetrosy, pentosy, hexosy atd. Podle toho kolik se na molekulu váže cukerných jednotek, se sacharidy dále dělí na monosacharidy, tvořené jednou cukernou jednotkou, oligosacharidy tvořené dvěma až deseti cukernými jednotkami a polysacharidy (glykany) tvořené více jak deseti cukernými jednotkami.

V buňkách autotrofních organismů vznikají sacharidy fotosyntézou. Rostliny je využívají jako vlastní zdroj energie. Heterotrofní organismy získávají sacharidy z autotrofních organismů nebo z nesacharidových substrátů (aminokyseliny, hydroxykyseliny, glycerol). V živočišných tkáních jsou sacharidy zastoupeny jen z několika procent, ale v rostlinných pletivech je jejich obsah 85 – 90 %. Sacharidy jsou zdrojem energie, základními stavebními jednotkami buněk, tkání a pletiv a chrání před vnějšími vlivy. Sacharidy jsou běžnou složkou téměř všech potravin. V ovoci obsah sacharidů během zrání kolísá, také záleží na druhu ovoce, teplotních podmínkách, stupni zralosti a způsobu zpracování [8, 11, 14].

Vitamin A

Vitamin A je řazen mezi vitaminy rozpustné v tucích. Existuje ve dvou formách vitamin A₁ (retinol) a vitamin A₂ (3 – dehydroretinol). Vitamin A i jeho provitaminy jsou po chemické stránce terpenoidy (izoprenoidy). Provitaminy A jsou tetraterpeny nebo tetraterpenoidy, obsahující 40 atomů uhlíku ve své molekule. Nejvýznamnějším provitaminem A je β – karoten, který se nachází jako barvivo ve žlutých, oranžových a červených plodech. V organismu působí jako antioxidant.

Doporučená denní dávka vitaminu A pro dospělého člověka je 0,8 – 1, 0 mg a pro dítě 0,4 – 0,6 mg. Kromě ovoce a zeleniny je velkým zdrojem vitaminu A rybí tuk, játra, plnotučné mléčné výrobky, ryby a rybí játra, vaječný žloutek, apod. Dostatečný přísun vitaminu A umožňuje vidění za šera a rozeznávání barev, zajišťuje správný růst kostí a správnou krevtvorbu, snižuje výskyt nádorových onemocnění, udržuje buňky zdravé a mladé. U dětí je přísun vitamínu A důležitý pro správný vývoj zubů a kostí. Nedostatek způsobuje šeroslepost, ztrátu chuti, zpomalení nebo zastavení růstu, oslabení imunity. Naopak nadbytek vitaminu A způsobuje otravu nebo osteoporózu [9, 10, 11].



Struktura vitaminu A

Vláknina

Vláknina je organická složka potravy, která je nestravitelná. Rozděluje se na nerozpustnou a rozpustnou. Vláknina nerozpustná ve vodě zahrnuje – celulosu, lignin, nerozpustné hemicelulosity (heteroglukany, xyloglukany, β – glukany). Nerozpustná vláknina je obsažena například v luštěninách, ovoci (banán, jablko), bobulích, žitu, ovsu, ječmenu, brokolici, mrkvi, apod. Mírně zvyšuje obsah střev, zkracuje dobu, po kterou potrava zůstává ve střevech a podporuje peristaltické pohyby střev. Vláknina rozpustná ve vodě zahrnuje – polysyntetické cukerné deriváty (laktulosa), heteromannany (galaktomannany a glukomannany), rozpustné hemicelulosity (arabinoxylany, 3 – glukany), pektiny, heterofruktany (inuliny, levany, glukofruktany). Vyskytuje se například ve slupkách brambor, slupce rajčete, obilných slupkách, ořechách, semenech, fazolích, kvěťáku, cuketě, celeru, apod. Rozpustná vláknina udržuje obsah střev v pohybu, adsorbuje vodu, změkčuje stolicí a působí jako prevence proti zácpě. Poměr nerozpustné a rozpustné vlákniny v potravě je 3 : 1. Doporučená denní dávka pro dospělého člověka je 30 g, u dětí se určuje podle věku dítěte 5 g + věk dítěte [11].

Třísloviny

Třísloviny neboli taniny jsou fenolové sloučeniny, které sráží bílkoviny a vytváří komplexy s celulosou, škrobem, alkaloidy a některými minerálními látkami. Třísloviny se dělí do 3 skupin – hydrolyzovatelné, kondenzované a smíšené. Hydrolyzovatelné taniny jsou polymery esterů kyseliny gallové (polygalloylestery). Kondenzované taniny jsou tvořeny kondenzací flavanolových jednotek. Smíšené taniny tvořeny estery kyseliny gallové s katechinem mají vlastnosti hydrolyzovatelných a i kondenzovaných tříslovin.

Třísloviny mají často trpkou, svíravou nebo hořkou chuť. Nachází se v jahodách, borůvkách, brusinkách, granátovém jablku, vlašském ořechu, červeném vínu, čajích, kávě, kakau, apod. Třísloviny mají detoxikační účinek, zastavují průjem, mají velmi

dobrý vliv na trávicí trakt, zastavují průjem, mají protizánětlivý a antibakteriální účinek [12].

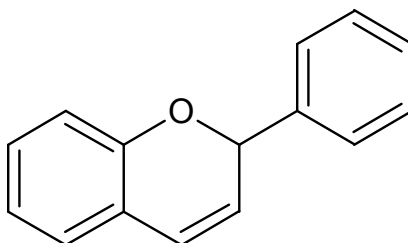
Pektin

Pektin je polysacharid složený z lineárního řetězce 25 – 100 jednotek D – galakturonové kyseliny s $\alpha - (1 \rightarrow 4)$. Pektiny jsou součástí pletiv vyšších rostlin, stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Jsou rozpustné ve vodě a mají velký význam při zrání ovoce, stavbu buněčné stěny, růst a vývoj rostlin. Měknutí plodů je způsobeno přeměnou nerozpustných pektinů na pektiny rozpustné. Pektiny se vyskytují v ovoci (jablko, slíva, rybíz, angrešt, třešně, višně, borůvky, bezinky) a zelenině (mrkev, rajče, cukrová řepa). V průmyslu se pektiny využívají jako želírovací prostředky a zahušřovadla [8, 10].

Flavonoidy

Flavonoidy jsou fenolické látky, které mají v rostlinách funkci ochrany před UV zářením a díky velmi hořké chuti i chrání rostlinu před býložravci. Molekula flavonoidů je tvořena dvěma benzenovými kruhy, které jsou spojeny heterocyklickým pyranem. Všechny tři kruhy bývají většinou substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jejich deriváty se liší stupněm substituce a oxidace.

Flavonoidy jsou rostlinné pigmenty udávající barvu plodům, květům a listům. Mají protialergické, protizánětlivé a analgetické účinky. Regenerují a zpevňují cévy a mají silný antioxidační účinek, používají se na léčbu hemeroidů, bércových vředů a křečových žil, odstraňují tuky z krve, zabraňují krvácení z dásní a nosu. Zvýšený příjem flavonoidů je doporučován ženám užívajícím antikoncepci. Flavonoidy jsou obsaženy v ovoci, zelenině (rajčata, paprika, salát, brokolice) a ve velkém množství ve víně. Velké množství v bílé části slupek citrusových plodů [10, 12, 13].



Struktura flavanu

2.1.7 Využití rybízu v potravinářství

Rybíz se nejčastěji konzumuje čerstvý, ale také mražený nebo konzervovaný. Při tepelném zpracování rybízu je zachována stabilita vitamínu C, proto je v potravinářství velmi využíván. Červený rybíz se nejčastěji používá díky velkému obsahu tříslovin na výrobu kompotů, moštů, sirupů, vín, rosolů, marmelád a džemů. Černý rybíz je zpracováván na kompoty a džemy, také se používá jako přírodní barvivo nebo jako přísada ke zvýšení rosolování. Bílý rybíz se kvůli svému zbarvení často kombinuje s jiným ovocem a používá se na výrobu kompotů, v zahraničí se přidává do dětské výživy, protože není tak kyselý jako rybíz černý a červený. Je také velmi vhodný pro výrobu vín, tím je proslulé hlavně Finsko. Sušený rybíz se používá na výrobu čajů. Je ale nutné, aby plody, které se používají v potravinářském průmyslu, byly v konzumní zralosti, nepoškozené, čisté a nenapadené nějakou chorobou nebo živočišným škůdcem [2, 4].

2.1.8 Výrobky z rybízu

Džem

Na českém trhu je dostupné velké množství džemů z černého nebo červeného rybízu. Z českých firem vyrábí džem z rybízu společnost Hamé. Hlavní složkou tohoto džemu je jablko obohacené o červený rybíz. Z Německa jsou v České republice rozšířeny džemy z černého rybízu od společnosti Schwartau a nebo K – classic Light, u kterého výrobce uvádí, že obsahuje 55 % čerstvé ovocné šťávy a o 50 % méně cukru než ostatní džemy. St.Delfour džem z černého rybízu je vyráběn ve Francii a je vhodný i pro diabetiky, neobsahuje konzervační látky, umělá aromata a sladidla. Hlavní přísadou je koncentrovaná hroznová šťáva a nejméně 50 % černého rybízu. Světově nejrozšířenější výrobce džemů Danish choice vyrábí džem z černého rybízu a uvádí, že ve 100 g výrobku je 40 g rybízu, dále obsahuje cukr, vodu, pektin jako želírující látku a kyselinu citronovou jako regulátor kyselosti. Další společností z Dánska vyrábějící džemy je Mühlebach černý rybíz obsahující nejméně 25 % ovoce.

Sirup

Z českých výrobců vyrábí sirupy z rybízu společnosti Relax, Jupí a Hello. Relax vyrábí sirup z černého a červeného rybízu, ve kterém výrobce garantuje 12% podílu přírodní ovocné šťávy a výrobek neobsahuje konzervanty ani umělá sladidla. Jupí má v nabídce sirup jak z černého rybízu, tak z červeného rybízu. Sirupy neobsahující umělá

aromata ani barviva. Hello černý rybíz je složen z cukru, glukózového sirupu, šťávy z koncentráту černého rybízu, pitné vody, kyseliny citronové jako regulátoru kyselosti a aromatu (černý rybíz). Velmi oblíbený v České republice je výrobek rakouské společnosti Yo z černého rybízu, který je také bez umělých konzervantů a barviv.

Víno

Výrobou rybízových vín se zabývají hlavně na Slovensku – Pereg – víno složené z 80 % černého rybízu a 20 % aronie (černý jeřáb), Villa Vino Rača – Ribessa černý rybíz a vinařství Vinkova, které taky vyrábí víno z černého rybízu a nazývá ho Černá perla. V České republice se vyrábí ne příliš známé Dovínské rybízové víno.

Džus

Na Českém trhu je velké množství džusů s příchutí černého rybízu, je to například Relax, který uvádí, že džus je vyroben ze 4 pečlivě vybraných odrůd černého rybízu a že obsahuje 25 % ovocné šťávy, Rio kombinace černého rybízu s jablkem a šípem, Pfanner, Rauch a Granini obsahující 25% podíl šťávy černého rybízu. Nebo Caprio obsahující 12 % ovocné šťávy ve 2 litrech džusu.

Čaj

Černý rybíz je součástí celé řady známých čajů, ale většinou je kombinován ještě s jinými druhy ovoce. Značka čajů Loyd nabízí kombinaci černého rybízu s brusinkou. Pickwick černý rybíz s třešní a vanilkou, Saga a Jemča nabízí čaj jen ze samotného černého rybízu. Velký výběr má společnost Apotheke, která má v nabídce rybízový čaj dětský, kombinaci černého rybízu s bezinkou nebo černý rybíz s rakytníkem. Velmi populární jsou pečené čaje. Nejznámější společností vyrábějící pečené čaje je NOTEA, která má v nabídce čaj s černého rybízu s kardamomem. Složení tohoto výrobku je voda, fruktosa, černý rybíz (minimálně 50 % ovocného podílu), jablko, jahoda, višň, kardamom.

Další výrobky z rybízu

Plzeňský Prazdroj uvedl na trh ovocné pivo Frisco s příchutí černého rybízu obsahující 4,5 % alkoholu. R. Jelínek vyrábí 42% pálenku z černého rybízu.

Společnost Bonavita produkuje müsli s černým rybízem a společnost FIT GO müsli tyčinku s černým rybízem v jogurtu nebo s červeným rybízem v jogurtu.

Často je černý rybíz přidáván i do různých cukrovinek například zmrzliny. Vanilková zmrzlina s krémem z černého rybízu (32 % ovoce) od společnosti Algida nebo zmrzlina s kousky černého rybízu (9 % ovoce) od Carte D'or. Dále pálivé bonbony s příchutí černého rybízu Anticol nebo Halls. Studentská pečeť vytvořila limitovanou edici čokolád se sušeným černým rybízem.

Černý rybíz se přidává i do jogurtů. Jogurt s příchutí rybízu nabízí například značky Activia, Selský jogurt, Olma (Florian).

2.2 FENOLICKÉ LÁTKY

Fenolické látky jsou sekundární metabolity nacházející se v rostlinách (kořen, list, plody). Bylo objeveno více jak 8000 fenolických struktur. Struktura je tvořena aromatickým jádrem a substituovanými hydroxylovými skupinami. Nejpočetnější skupinu tvoří polyfenoly [15, 16].

2.2.1 Polyfenoly

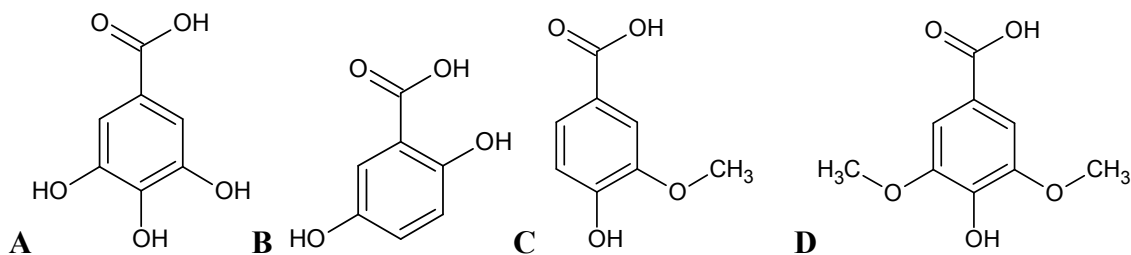
Polyfenoly jsou nezbytnou součástí lidské a zvířecí stravy. Chrání rostliny před UV zářením, vlivem patogenů, oxidačním stresem, škůdci, chorobami a mechanickým poškozením. Tvoří strukturu a stavbu rostlin a dotváří chuť, vůni a barvu květů a plodů.

Polyfenoly se dělí do 4 skupin podle počtu aromatických kruhů a vazbami mezi nimi:

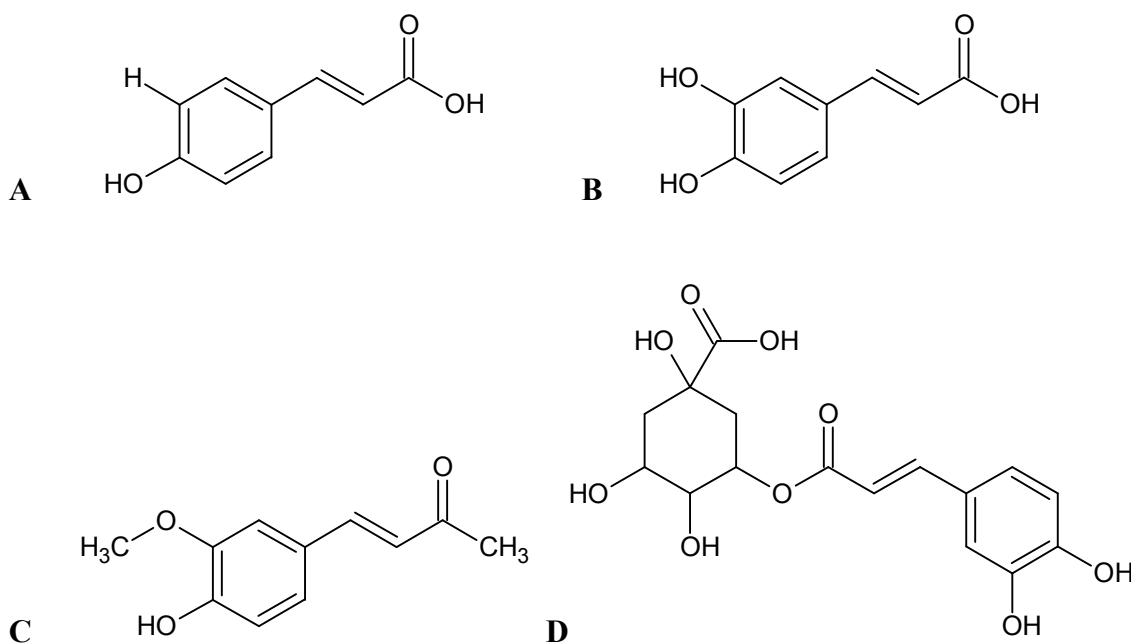
1. fenolové kyseliny
2. flavonoidy
3. stilbeny
4. lignany [15, 16, 17]

2.2.1.1 Fenolové kyseliny

Struktura fenolových kyselin je tvořena jedním aromatickým kruhem. Rozdělují se do 2 skupin, na deriváty kyseliny benzoové (kyselina gallová, kyselina gentisová, kyselina vanilová, kyselina syringová) a deriváty kyseliny skořicové (kyselina kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová).



Strukturní vzorce derivátů kyseliny benzoové: *A - kyselina gallová, B - kyselina gentisová, C - kyselina vanilová, D - kyselina syringová*



Deriváty kyseliny skořicové: *A – kyselina kumarová, B – kyselina kávová, C – kyselina ferulová, D – kyselina chlorogenová*

Deriváty kyseliny benzoové se volně v rostlinách prakticky nevyskytují, jsou vázané na sacharidy nebo organické kyseliny. Jejich biologické účinky nejsou zatím příliš prozkoumány, ale předpokládají se antioxidační a antikarcinogenní účinky a také snižování obsahu lipidů v krvi (snížení LDL cholesterolu).

Deriváty kyseliny skořicové se volně v rostlinách nachází pouze zřídka, nachází se vázané na sacharid nebo kyselinu (např. kyselinu chinonovou, kyselinu šikimátovou, kyselinu tartarovou). Deriváty kyseliny skořicové mají protinádorový účinek, jsou odolné vůči trypsinovým enzymům, snižují srážlivost krve, jsou prevencí před autoimunitními chorobami [16, 17, 18].

2.2.1.2 Flavonoidy (viz kapitola 2.1.6)

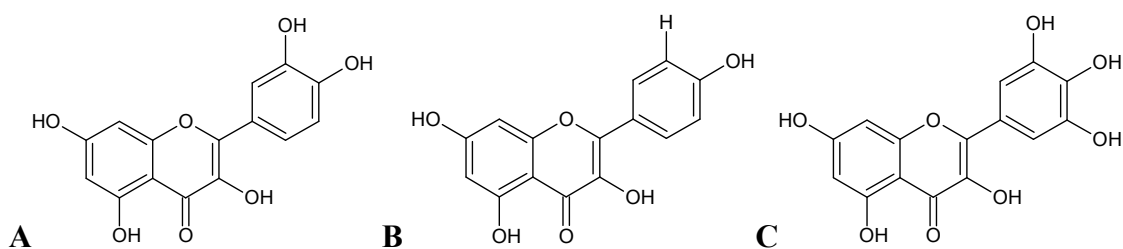
Flavonoidy se podle oxidace kyslíkového kruhu C rozdělují na flavonoly, flavony, isoflavony, flavanony, antokyany, flavanoly (katechiny a proantokyany).

Flavonoly

Flavonoly jsou žlutá barviva, vyskytující se převážně ve formě glykosilů a nebo jako ko – pigmenty nacházející se v přítomnosti antokyanů.

Vyskytují se převážně ve vnějších částech rostlin, hlavně ve slupce a listech. Jejich obsah je regulován podle množství dopadajícího záření. V čerstvém ovoci a zelenině se nachází v malých koncentracích ($15 - 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

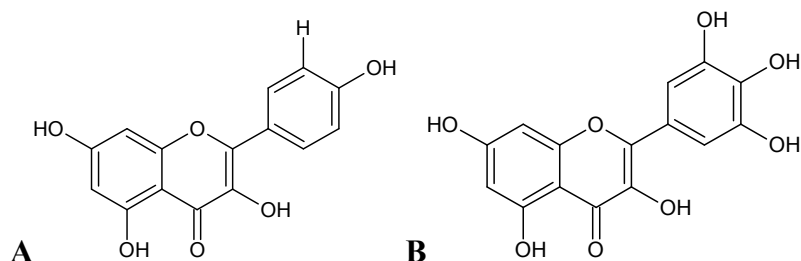
Nejvýznamnějšími flavonoidy jsou kvercetin, kemferol a myricetin. Kvercetin se nachází v ovoci, zelenině, listech, zrnech. Známe jsou jeho terapeutické účinky, odolnost vůči oxidačnímu stresu, snižuje krevní tlak a má protizánětlivé a protinádorové účinky. Kemferol se nachází hlavně v listové a kořenové zelenině, ovoci, bylinách a myricetin v bobulích, kukuřici a čaji [17, 19].



Strukturní vzorce flavonolů: A – kvercetin, B – kemferol, C – myricetin

Flavony

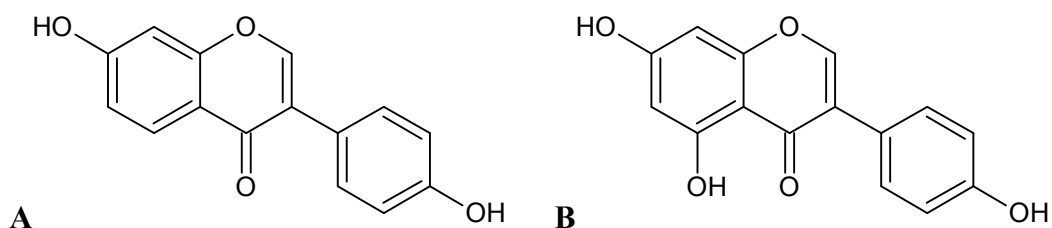
Flavony jsou také žluté pigmenty rostlin nacházející se společně s flavonoly. Vyskytují se v nižších koncentracích než flavonoly a to ve formě glykosidů nebo esterů. Nejvýznamnějšími flavony jsou apigenin a luteolin, které jsou obsaženy v bylinách, červené paprice a celeru [17].



Strukturní vzorce flavonů: A – apigenin, B – luteonin

Isoflavony

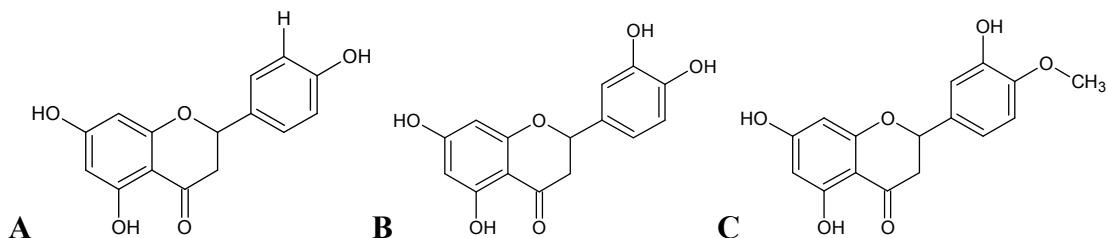
Bylo objeveno více jak 900 isoflavonů. Jejich struktura je velmi podobná estrogenům, protože obsahují také v poloze 7 a 4' hydroxylové skupiny. Jsou schopné se vázat k estrogením receptorům za vzniku tzv. fytoestrogenů. Tvoří v rostlinách látky, které chrání před patogenními účinky (fytoalexiny). Isoflavony mají antibakteriální a antioxidační účinek [17, 19]. Jejich spojení s některými deriváty může vykazovat toxické účinky [9]. Bylo zjištěno, že fytoestrogeny mají blahodárné účinky a mohou pomoci při léčbě rakoviny prsu, prostaty nebo kardiovaskulárních onemocnění [20]. Vyskytují se hlavně v luštěninách, sóji a sójových výrobcích. Nejznámější fytoestrogeny jsou diadzein a genistein [17].



Strukturní vzorec izoflavanů: A – diadzein, B - genistein

Flavanony

Flavanony jsou glykosylované disacharidy mající v poloze 7 například bezbarvou ruteniosou nebo neohesperidosou způsobující hořkou chuť. Flavanony jsou nazývány jako „citrusové“ flavonoidy, protože jsou obsaženy hlavně v citrusových plodech a to hlavně ve vrstvě hned pod slupkou, ale také v rajčatech nebo bylinách jako máta a lékořice. Mezi zástupce flavanonů patří hesperetin (pomeranče), naringenin (grapefruit) a eriodictyol (citrony) [17].

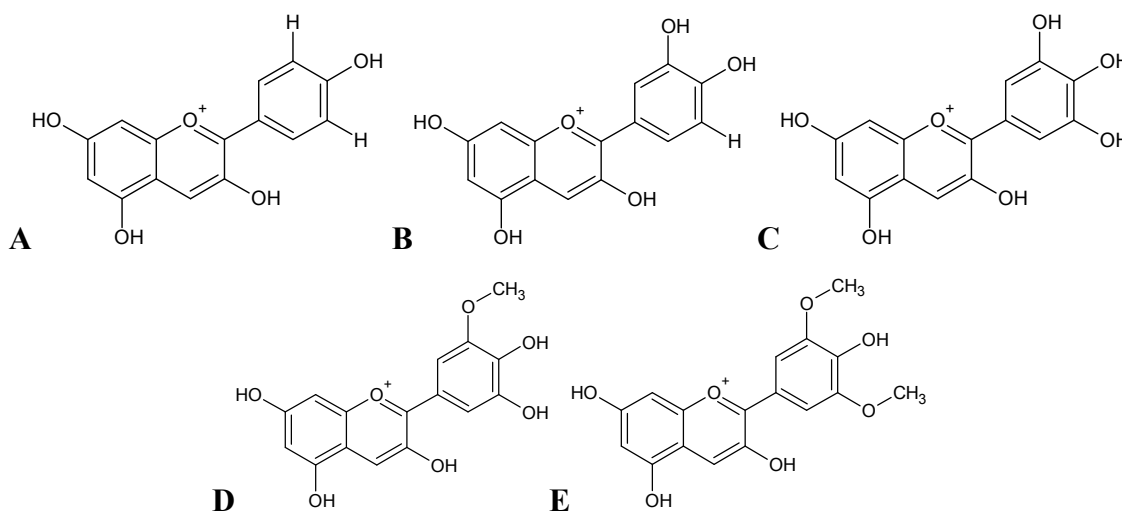


Strukturní vzorce flavanonů: A – naringenin, B – eriodictyol, C - hesperetin

Antokyanidiny

Antokyanidiny jsou glykosidy aglykonů nazývané jako antokyaniny. Jsou to přírodní barviva, mající dobrý vliv na lidské zdraví. Do dnešní doby jich bylo identifikováno přes 300.

Antokyaniny společně s dalšími pigmenty (karotenoidy, chloroplasty) zodpovídají za barvu ovoce (červená vinná réva), listové a kořenové zeleniny (červené zelí, lilek, ředkvička, cibule, fazole) a květin. Jsou z velké části obsaženy hlavně ve slupce a dužině. Barevnost je závislá na několika faktorech - na pH (pH 2 červené zbarvení, se zvyšujícím pH přechází přes modrofialovou k modré), na struktuře (čím více hydroxylových a methylových skupin, tím tmavší zbarvení) a na množství antokyanových pigmentů (čím větší počet, tím tmavší). K zástupcům antokyanů patří například peralgonidin, kyanidin, delfinidin, petunidin a malvidin.



Strukturní vzorce antokyanů: A - peralgonidin, B - kyanidin, C - delfinidin,
D - petunidin a E - malvidin

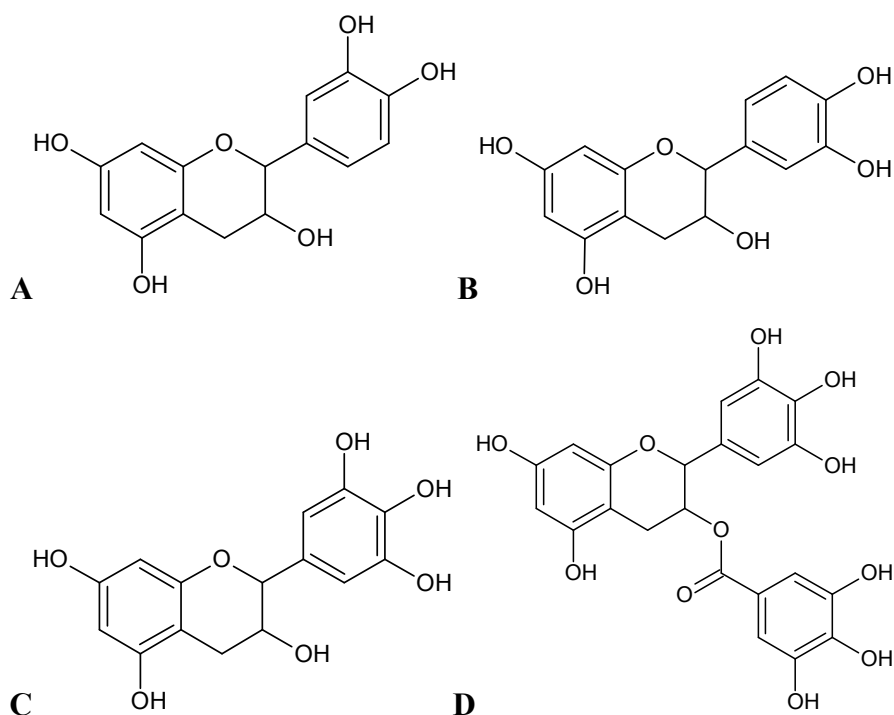
Součástí molekuly antokyanů je cukerný zbytek tvořen disacharidy D – glukosa, L – rhamnosa, D – galaktosa, D – xylosa nebo L-arabinosa. Cukr se váže v pozici 3 na střední heterocyklický kruh, ve výjimečných případech i do poloh C – 7, C - 3', C - 5' nebo C - 4'.

Antokyaniny jsou velmi nestabilní, jejich stabilita roste se zvyšující se teplotou. Používají se například v potravinářství k barvení potravin nebo ve farmacii, ale ne v příliš velkých množstvích, protože výtěžnost antokyanů je velmi malá.

Antokyany mají antioxidační, protizánětlivé a antirakovinové účinky, snižují hladinu cholesterolu v krvi a významně přispívají k prevenci před kardiovaskulárními chorobami [9, 16, 17, 19, 21].

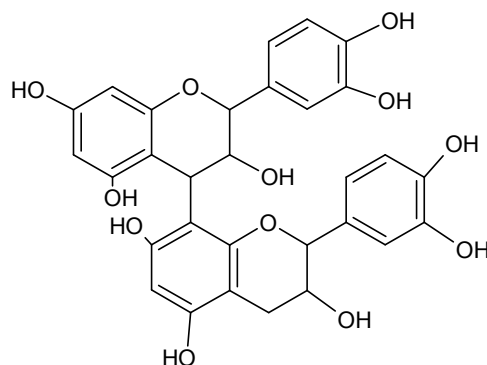
Flavanoly

Nachází se ve dvou formách, jako monomery (katechiny) nebo polymery (proantokyanidiny). Nejznámější monomerní flavanoly jsou katechiny a epikatechiny nacházející se v ovoci a gallokatechiny, epigalokatechiny a epigalokatechin gallát obsažené hlavně v luštěninách, vinné révě či v černém a zeleném čaji. Hlavní funkcí monomerních flavanolů je ochrana rostliny před patogenními vlivy [17].



Strukturní vzorce monomerních flavanolů: A – katechin, B – epikatechin, C – gallokatechin, D – epigalokatechin gallát

Proantokyanidiny, také nazývané jako kondenzované taniny, jsou dimery, oligomery a polymery katechinů. Tvoří komplexy, které jsou zodpovědné za svíravou chuť ovoce (vinná réva, jablka), nápojů (víno, pivo, kakao) a hořkost čokolády. Proantokyanidiny se vyznačují vysokou antioxidační aktivitou, antikarcinogenními účinky, snižují hladinu cholesterolu v krvi a slouží jako prevence před kardiovaskulárními chorobami [17].

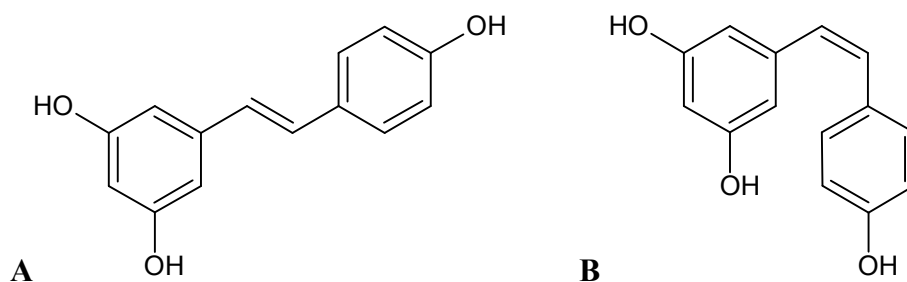


Strukturní vzorec proantokyanidinu

2.2.1.3 Stilbeny

Svoji strukturou jsou stilbeny velmi podobné flavonoidům. Vyskytují se pouze zřídka a to volně nebo vázané ve formě glykosidů. Známé jsou jejich antioxidační a antikarcinogenní účinky [17,22].

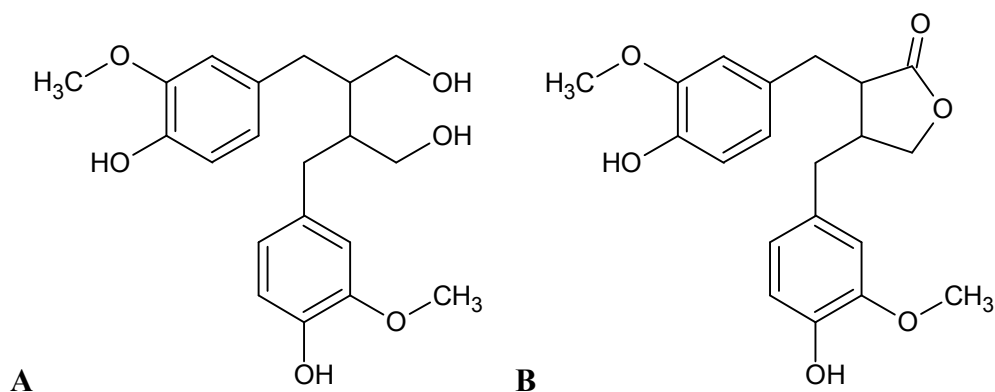
Nejvýznamnějším stilbenem je resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilben), je to přirozeně se vyskytující fytoalexin. Má 2 geometrické izomery *cis* a *trans*. V rostlinách se vyskytují obě formy, ale ve větším množství *trans* – izomer. Resveratrol je běžnou součástí lidské diety. Nejvyšší obsah je ve vinné révě (červené víno 2 – 6 mg·l⁻¹, bílé víno 0,2 – 0,8 mg·l⁻¹), zelenině (červené zelí, brokolice) a ořechách (arašídy). Slouží jako prevence před kardiovaskulárními chorobami, snižuje hladinu cholesterolu v krvi, má protinádorové a protizánětlivé účinky [23, 24, 25].



Strukturní vzorec resveratolu: A – trans, B - cis

2.2.1.4 Lignany

Lignany se řadí k fytoestrogenům, protože mají estrogenní účinky. Jsou obsaženy v semenech (lněné semínko), luštěninách (čočka), zelenině (česnek, chřest, mrkev), ovoci (hrušky, švestky). Nejvyšší obsah lignanů je v obilovinách (3 – 7 %). Mají antioxidační účinky a hrají významnou roli v prevenci rakoviny (prsu, prostaty) a osteoporózy. K zástupcům lignanů patří sekoisolariciresinol a matairesinol [17, 22, 26].



Strukturní vzorce lignanů: A – sekoisolariciresinol, B – matairesinol

2.2.2 Metody pro stanovení fenolických látek

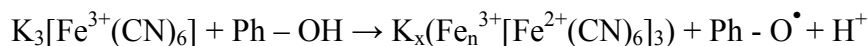
Pro stanovení fenolických látek v potravinách se používají 3 základní spektrofotometrické metody s Folin – Ciocalteovým činidlem (FCM), metody podle Price a Butlera (PBM), reakce s 4-aminoantipyrinem (AAPM) a metoda redukce mědi (CUPRAC).

Metoda FCM

Folin – Ciocalteuho spektrofotometrická metoda je založena na chemické redukci Folin – Ciocalteova činidla obsahujícího fosfomolybdenan a fosfowolframan. Změna zbarvení se měří spektrofotometricky při vlnové délce 750 nm. Výsledek se vyjadřuje v ekvivalentech standardního roztoku kyseliny gallové [27, 28, 29].

Metoda PBM

Tato metoda je založena na redukci hexakynoželezitanu na hexakynoželeznan (vytvoření modrého zbarvení – berlínská modř) $K_x(Fe_n^{3+}[Fe^{2+}(CN)_6]_3)$. Zároveň při této reakci dochází k oxidaci aniontu fenolátu na radikál fenolátu. Reakce vyjádřena rovnicí:



Stanovení fenolických látek metodou PBM je velmi jednoduché a takřka zde nedochází k interferenci s jinými sloučeninami z potravin [28, 29].

AAPM

Během reakce s 4-aminoantipyrinem za přítomnosti oxidačního činidla dojde k vytvoření barevného komplexu a tvorbě chinonové struktury [28, 29].

CUPRAC Spektrofotometrie

CUPRAC je také jednou z metod, která se používá ke stanovení celkového obsahu polyfenolů v potravinách. Oproti ostatním metodám je citlivější (oproti FCM 1,5x citlivější). CUPRAC je založena na redukci Cu^{2+} na Cu^+ v hydroethanolicém prostředí (pH 7) za přítomnosti činidla neocuproin (2,9-dimethyl-1,10-fenantrolin), který s Cu^+ tvoří komplexy absorbující při vlnové délce 450 nm [30, 31].

2.2.3 Metody pro stanovení antokyanů

Antokyanové pigmenty u ovoce a zeleniny rozhodují o barvě a kvalitě. Z důvodu velmi podobné reaktivity a struktury, je velmi komplikované je oddělit od ostatních flavonoidů.

Dostupnost antokyanových standardů pro usnadnění kvantifikace pigmentů není běžná, protože jejich izolace z rostlinných matric v požadované čistotě je obtížná.

Pro stanovení antokyanů se dříve používala papírová chromatografie (PC) a chromatografie na tenké vrstvě (TLC). Nyní se běžně používají spektrofotometrické metody (UV/VIS), protože jsou rychlé, snadné a levné. Často používaná je i vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s UV detektorem, detektorem s diodovým polem, spojení s hmotnostní detekcí nebo s magnetickou rezonancí. Pro separaci antokyanů se také používá kapalinová elektroforéza (CE) [32, 33].

Papírová chromatografie (PC) a chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

Principem těchto metod je adsorpce antokyanů na chromatografický papír (PC) nebo jiný absorbent (TLC). U PC byl problém se získáním dostatečného rozlišení směsí antokyanů. Velice záleželo na složení vzorku a použité mobilní fázi. Celková doba separace byla u PC až 36 hodin. TLC poskytovala vyšší rozlišení, menší spotřebu vzorku a kratší čas separace (5 - 6 hodin). K rozlišení hybností analytů se musely používat referenční sloučeniny. Metody nejsou vhodné pro separaci velkých objemů.

V současnosti se tyto metody v některých laboratořích stále používají, protože jsou levné a rychlé [33, 34].

pH diferenciální metoda

pH diferenciální metoda je spektrofotometrická metoda. Metoda je založena na tom, že když dojde ke změně pH, změní se struktura antokyanů, současně dojde ke změně barvy, která absorbuje v jiných částech spektra.

Vzorky se naředí pufrům o pH 1 (oxoniová barevná forma) a pufrům o pH 4,5 (hemiketalová bezbarvá forma). Vzorky se měří na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm.

Koncentrace monomerních antokyanů se určí z rozdílu absorbancí. Polymerní antokyanany, degradované pigmenty a rušivé sloučeniny barvu v závislosti na změně pH nemění a do výpočtů se nezahrnují [35].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Pro stanovení antokyanů je HPLC nejpoužívanější metodou. Na základě charakteru antokyanů v potravinových matricích se pro jejich stanovení používá chromatografie reverzně fázová (RPC), ve které je stacionární fáze nepolární a mobilní fáze polární. Nejpoužívanější stacionární fáze do kolon je stacionární fáze s C18, polystyrenem, oktadecylsilanem (ODS) nebo navázanými fenolovými zbytky. Vnitřní průměr kolony se stacionární fází s C18 je 2,1 – 5,0 mm (velikost částic 3 – 5 μm). Užší kolony mají vnitřní průměr 1,1 – 2,1 mm (velikost částic 1,7 μm).

Mobilní fáze je tvořena třemi hlavními složkami - voda, organická kyselina (kyselina octová, trifluorooctová, mravenčí) a organický modifikátor (aceton, metanol). Organické kyseliny se do mobilní fáze přidávají kvůli snížení pH pod hodnotu 2. V tomto pH jsou antokyanany stabilnější a nedochází ke chvostování píků. Při vyšším pH (3,2) dojde ke snížení rozlišení a limitu detekce, protože antokyanany existují ve dvou formách – flavyliový kation (červený) a quinodiální forma (modrá). Při pH nižším jak 2 je v nadbytku flavinový kation (96 %).

S rostoucí polaritou antokyanů klesá retenční čas v důsledku tvorby nových hydroxylových skupin na flavyliovém kationtu. Eluce antokyanů probíhá v pořadí delfinidin > kyanidin > petunidin > pelargonidin > peonidin > malvidin. Nejprve se eluují monoglykosidy, za nimi aglykony a na závěr acylované antokyanany.

Chromatografie s normálními fázemi používá nemodifikovaný silikagel, který pro separaci polárních antokyanů není příliš vhodný [33, 36, 37].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detekcí diodovým polem (HPLC/DAD)

HPLC/DAD je velmi používaná metoda v průmyslu i na vědeckých pracovištích. Umožňuje sběr a sledování spekter v aktuálním čase. Detekuje nejen informace o povaze aglykonu a glykosilaci, ale i o acylaci. Rozmezí používané vlnové délky je 520 – 546 nm. Antokyanany s jednou hydroxylovou skupinou mají absorpční maximum

při vlnové délce 520 nm (pelargonidin), se dvěma hydroxylovými skupinami 535 nm (kyanidin a peinidin) a se třemi hydroxylovými skupinami 544 nm (delfinidin, petinidin a malvidin). Ostatní fenoly obsažené v matrici při těchto vlnových délkách neabsorbují [33, 36, 37].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC/MS)

MS detektor je velmi citlivý a selektivní. Ve spojení s HPLC umožňuje velmi přesné kvalitativní a kvantitativní stanovení. Tato metoda se používá k analýze potravin a je využívána i na vědeckých pracovištích.

Je nutná volba vhodné ionizační techniky pro převedení molekulárního iontu do přístroje. Antokyany jsou termodynamicky nestabilní, proto vhodnými ionizačními technikami jsou FAB (ionizace urychlenými atomy), MALDI (ionizace laserem za přítomnosti matrice), APCI (chemická ionizace za atmosférického tlaku) a ESI (elektrosprej). Nejpoužívanější metodou je spojení HPLC – MS – ESI. ESI je měkká ionizační technika vytvářející molekulové ionty. Jako hmotnostní analyzátor se používá TOF (analyzátor doby letu částic), kvadrupól, iontová past a iontová cyklotronová rezonance.

Je možné použít i tandemové uspořádání hmotnostního spektrometru MS/MS, prostřednictvím kterého lze určit přesnou strukturu jednotlivých složek ve vzorku [32, 33, 36, 37].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s nukleární magnetickou rezonancí (HPLC/NMR)

Slouží k určení neznámých antokyanů v rostlinných materiálech. Nevýhodou je, že metoda má velmi malou citlivost. Výsledkem analýzy jsou ^1H – NMR spektra a ve výjimečných případech i ^{13}C – NMR spektra.

Touto metodou lze kromě antokyanů stanovit také deriváty kyseliny skořicové, peroxy radikály, katechiny nebo flavonoly [32, 33].

Protiproudá chromatografie (CCC) a vysokorychlostní protiproudá chromatografie (HSCCC)

U protiproudé chromatografie je stacionární i mobilní fází kapalina. Jde o nedestruktivní metodu založenou na opakovaném dělení analytu mezi dvě nemísitelné

kapalné fáze. Výhodou oproti HPLC je, že díky kapalné stacionární fázi nedochází ke ztrátám vlivem adsorpce.

U vysokorychlostní protiproudé chromatografie je také stacionární a mobilní fáze tvořena kapalinou, většinou vodou a organickou kyselinou. Pro separaci antokyanů je jedna fáze zvolena podle povahy daného vzorku a druhá fáze je tvořena *tert*-butylmethylether/butanol/acetónitril/voda v poměru 2:2:1:5 a okyselené kyselinou trifluorooctovou, pro dosažení vhodného pH. Výhodou HSCCC je vysoká čistota separovaných sloučenin. Je možné i spojování s jinými technikami např. HSCCC/MS nebo HSCCC/NMR [36, 38].

Kapilární elektroforéza (CE)

Kapilární elektroforéza je velice oblíbená a používaná technika. Mezi její výhody patří vysoké rozlišení, malá spotřeba vzorku, minimální tvorba odpadu a krátká doba analýzy. Životnost kapilár je oproti životnosti kolon mnohem větší a nedochází k jejich zanášení, protože se mnohem lépe promývají. Nevýhodou je nízká citlivost a horší reprodukovatelnost.

Nejpoužívanější je kapilární zónová elektroforéza (CZE), což je analytická elektromigrační metoda založená na rozdělení částic podle elektroforetických mobilit účinkem stejnosměrného proudu. Vzorek o objemu 10 – 100 μ l se nadávkuje do kapiláry. Vložením konstantního napětí (0 – 30 kV) dojde k separaci částic. Na opačném konci kapiláry je detektor a vyhodnocovací zařízení. Výsledkem CZE je elektroforeogram, vyjadřující závislost absorbance na čase. Nejčastěji se používají křemenné kapiláry o průměru 25 nebo 75 μ m o délce 25 – 100 cm. Jako elektrolyty se používají pufry, které udržují stálou hodnotu pH v systému po dobu analýzy. Jedná se většinou o pufry směsí slabých bází a jejich solí nebo slabých kyselin a jejich solí. Koncentrace elektrolytu musí být vyšší než koncentrace vzorku. Vhodné jsou detektory UV – VIS a fluorescenční, využívající laserem indukovanou fluorescenci (LIF, Laser Induced Fluorescence).

Další typy kapilární elektroforézy jsou micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC), kapilární elektrochromatografie (CEC), kapilární gelová elektroforéza (CGE) a kapilární izotachoforéza (CITP).

Pro separaci antokyanů se používá také MEKC. Prostřednictvím této metody je možné separovat i látky mající stejnou mobilitu. Nenabitě antokyanů se v neutrálním

prostředí dělí mezi vodnou fází a micelární pseudofází. Hnací silou je rozdílná lipofilita antokyanů [32, 33, 36, 37].

2.3 VITAMIN C

Kyselinu askorbovou neboli vitamin C izoloval z pomerančů, zelí, paprik a hovězích nadledvinek v roce 1928 americký biochemik maďarského původu Dr. Albert Szent – Gyöegy a určil, že strukturně je velmi podobná cukru glukózy. Za tento objev získal v roce 1937 Nobelovu cenu. Na morčatech zjistil, že pravidelnými dávkami vitamínu C lze předcházet nebo léčit nemoc nazývanou kurděje. Ke stejnému objevu dospěl nezávisle na Dr. Albertu Szent – Gyöegyovi i v roce 1942 Charles Glen King z univerzity v Pittsburghu. Walter Norman Haworth a jeho tým v roce 1933 vyrobili vitamin C synteticky. V roce 1970 Dr. Linus Pauling prohlásil, že vitamin C zpomaluje stárnutí a léčí nachlazení. Stanovil doporučenou denní dávku na 60 mg [42].

Většina živočichů si kyselinu askorbovou syntetizuje prostřednictvím ledvin z D-glukosy samo. Výjimkou jsou morčata, netopýři, někteří ptáci, opice a člověk, kteří si ji vytvářet sami neumí a jsou odkázáni na příjem kyseliny askorbové v potravě [42, 43, 44].

Kyselina askorbová je v pevném skupenství stálá a má podobu bílého prášku. Při delším skladování dochází k změně barvy (přes žlutou až k hnědé) a vytvoří se štiplavý zápach. V kapalném skupenství se kyselina askorbová rychle oxiduje. Rychlost oxidace je závislá na několika faktorech jako jsou teplota, pH a přítomnost kationů těžkých kovů. Oxidací dochází k přechodu na kyselinu hydroaskorbovou, kyselinu šťavelovou a až na kyselinu freonovou [11].

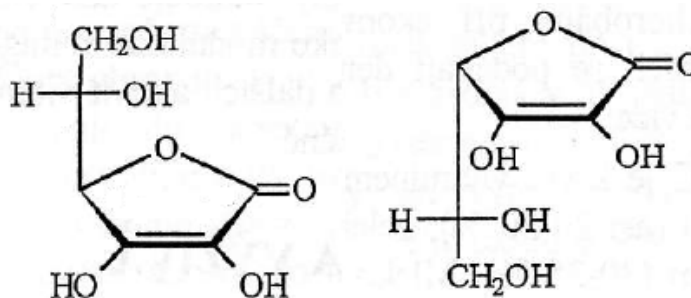
Ke stabilizaci kyseliny askorbové se používá kyselina metafosforečná nebo kyselina citronová [41].

2.3.1 Struktura

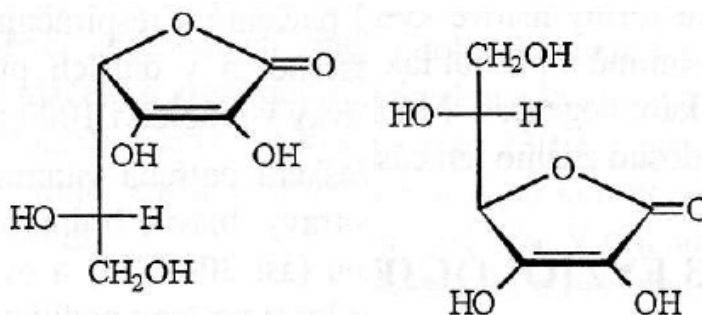
(+)-L-Askorbová kyselina (L-xylo-askorbová kyselina) je základní, biologicky aktivní forma vitamínu C.

Existují 3 stereoizomety, D-askorbová kyselina a L,D-izoaskorbová kyselina. D-askorbová kyselina a L-izoaskorbová kyselina, které se v přírodě nenachází a nevykazují ani aktivitu vitamínu. Aktivitu vitamínu vykazuje D-izoaskorbová kyselina,

ale její účinek oproti L-askorbové kyselině je o 95 % nižší a používá se v potravinářském průmyslu jako antioxidant [9, 11, 40].



Struktura kyseliny L-askorbové a D-askorbové [9]



Struktura kyseliny L-izoaskorbové a D-izoaskorbové [9]

Jako meziprodukt při výrobě kyseliny askorbové organickou syntézou vzniká kyselina erythorbová, která vykazuje aktivitu vitamínu C pouze 5 % (20x méně vitamínu C) a využívá se jako její levnější náhražka. Používání kyseliny erythorbové je v ČR povolené pouze v malých množstvích [40].

2.3.2 Fyziologie a výživa

Vitamin C je primární i sekundární antioxidant. Doporučená denní dávka pro děti je 500 – 1000 mg podle věku. Pro dospělé, těhotné ženy (do 4. měsíce) a kojící matky 1000 mg na den. Pravidelná konzumace vitamínu C chrání před nachlazením a rýmou. Nejvyšší množství vitamínu C denně by nemělo přesáhnout 2000 mg. Předávkování se vitamínem C není možné, protože je vylučován močí. Malé množství je zadrženo v ledvinách a odtud je předáváno do metabolismu. Při zvýšeném příjmu vitamínu C může docházet k častějšímu močení a mírným střevním potížím, proto by se měl dodržovat pitný režim, aby nedošlo k dehydrataci organismu. Vitamin C se doporučuje jíst až po jídle, jinak hrozí riziko mírného průjmu. Jedna vykouřená cigareta

zničí až 100 mg vitamínu C, proto by kuřáci měli upravit jeho příjem podle počtu cigaret, které za den vykouří.

Vitamin C posiluje imunitní systém, zlepšuje psychologický stav člověka, pomáhá při alergiích, chrání organismus před volnými radikály, udržuje buňky, tkáně a cévy silné a pružné, útočí proti virům a bakteriím, má dobrý vliv na kůži, vlasy a zrak, používá se i k léčbě šedého nebo zeleného zákalu, udržuje nízkou hladinu cholesterolu v krvi a podporuje metabolismus vápníku.

Nedostatek vitamínu C může způsobit zvýšenou krvácivost a zánětlivost dásní, vypadávání zubů a vlasů, revma, vznik vrásek, zvyšuje náchylnost organismu k infekcím, snížení imunity, způsobuje ospalost, slabost a podrážděnost. U dětí může nedostatek vitamínu zastavit nebo zpomalit růst zubů a hrozí riziko zvýšeného vzniku zubních kazů. Úplným nedostatkem vitamínu C hrozí vznik nemoci, která se nazývá kurděje. Tato nemoc se projevuje krvácením do sliznic, svalstva a kůže, dochází k vypadávání zubů, malátnosti, slabosti a snížení obranyschopnosti organismu vůči infekcím.

Hlavními zdroji vitamínu C jsou čerstvé ovoce, zelenina, byliny, černý rybíz, šípek, brambory, paprika, chilli papričky a citrusové plody [11, 39, 40].

Tabulka 3: Ovoce s nejvyšším obsahem vitamínu C [39]

Ovoce	Obsah vitamínu C (mg) ve 100 g čerstvého ovoce
Šípky	1250
Černý rybíz	110
Papája	80
Kivi	71
Jahody	64
Citron	52
Pomeranč	52
Jeřabiny	45
Grapefruit	40
Červený rybíz	36
Angrešt	33
Maliny	24
Ostružiny	21

Tabulka 4: Zelenina s nejvyšším obsahem vitamínu C [39]

Zelenina	Obsah vitamínu C (mg) ve 100 g čerstvého zeleniny
Křen	200
Petrželová nat'	140
Zelená a žlutá paprika	140
Kopr	100
Brokolice	115
Květák	55
Chřest	50
Špenát	45
Hlávkové zelí bílé	45
Hlávkové zelí červené	40
Kapusta	40

Kombinace vitamínu C s vitamínem K₃ (100:1), nazývána jako Apaton, se používá u pacientů trpících rakovinou před chemoterapií. Jeho účinkem dochází k odumírání nádoru. Účinky tohoto léku jsou zatím pouze testovány a na trh zatím uveden nebyl [43].

V některých potravinách se vitamin C používá jako okyselovadlo a nebo ochucovadlo. Účinkem tepla, světla nebo kyslíku dochází k jeho degradaci. K jeho úbytku v potravinách dochází také omýváním, máčením, způsobem zpracování, tepelným opracováním, zmrazováním apod. Zmražením potraviny dochází k úbytku vitamínu C během jedné hodiny o 90 % [11, 39, 40].

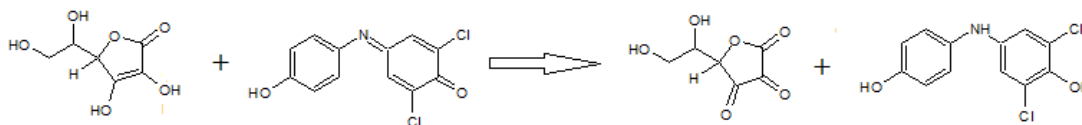
2.3.3 Metody pro stanovení vitamínu C v potravinách

Pro stanovení vitamínu C v potravinách se používá řada metod, od jednoduchých titrací po preferovanější a selektivnější analytické metody, jako je například spektrofotometrie, elektroanalytické metody nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie.

2.3.3.1 Titrace

Pro titrační stanovení vitamínu C v potravinách je nutné použít vhodné titrační činidlo. Vhodným titračním činidlem je například 2,6-dichlorfenolindofenol (DCIP)

v kyselém prostředí. Při této reakci redukuje kyselina L-askorbová DCIP z oxidované formy mající červené zbarvení na formu redukovanou, která je bezbarvá.



Reakce kyseliny L-askorbové s DCIP

Dále je možná i titrace tetrachlorbenzochinonem, kde se jako indikátor používá kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), která slouží také jako vychytávač interferujících kovových kationů. Bod ekvivalence je identifikován zlatožlutým zbarvením roztoku.

Používaná jsou i jodometrická nebo bromátometrická stanovení vitamínu C. K nejznámějším patří titrace jodistanem draselným nebo bromičnanem draselným, kde se jako indikátor používá škrobový maz (zbarví roztok modře). Nevýhodou je rušení těchto stanovení účinkem kyseliny citronové, kyseliny jantarové, kyseliny jablečné, nebo taky cukry či různými kationy. Aby nedošlo k rušení, je výhodná aplikace metod využívajících chloristan thallitý nebo síran měďnatý. Bod ekvivalence se stanoví odbarvením růžově až červeně zbarveného roztoku [44, 45].

2.3.3.2 Elektrochemické metody

Pro stanovení vitamínu C v potravinách lze použít i řadu elektrochemických metod jako jsou polarografie, voltametrie, potenciometrie a coulometrie.

Polarografické stanovení probíhá na rtuťové kapkové elektrodě, na které dochází k oxidaci kyseliny L-askorbové. Nutností je vytvoření kyselého prostředí prostřednictvím pufrů (pH 4,5), z důvodu vyšší stálosti kyseliny L-askorbové. Tato metoda se již v praxi téměř nevyužívá, ale lze ji aplikovat na všechny potraviny.

Pro **voltametrické stanovení** se používají například uhlíkové elektrody, mikrodiskové elektrody, konvenční elektrody, apod. Nevýhodou tohoto stanovení je velmi rychlé znečištění elektrod produkty oxidace, proto se tato metoda nepoužívá.

Potenciometrické titrace se provádí titrací síranem měďnatým, jodem, N-bromsukcinimidem nebo tetrachlorbenzochinonem. Bod ekvivalence se stanoví měřením elektrochemického potenciálu v průběhu titrace. Je sledována závislost elektrochemického potenciálu titrované látky na množství přidávaného titračního

činidla. Výhodou je, že se tato metoda může použít u silně zbarvených roztoků, ale stejně jako u voltametrického stanovení dochází k znečištění elektrod.

Coulometrické stanovení vitamínu C v potravinách je založeno na kvantitativní oxidaci kyseliny L-askorbové na platinové elektrodě [44].

2.3.3.3 Fluorometrické metody

Oxidací kyseliny L-askorbové s o-fenylemldiaminem nebo kondenzací kyseliny L-askorbové 2-kyanoacetaminem dochází ke vzniku fluoreskujících produktů.

Další možností jsou ještě tzv. nepřímé fluorometrické metody založené na redukci Ce^{4+} na Ce^{3+} , při kterých se emituje charakteristická fluorescence.

Fluorometrické metody lze využít pro stanovení vitamínu C v ovoci, zelenině i tělních tekutinách. Důležité je udržet správnou hodnotu pH, aby došlo ke vzniku fluoreskujícího produktu [46].

2.3.3.4 Spektrofotometrické metody

Spektrofotometrické stanovení vitamínu C se provádí reakcí s oranžovým až červeným barvivem 2,4-dinitrofenylhydrazinem (DNPH). Dochází k reakci DNPH s kyselinou dehydroaskorbovou na kondenzovanou kyselinu dehydroaskorbovou. Detekce se provádí spektrofotometricky při vlnové délce 520 nm [47].

2.3.3.5 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC je nejpoužívanější metodou pro analýzu kyseliny askorbové v potravinách. Metoda je oproti ostatním metodám přesnější a citlivější. Nejčastěji se používá ultrafialová nebo elektrochemická detekce, méně často je využívána fluorescenční detekce nebo hmotnostní spektrometrie, která má největší citlivost a selektivitu, ale je velmi drahá. Hlavní postupy pro stanovení polárních molekul kyseliny askorbové a dehydroaskorbové jsou chromatografie na reverzní fázi, iontově párová chromatografie, iontově výměnná chromatografie, iontově vylučovací chromatografie a hydrofilní chromatografie založená na hydrofilních interakcích [48, 49].

Chromatografie na reverzní fázi (RP - HPLC)

Kyselina askorbová je velmi polární, v koloně není prakticky zadržována a k eluci dochází na začátku analýzy. Ke stanovení se používá stacionární fáze s obsahem oktadecilovaným silikagelem (ODS). K dosažení dostatečného rozlišení se používá

mobilní fáze obsahující vysoké procento vody a organický či anorganický pufr k dosažení nízkého pH.

Chromatografie na reverzní fázi má dvě nevýhody. První nevýhodou je, že pokud je zvolena mobilní fáze bez obsahu organického modifikátoru (100% voda), dojde k ovlivnění separace na C18 stacionární fázi. Druhá nevýhoda je způsobena vlivem zvoleného příliš nízkého pH, protože u kolon na bázi silikagelu může dojít k uvolnění oxidu křemičitého a tím zničení kolony [48].

Iontově párová chromatografie

Tato metoda je používána poměrně často. Využívá se iont – párových činidel, jako přídavné látky se přidávají anorganické pufrы. Anorganické pufrы způsobují řadu problémů, protože se usazují v koloně a tím dojde k jejímu rychlejšímu opotřebení. Reprodukovatelnost a selektivita není příliš velká a závisí na koncentraci jednotlivých složek mobilní fáze [48].

Iontově výměnná chromatografie

Kyselina askorbová je slabá organická kyselina, která je dobře zachycována silným anexem. Lze využít i amino – modifikovanou stacionární fázi, kde aminová skupina je slabým anexem. Iontově výměnná chromatografie byla jednou z prvních metod pro stanovení vitamínu C v potravinách [48].

Iontově vylučovací chromatografie

Iontově vylučovací chromatografie byla jednou z nejpoužívanějších metod v 90. letech pro stanovení kyseliny askorbové. Jako stacionární fáze se používá sulfonované sférické PS/DVB pryskyřice (polystyren – divinylbenzenové pryskyřice) stabilní při nízké hodnotě pH roztoku. Mobilní fáze je tvořena anorganickou kyselinou (sírová, fosforečná nebo sulfonová), neobsahuje žádný organický modifikátor. Zadržování složek v koloně je způsobeno elektrostatickými silami, hydrofobními interakcemi a účinkem iontového vylučování. Neutrální roztoky nejsou elektrostatickými silami ovlivňovány a k rozdělení dochází vlivem hydrofóbních interakcí [48].

Hydrofilní chromatografie (HILIC)

HILIC je kapalinová chromatografie založená na hydrofilních interakcích. Tato metoda je vhodná pro analýzu polárních molekul, eluovaných mrtvým objemem a slabě zadržované stacionární fází. Metoda HILIC je považována za nástupce HPLC.

Mobilní fáze obsahuje nadbytek organického rozpouštědla (acetonitril) doplněného o menší množství vody a pufru. Stacionární fáze je složena z vody a stagnujícího eluentu (obsahuje hydroxyl – ethyl skupiny a diol nebo amino skupiny).

Během separace dochází nejprve ke vzniku vodíkových vazeb a následně k vytvoření elektrostatických interakcí s nabitou stacionární fází. Zvyšováním polaritý mobilní fáze (zvyšováním obsahu vody) dochází k eluci látek.

HILIC využívá velké množství organického rozpouštědla umožňující využití kapalinové chromatografie s MS detekcí, která je velmi citlivá. Nevýhoda je, že metodou HILIC není možné stanovovat kyselinu dehydroaskorbovou.

Využívá se k analýze potravin, nápojů a k testování farmaceutických přípravků [48].

2.4 CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

2.4.1 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, jejichž molekuly snižují činnost volných radikálů, které v těle vznikají jako vedlejší produkt látkové výměny v buňkách. Volné radikály jsou atomy/molekuly, obsahující nepárové elektrony, kvůli kterým jsou velmi reaktivní a nestabilní. V těle se účastní velkého množství fyziologických dějů. Tvoří se jich ale velké množství. Nejsou dostatečně rychle odbourávány a to může vést až ke vzniku vážných onemocnění. Urychluje se stárnutí buněk, narušuje se imunitní systém, může dojít i k narušení DNA v buněčném jádru a to může vyvolat vznik rakoviny. Proti volným radikálům se tělo brání využitím antioxidantů.

Antioxidanty jsou látky obsažené v potravinách. Mohou být přirozenou složkou potravin, ale také se mohou do potravin přidávat, čímž se zvýší jejich kvalita, prodlouží doba uchování a udrží se nutriční hodnota potravin na původní hodnotě.

Dávkování antioxidantů je individuální, záleží na zdravotním stavu člověka. Pokud jde o prevenci, jsou dávky antioxidantů nižší, pokud jde o člověka již nemocného, jsou dávky vyšší.

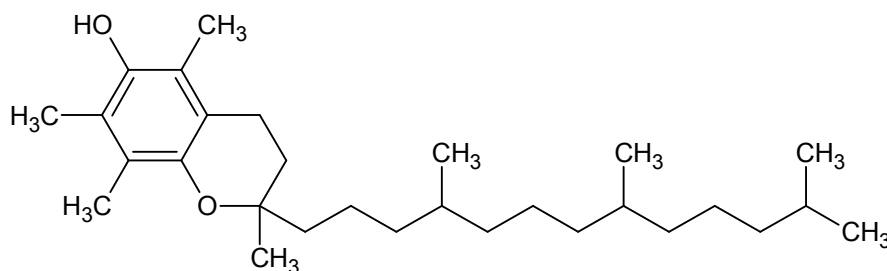
Antioxidanty se podle mechanismu účinku dělí na primární a sekundární. Primární antioxidanty jsou látky reagující s volnými radikály za vzniku aktivních molekul. Sekundární antioxidanty nereagují přímo s volnými radikály, ale s mechanismy zabraňující jejich vznik.

Jiné rozdělení rozděluje antioxidanty na látky pro tělo vlastní (nikotinamid, melatonin, koenzym Q10), antioxidační vitaminy (vitamin A, C, D), stopové prvky (Zn, Cu, Se) a látky rostlinného původu (například flavonoidy).

Organismus je vybaven ochrannými antioxidačními systémy, ale pro jejich funkci je potřeba dostatečné množství vitaminů, minerálů, stopových prvků atd. Nejdůležitějšími antioxidanty jsou vitamin A (viz kapitola 2.1.6), vitamin C (viz kapitola 2.3), vitamin E, selen, měď, mangan, zinek a další známé antioxidanty jako jsou flavonoidy, fytochemické látky, ginkgo biloba, karotenoidy, koenzym Q10, L – cystein, L – glutation, yucca [39, 40, 41].

Vitamin E

Vitamin E zabraňuje srážení krve, tvoření křečových žil, urychluje hojení pooperačních ran, spálenin, slunečních spálenin, zvyšuje imunitu, léčí akné, používá se při léčbě Parkinsonovi choroby a zabraňuje svalovým potížím. U žen se používá pro léčbu neplodnosti a zabránění opakovaným potratům. Doporučená denní dávka u zdravého dospělého jedince je 8 – 10 mg, děti 6 – 7 mg a kojenců 3 – 4 mg. U starších lidí se nedostatek vitaminu E projevuje vznikem stařeckých skvrn na rukou. Nadbytek vitaminu způsobuje poruchy zraku, nervovou podrážděnost, kornatění cév, revmatismus, únavu, apod. Bohaté na vitamin E jsou ořechy, pšeničné klíčky, rostlinné oleje, zelená listová zelenina, vaječný žloutek, luštěniny a mléčné tuky [11, 39].



Struktura vitaminu E (α tokoferol)

Mangan

Doporučená denní dávka je 1,4 mg. Mangan se podílí na tvorbě hormonu štítné žlázy tyroxinu a je velmi důležitý pro správnou funkci štítné žlázy, podporuje správnou

funkci enzymů, nervů a svalů, je důležitý pro vývoj kostí, regulaci růstu, svalové reflexy, zbavuje únavy, snižuje poruchy nervového systému. V kombinaci se zinkem pomáhá odstavit senilitu u starých lidí. Nedostatek se projevuje deformací kostí, poruchou růstu, závratěmi, nesoustředěností a poruchami paměti. Nadbytek může způsobit poškození mozku. Nejlepšími přírodními zdroji manganu jsou celozrnné obiloviny, ořechy, pšeničné klíčky, avokádo, listová zelenina, hrách, řepa, vaječný žloutek [39, 40].

Meď

Meď se podílí na správné funkci kyseliny ribonukleové, správném růstu, vývoji kostí a tvorbě červených krvinek, udržuje nízkou hladinu cholesterolu v krvi, zvyšuje imunitu, podílí se na správné funkci nervové soustavy a mozku. Doporučená denní dávka je 1,1 – 3 mg. Konzumace mědi snižuje výskyt rakovinových onemocnění a srdečních chorob. Je součástí hemoglobinu. V těle se podílí na zpracování vitamínu C a železa. Nedostatek je velmi vzácný, ale může způsobit sníženou schopnost vstřebávání železa, chudokrevnost a pokles počtu bílých krvinek. Nadbytek se projevuje nevolností, zvracením, bolestmi břicha a svalů. Přírodními zdroji mědi jsou ústřice, ořechy, kakao, hrách, mořské ryby, zelená listová zelenina, hovězí a telecí maso, kvasnice, ledvinky, játra, apod. [39, 40]

Selen

Doporučená dávka selenu je 0,05 – 0,2 mg denně. U mužů by měl být přísun vyšší než u žen, protože selen je vylučován spermatem. V kombinaci s vitamínem E podporuje správnou srdeční činnost a podporuje tvorbu protilátek. Selen je důležitý pro správnou funkci štítné žlázy, zvyšuje imunitu, používá se na léčbu únavového syndromu, ochraňuje před kardiovaskulárními chorobami, udržuje tkáň pružné a mladé, snižuje výskyt vlasových lupů, zpevňuje nehty a vlasy, podporuje správnou funkci jater. Nedostatek může způsobit vážné srdeční problémy, zvýšit výskyt rakoviny, snížit imunitu a mohou se vyskytnout některé druhy chudokrevnosti. Předávkování selenem není možné. Nadbytek se projevuje depresemi, nervozitou, nevolností, česnekovým zápachem z úst, ztrátou vlasů a nehtů. Přírodním zdrojem selenu jsou mořské plody, obiloviny, játra, ledvinky, tuňák, drůbež, rajčata a brokolice [39, 40].

Zinek

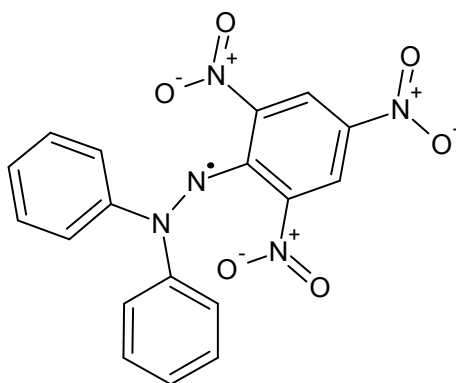
Je součástí enzymů chránících před volnými radikály. Největší množství je obsaženo v očích a spermatu. Doporučená denní dávka pro dospělého člověka je 15 mg, pro dítě 5 – 10 mg podle věku. U těhotných žen je důležitý vyšší přísun zinku cca 20 mg a u kojících žen cca 25 mg. Zinek pomáhá při léčbě virových a bakteriálních onemocnění, kontroluje a udržuje látkovou výměnu, odstraňuje bílé skvrny pod nehty, léčí zvětšenou prostatu a zlepšuje její funkci, používá se na léčbu schizofrenie a mentálních poruch, důležitý pro správný vývoj pohlavních orgánů, upravuje nepravidelnost menstruace, pomáhá při léčbě akné, zlepšuje stav kůže a vlasů. Kombinace zinku s vitamínem B₆ je důležitá pro tvorbu pohlavního hormonu testosteronu a spermií. Zinek společně s vitamínem E se používá na léčbu neplodnosti. Nedostatek způsobuje zpoždění tělesného, duševního a pohlavního vývoje, neplodnost, poruchy kůže. Nadbytek může způsobit poruchu imunity. Hlavními zdroji jsou játra, tmavé maso, vaječný žloutek, mléčné výrobky, obiloviny, celozrnná mouka, ústřice, luštěniny, apod. [39, 40]

2.4.2 Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity

Jsou dva okruhy metod, kterými se dá antioxidační aktivita látek stanovit. Jsou to chemické nebo fyzikální metody. Chemické metody jsou založeny na přímé reakci mezi testovaným vzorkem a volnými radikály, doprovázené vznikem barevných produktů. Intenzita jejich zbarvení se měří prostřednictvím spektrofotometru. Celkový obsah antioxidačních látek se získá z rozdílu absorbancí naměřeného vzorku a slepého vzorku. Fyzikální metody sledují změny fyzikálních vlastností, které doprovázejí chemické změny [50, 51].

Metoda podle Kanedy

Zde se používá jako radikál tmavě fialový krystalický prášek DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

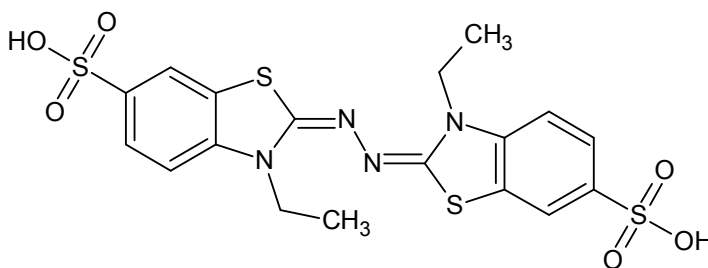


Struktura DPPH

Reakcí testované látky s radikálem DPPH dochází k redukci za vzniku DPPH – H (difenylpicrylhydrazin). Reakce se měří spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm. Hodnoty absorbancí jsou zaznamenávány po uplynutí určitého času, nebo jsou zaznamenávány kineticky, tzn. po určitou dobu v přesně daných intervalech (absorbance je například zaznamenávána po dobu 6 minut každých 10 vteřin). Reakci lze sledovat i prostřednictvím HPLC, kdy se sleduje plocha píku, která odpovídá DPPH [50, 51].

TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*)

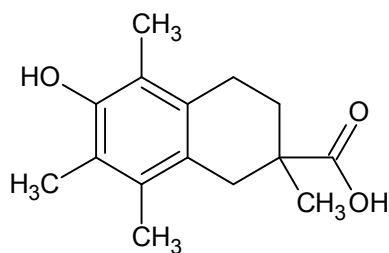
Tato metoda využívá ABTS (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothianizol-6-sulfonát)).



Struktura ABTS

Reakce je založena na schopnosti vzorku zhášet kation – radikál $ABTS^{\cdot+}$. Zhášení se sleduje spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm. Rychlost odbarvení radikálu po redukci je úměrná antioxidační stabilitě testovaného vzorku.

Hodnocení antioxidační aktivity se provádí pomocí antiradikálové aktivity syntetické látky Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-hydroxylová kyselina).

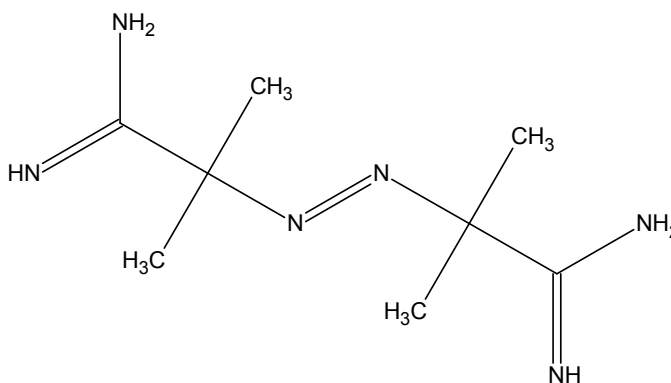


Struktura Troloxu

TEAC je koncentrace (mmol) Troloxu, která vykazuje antioxidační kapacitu, která odpovídá testované látce o koncentraci $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Tato metoda je vhodná pro testování vzorků různého původu a i pro směsné vzorky [50, 51].

Metoda ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*)

U této metody je sledována schopnost testované látky zastavit nebo alespoň zpomalit radikálovou reakci. Je hodnocen úbytek fluorescence β – fykoerytrinu (β – PE) po té, co přijde do kontaktu s volnými kyslíkovými radikály. Volné kyslíkové radikály jsou antioxidanty vychytávány a tím dochází k úbytku tvorby β – PE. Mohou se generovat peroxylové radikály za použití AAPH [2,2'-azobis(isobutyrimidamid)-dihydrochlorid] nebo hydroxylové radikály za použití systému $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$.



Struktura AAPH

Metoda FRAP (*Ferric reducing antioxidant potential*)

Antioxidanty obsažené ve vzorku redukují železitý komplex například Fe^{3+} - 2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin) (Fe^{3+} -TPTZ). Při vlnové délce 593 nm dochází k nárůstu absorbance, která odpovídá množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ, což odpovídá antioxidační aktivitě vzorku. Fe^{3+} -TPTZ je prakticky bezbarvý a po redukcí na Fe^{2+} -TPTZ vznikají barevné produkty [50, 51].

EPR spektroskopie (*Electron paramagnetic resonance*)

EPR je magnetická rezonanční metoda vhodná pro detekci koncentrací atomů, které mají lichý počet elektronů. Tato metoda je založena na měření absorpce elektromagnetického záření, způsobeného spinovou rezonancí nespárovaných elektronů v magnetickém poli. Metoda je velmi citlivá, citlivější než například NMR spektroskopie (*Nuclear magnetic resonance*). Lze měřit látky s koncentrací až $10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ [52].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité vzorky

Testované vzorky bílého, červeného a černého rybízu pochází z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka z roku 2013. Jednotlivé odrůdy byly sbírány z KEŘ a V, což je keř střížený do tvaru V.

Z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byly testovány odrůdy bílého rybízu – Blanka, Jantar, Olin, Orion, Primus a Viktorie, z odrůd červeného rybízu – Detvan, Jesan, Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, Losan, NŠLS 11/6, Rovada, Rubigo, Stansa a Tatran a z odrůd černých rybízů – Ben Conan, Ben Gairn, Ben Hope, Ben Lomond, Ceres, Černý Neguš, Démon, Fokus Lota, Morávia, Ometa a Triton.

Od pěstitele Vondráčka byly testovány z odrůd bílého rybízu Blanka, Olin, Primus a Viktorie, z odrůd červeného rybízu Jesan, Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, NŠLS 11/6, Ronda, Rovada, Rubigo, Stansa, Tatran a z odrůd černého rybízu Ben Conan, Ben Gairn, Ben Hope, Ben Lomond, Ceres, Démon, Fokus, Lota, Morávia, Ometa, Ruben.

3.2 Laboratorní vybavení

Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo (kádinky, zkumavky, odměrné baňky atd.)
- Stojan na zkumavky
- Büchnerova nálevka
- Tlustostěnná kuželová baňka
- Filtrační papír KA0 (papírny Pernštejn, ČR)
- Mikrofiltry (Membrane Solutions)
- Mikrostříkačka (Rheodyne, USA)
- Kyvety
- Centrifugační kyvety
- Automatická pipeta 200 μ l, 1000 μ l (Biohit, Finsko)
- Nedělené pipety (5 ml)

Přístroje

- Analytické váhy (Boeco, Německo)

- Analytické váhy HR – 120 – EC (A&D Instruments LTD, Japonsko)
- Ruční homogenizátor Ultra Turrax T18 Basic (IKA, Německo)
- Magnetická míchačka (Lavat, ČR)
- Vývěva KNF LAB Laboport (Labicom, ČR)
- Přístroj na přípravu deionizované vody (Labicom, ČR)
- Centrifuga T 52.1 (MLW, Německo)
- Ultrazvuková lázeň NETZ (Kraintek, SR)
- Chladnička a lednička (Gorenje, Slovinsko)
- Chladnička a lednička (Elektrolux, Švédsko)
- Chladnička a lednička (Zanussi, Švédsko)
- pH metr (Monokrystaly s.r.o., ČR)
- Vortex (TTS 2 Yellow line, USA)
- Spektrofotometr Helios Delta (Spectronic Unicam, USA)
- HPLC přístroj (Waters, USA)
 - Čerpadlo 1515 Isocratic HPLC pump (Waters, USA)
 - Degazer (Waters In – Line Degasser AF, USA)
 - UV detektor 2487 Dual λ Absorbance Detector (Waters, USA)
- Počítač (DELL, USA), software Breeze

Chemikálie

- Dihydrogenfosforečnan draselný, KH_2PO_4 , p.a. (Lachema a.s., ČR)
- Kyselina chlorovodíková, HCl, 35 % (Lach – ner s.r.o., ČR)
- Chlorid draselný, NaCl, p.a. (Lachema, ČR)
- Trihydrát octanu sodného, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, p.a. (Lachema a.s., ČR)
- Folin – Ciocaltauvovo činidlo (Penta, ČR)
- Bezvodý uhličitan sodný, Na_2CO_3 (Lachema a.s., ČR)
- Kyselina gallová, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$, 97,5 – 102,5 % (Penta, ČR)
- 2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl (DPPH), $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ (Sigma – Aldrich, Německo)
- Methanol, CH_3OH (pro HPLC, Sigma – Aldrich, Německo)
- Methanol, CH_3OH (pro HPLC, Scharlau Chemie S.A., Španělsko)
- Kyselina L – askorbová, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (Sigma Aldrich, Německo)
- Kyselina metafosforečná, HPO_3 , 56 – 60% (VWR Prolabo chemicals, Belgie)

3.3 Stanovení celkových polyfenolů pomocí Folin – Ciocalteuova činidla

Příprava roztoků

7,5% roztok uhličitanu sodného

7,5 g uhličitanu sodného bylo rozpuštěno v destilované vodě a kvantitativně převedeno do 100ml odměrné baňky a destilovanou vodou doplněno po rysku.

Zásobní roztok kyseliny gallové

Zásobní roztok kyseliny gallové o koncentraci $1000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,025 g kyseliny gallové v destilované vodě a poté kvantitativně převeden do 25ml odměrné baňky.

Příprava vzorků

Bylo naváženo 4,7 g bobulí rybízu s přesností na 4 desetinná místa. Navážka byla zhomogenizována homogenizátorem a vzniklá směs byla převedena do 25ml odměrné baňky a doplněna destilovanou vodou po rysku a ponechána po dobu 12 hodin v lednici. Vzniklá suspenze byla odstředěna na laboratorní centrifuze při rychlosti $5000 \text{ otáček}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 1 minuty. Poté byla suspenze přefiltrována přes Büchnerovu nálevku za pomoci vakua.

Kalibrační křivka

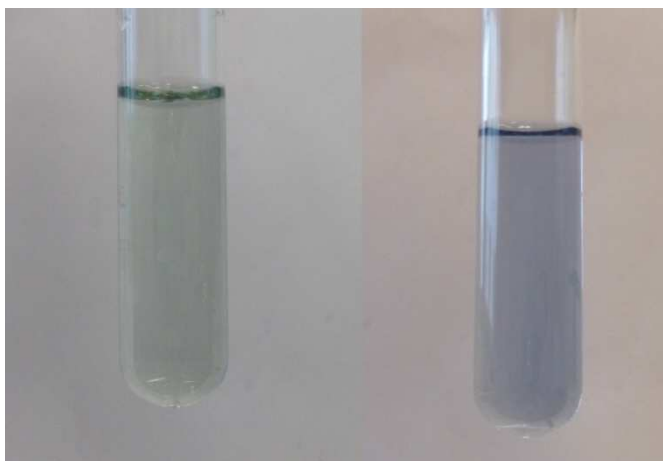
Pro přípravu kalibračních standardů bylo napipetováno do pěti 10ml odměrných baněk postupně 0,125; 0,25; 0,5; 1 a 2 ml zásobního roztoku kyseliny gallové, což odpovídalo koncentracím $12,5$; 25 ; 50 ; 100 a $200 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny gallové. Pro přípravu kalibračních roztoků bylo do zkumavek napipetováno 0,1 ml Folin – Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml jednotlivých standardů. Obsah zkumavek byl důkladně promíchán na vortexu a ponechán 5 minut stát. Poté byl ke směsi přidán 1ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a obsah byl opět promíchán. Po 2 hodinách stání byla u těchto směsí při vlnové délce 750 nm změřena absorbance.

Vlastní měření

Do třech zkumavek bylo napipetováno 0,1 ml Folin – Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml ředěného vzorku. U bílého rybízu byl vzorek ředěn destilovanou vodou dvakrát (voda:vzorek \rightarrow 1:1), u červeného rybízu byl vzorek ředěn

tříkrát (2:1) a u černého rybízu byl vzorek ředěn desetkrát (9:1). Vzniklá suspenze byla promíchána na vortexu. Po 5 minutách stání byl k suspenzi přidán 1ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a obsah byl opět promíchán. Po 2 hodinách stání byly roztoky přelity do kyvet a na spektrofotometru (obrázek 2) u nich byla změřena absorbance při vlnové délce 750 nm. Blank byl připraven stejným postupem, pouze objem přidaného vzorku byl nahrazen destilovanou vodou.

Každý vzorek byl stanoven třikrát a koncentrace polyfenolů byla vypočtena z regresní rovnice kalibrační závislosti.



Obrázek 1: Roztok pro stanovení celkových polyfenolů. Na levé straně obrázku je roztok ihned po přípravě, kde zatím ještě nedošlo k reakci vzorku černého rybízu s Foulin – Ciocaltauovým činidlem. Na pravé straně roztok po 2 hodinách stání, těsně před spektrofotometrickým stanovením, kde došlo ke změně zbarvení z důvodu reakce vzorku černého rybízu s Foulin – Ciocaltauovým činidlem.



Obrázek 2: Spektrofotometr Helios Delta

3.3.1 Statistické zpracování

Hodnocení hrubých chyb:

Pro malý soubor naměřených hodnot se používá statistického vyhodnocení podle Dean – Dixona.

Výpočet rozpětí souboru:

$$R = x_{\max} - x_{\min} \quad (1)$$

x_{\max} nejvyšší naměřený výsledek

x_{\min} nejnižší naměřený výsledek

Test odlehlosti – Q-test

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (2)$$

Vypočítané hodnoty Q_1 a Q_n se porovnají s kritickou hodnotou $Q(n, \alpha)$. Bude-li Q_1 větší než tabelovaná hodnota, znamená to, že nejnižší hodnota je zatížena hrubou chybou a je ji nutné ze souboru vyloučit. Totéž platí pro hodnotu Q_n .

Hodnocení přesnosti měření – náhodné chyby:

Směrodatná odchylka s

$$s = k_n \cdot R \quad (3)$$

k_n Dean-Dixonův koeficient

Směrodatná odchylka průměru $s_{\bar{x}}$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

n počet měření

Relativní směrodatná odchylka s_r

$$s_r [\%] = \frac{s}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (5)$$

\bar{X} aritmetický průměr

Interval spolehlivosti $L_{1,2}$ je rozmezí hodnot, v němž s určitou pravděpodobností leží správný výsledek.

$$L_{1,2} = \bar{X} \pm K_n \cdot R \quad (6)$$

K_nkritická hodnota Lordova rozdělení pro zvolenou hladinu významnosti α

L_1, L_2krajní meze intervalu spolehlivosti

Testování shodnosti výsledků:

Pro malé soubory dat ($n < 7$) se stejným počtem paralelních stanovení v souborech A i B, se využívá Lordova testu.

$$u = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{R_A + R_B} \quad (7)$$

3.4 Stanovení antokyanů v plodech rybízu pH diferenciální metodou

Příprava roztoků

0,025 M pufr chloridu draselného o pH 1,0

Zhruba 1,86 g chloridu draselného bylo rozpuštěno v 980 ml destilované vody. Po úpravě pH pomocí koncentrované HCl na pH 1,0 byl roztok převeden do 500ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku.

0,4M roztok octanu sodného o pH 4,5

Navážka 54,43 g octanu sodného bylo rozpuštěno v 960 ml destilované vody. U vzniklého roztoku bylo pH prostřednictvím koncentrované HCl upraveno na pH 4,5. Následně byl roztok převeden do 500ml odměrné baňky a po rysku doplněn destilovanou vodou.

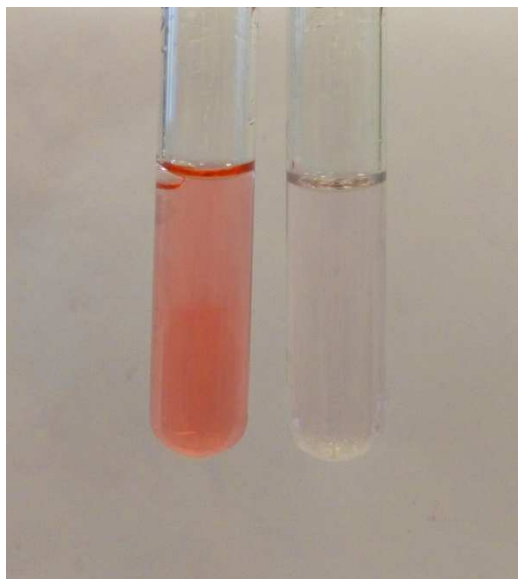
Příprava vzorku

Příprava vzorku viz kapitola 3.3

Vlastní měření

Pro každou odrůdu bylo použito 6 zkumavek. U bílých rybízů bylo do prvních třech baněk napipetováno 2,5 ml pufru o pH 1 a 0,5 ml vzorku a do dalších třech zkumavek 2,5 ml pufru o pH 4,5 a 0,5 ml vzorku. U červených rybízů bylo

do zkumavek dávkováno 2,7 ml pufrů a 0,3 ml vzorku. A u černých rybízů bylo k 2,9 ml pufru pipetováno 0,1 ml vzorku. Obsah zkumavek byl promíchán na vortexu a proměřen na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.



Obrázek 3: Roztoky připravené pro spektrofotometrické stanovení antokyanů. Na levé straně obrázku byl připravený roztok z 0,1 ml vzorku černého rybízu v pufru o pH 1 a na pravé straně obrázku 0,1 ml vzorku černého rybízu v pufru o pH 4,5

Vlastní stanovení celkových antokyanových barviv v jednotlivých plodech rybízu

Z naměřených absorbancí byla v plodech rybízu vypočtena koncentrace monomerního pigmentu kyanidin 3-glukosidu. Výsledné koncentrace byly vyjádřeny v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, přepočteny na navážku původního vzorku a vyjádřeny v $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Výsledná absorbance (A) ředěných roztoků

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (8)$$

Koncentrace celkových monomerních antokyanů

$$c_{\text{MA}} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\varepsilon \cdot l} [\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}] \quad (9)$$

c_{MA} výsledná koncentrace monomerního pigmentu

A absorbance zředěného vzorku

M molekulová hmotnost antokyanu kyanidin 3-glukosid

F faktor zředění

ε molární extinkční koeficient pro dominantní antokyan [$\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$]

l délka kyvety [cm]

Přepočet koncentrace monomerního antokyanu na 100 g plodů

$$c = \frac{V \cdot 0,1 \cdot c_{MA}}{m} [\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}] \quad (10)$$

c celkový obsah monomerního antokyanu ve 100 g plodů

c_{MA} koncentrace monomerního antokyanu vypočtena podle vztahu [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

V objem šťávy [ml]

m hmotnost navážky plodů [g]

3.5 Stanovení vitamínu C prostřednictvím HPLC

Příprava roztoků:

Mobilní fáze – dihydrogenfosforečnan draselný : metanol (9 : 1)

Navážka 13,6025 g KH_2PO_4 byla rozpuštěna v 900 ml redestilované vody a následně bylo přidáno 100 ml metanolu. Roztok byl odplyněn v ultrazvuku.

Roztok 2% kyseliny metafosforečné

Navážka 17 g 57 - 60% kyseliny metafosforečné, byla rozpuštěna ve 100 ml deionizované vody a zahřívána na zahřívadle do úplného rozpuštění. Po rozpuštění a ochlazení byl roztok převeden do 500ml odměrné baňky a doplněn deionizovanou vodou po rysku.

Standardní roztok kyseliny askorbové

0,0250 g kyseliny askorbové bylo rozpuštěno v 25 ml 2% roztoku kyseliny metafosforečné, výsledná koncentrace roztoku byla $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Roztok byl uchován v lednici.

Kalibrační křivka

Ze zásobného standardního roztoku kyseliny askorbové byly připraveny roztoky o koncentraci 1, 10 a $40 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, tedy do třech 10ml odměrných baněk bylo napipetováno 0,01 ml, 0,1 ml a 0,4 ml roztoku kyseliny askorbové a doplněny 2% kyselinou

metafosforečnou po rysku. Vytvořené roztoky byly skladovány před samotným měřením v ledničce.

Příprava vzorku na analýzu

Z každé odrůdy bylo třikrát naváženo 4,7 g bobulí rybízu s přesností na 4 desetinná místa. Do vzorku bylo přidáno malé množství kyseliny metafosforečné a vzorek byl zhomogenizován homogenizátorem a kvantitativně převeden do 25ml odměrné baňky a kyselinou metafosforečnou doplněn po rysku. Roztok byl přefiltrován přes Büchnerovu nálevku. Přefiltrovaný roztok byl ihned uskladněn v lednici a vyndáván vždy bezprostředně před samotným nástřikem.

Dle potřeby byl filtrát zředěn, přefiltrován přes mikrofiltr a nastříknut do HPLC (obrázek 7).

Chromatografické podmínky

Měření bylo provedeno na koloně Gemini C18 s rozměry 150x4,6 mm a průtokem 5 μm . Průtok mobilní fáze byl nastaven na 1 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Termostat byl u všech analýz nastaven na 30 $^{\circ}\text{C}$. Velikost nástřiku byla 10 μl . UV detektor byl nastaven na vlnovou délku 254 nm.



Obrázek 4: Kapalinový chromatograf Waters

Stanovení celkového množství vitamínu C v plodech rybízu

Z retenčních časů jednotlivých píků kalibračních roztoků byla z chromatografického záznamu sestavena kalibrační křivka a rovnicí regrese. Ze tří nástřiků konkrétního vzorku byla vypočtena průměrná plocha píku kyseliny askorbové a pomocí rovnice regrese kalibrační křivky byla stanovena průměrná koncentrace

kyseliny askorbové v daném roztoku (v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Tato hodnota byla přepočtena na navážku původního vzorku a vyjádřena v mg na 100 g plodů:

$$c = \frac{x \cdot V \cdot F \cdot 0,1}{m} [\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}] \quad (11)$$

c.....koncentrace vitamínu C přepočtena na 100 g plodů

x.....koncentrace vitamínu C odečtena z kalibrační křivky [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]

V.....objem ve kterém byla rozpuštěna navážka vzorku [ml]

Ffaktor zředění

m.....navážka plodů pro daný vzorek [g]

3.6 Stanovení antioxidační kapacity v plodech rybízu metodou DPPH

Příprava roztoků:

Příprava standardního roztoku volného radikálu DPPH

1,9 mg volného radikálu DPPH bylo rozpuštěno v metanolu, kvantitativně převedena do 50 ml odměrné baňky a doplněna methanolem po značku. Vzniklý roztok byl uchováván v lednici.

Příprava vzorku

Bylo naváženo 4,7 g plodů rybízu a přesností na čtyři desetinná místa. K naváženým bobulím bylo přidáno malé množství metanolu a poté se obsah zhomogenizoval na homogenizátoru. Vzniklý extrakt byl převeden do 50ml odměrné baňky a doplněn po rysku a následně přefiltrován přes Büchnerovu nálevku.

Roztok z bílého a červeného rybízu byl methanolem zředěn desetkrát a roztok černého rybízu třicetkrát. 1,5 ml zředěného vzorku bylo napipetováno do kyvety a k tomuto objemu bylo přidáno 1,5 ml roztoku radikálu DPPH.

Měření absorbance vzorků

Absorbance připravených vzorků byla měřena pomocí UV/VIS spektrofotometru ihned po přidání roztoku radikálu DPPH. Po dobu 6 minut byla každých 10 s (včetně v čase 0 s), při vlnové délce 517 nm, zaznamenávána hodnota absorbance. Jako blank byl použit metanol. Déle byl ještě připraven roztok 1,5 ml čistého metanolu s 1,5 ml volného radikálu DPPH, u kterého byla taky změřena absorbance (A_0), které byla potřebná k výpočtu zhášecí aktivity.

Stanovení celkové antioxidační kapacity v plodech rybízu

Z naměřených absorbancí byl sestaven graf závislosti poklesu absorbance na čase a vypočtena zhášecí aktivita:

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \text{ [%]}$$

(12)

X..... zhášecí aktivita [%]

A₀ absorbance roztoku bez přítomnosti antioxidantu

A₁ absorbance roztoku v přítomnosti antioxidantu

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Stanovení polyfenolů

Polyfenoly v odrůdách bílých, červených a černých rybízů byly stanovovány podle metody uvedené v kapitole 3.3.

4.1.1 Stanovení polyfenolů u odrůd bílých rybízů

Celkem bylo analyzováno 6 odrůd bílých rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. V literatuře bylo uvedeno, že množství polyfenolů v bílých rybízích by se mělo pohybovat v rozmezí 38,9 – 51,9 mg·100 g⁻¹.

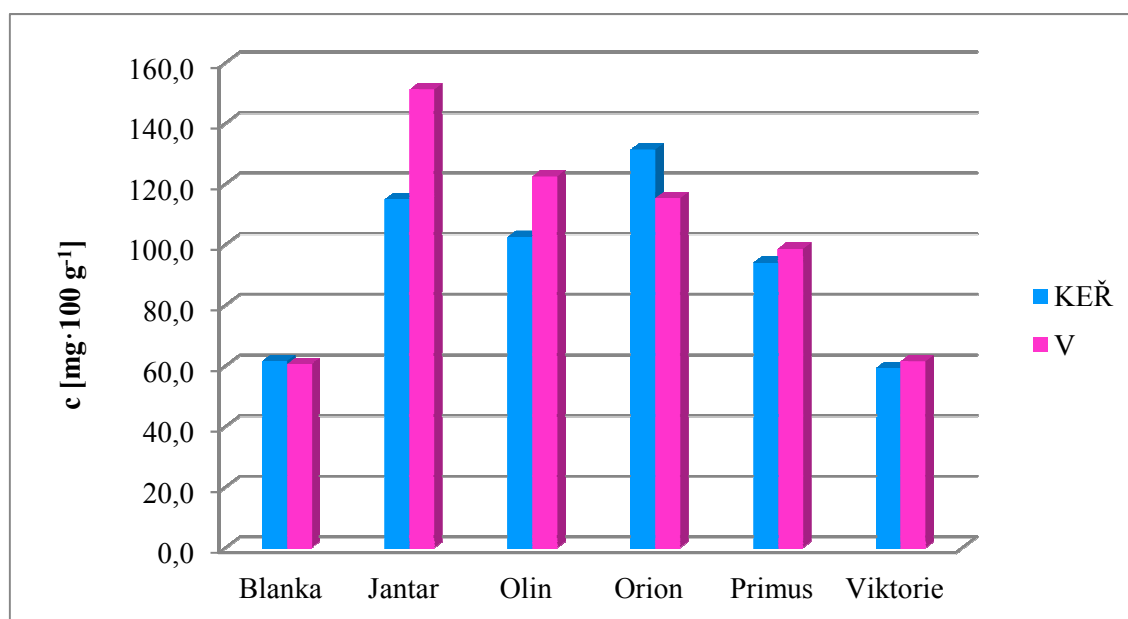
4.1.1.1 Stanovení polyfenolů u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 5: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Blanka – KEŘ	0,239	61,5 ± 4,0
Blanka – V	0,237	60,5 ± 3,2
Jantar – KEŘ	0,432	114,9 ± 5,5
Jantar – V	0,563	151,1 ± 3,6
Olin - KEŘ	0,388	102,5 ± 4,8
Olin - V	0,463	122,4 ± 2,4
Orion - KEŘ	0,494	131,3 ± 3,3
Orion - V	0,432	115,3 ± 4,1
Primus - KEŘ	0,352	94,0 ± 3,6
Primus - V	0,377	98,6 ± 4,2
Viktorie - KEŘ	0,227	58,2 ± 5,8
Viktorie - V	0,243	61,4 ± 6,2

Koncentrace polyfenolů v odrůdách bílých rybízů (tabulka 5, graf 1) z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovala od 58,2 do 151,1 mg·100 g⁻¹. Nejnižší koncentrace byla naměřena u odrůdy Viktorie KEŘ a nejvyšší u Jantar V. U odrůd Blanka a Viktorie byly obsahy polyfenolů prakticky stejné. Vyšší obsah polyfenolů v modifikaci V se nacházel v odrůdách Jantar, Olin a Primus. Pouze u odrůdy Orion byla větší koncentrace v modifikaci KEŘ.

Naměřené hodnoty byly vyšší, než hodnoty uvedené v literatuře. Možným důvodem těchto odchylek mohly být odlišné klimatické podmínky, stanoviště kde byl rybíz pěstován, stupeň zralosti plodů nebo druh testované odrůdy.



Graf 1: Srovnání obsahů polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 6: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Blanka	0,418	výsledky jsou shodné
Jantar	12,032	výsledky nejsou shodné
Olin	8,220	výsledky nejsou shodné
Orion	6,537	výsledky nejsou shodné
Primus	1,761	výsledky jsou shodné
Viktorie	0,557	výsledky jsou shodné

Testem shodnosti výsledků koncentrací pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla prokázána shoda u odrůd Blanka, Primus a Viktorie (tabulka 6). Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech bílých rybízů.

4.1.1.2 Stanovení polyfenolů u odrůd bílých rybízů pěstitele Vondráčka

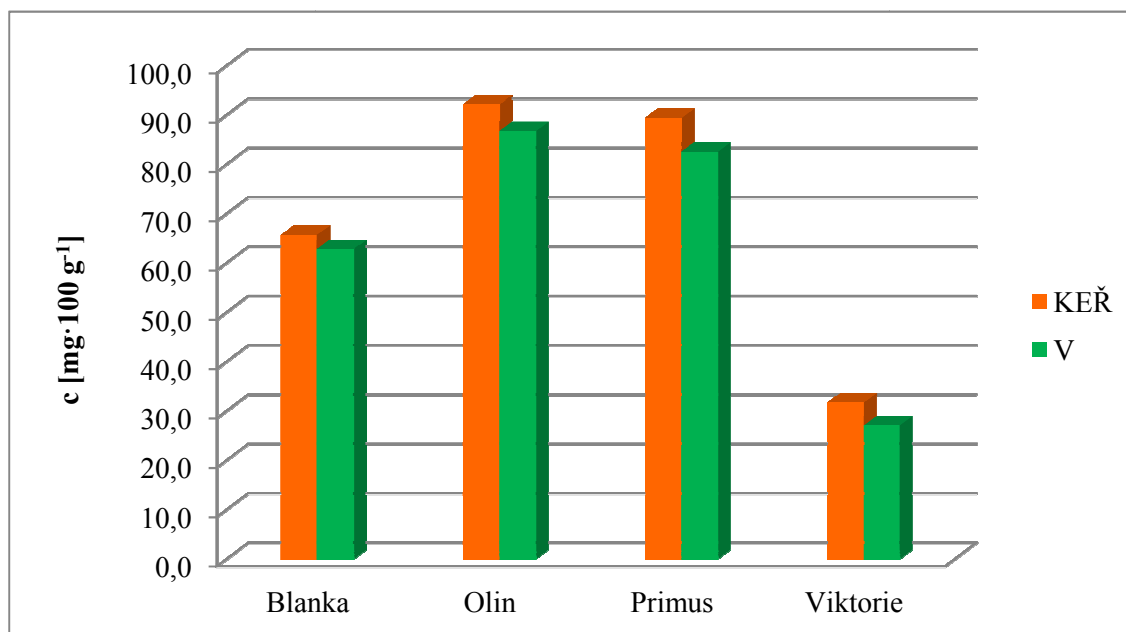
Tabulka 7: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Blanka – KEŘ	0,254	65,7 ± 4,5
Blanka – V	0,242	62,8 ± 3,0
Olin – KEŘ	0,349	92,1 ± 5,1
Olin – V	0,327	86,7 ± 3,1
Primus – KEŘ	0,334	89,4 ± 3,9
Primus – V	0,314	82,6 ± 4,2
Viktorie – KEŘ	0,128	31,7 ± 2,8
Viktorie – V	0,110	27,1 ± 5,7

Koncentrace polyfenolů naměřená u odrůd bílých rybízů, dodaných od pěstitele Vondráčka (tabulka 7, graf 2), byla nejnižší u odrůd Viktorie KEŘ 31,726 mg·100 g⁻¹ a Viktorie V 27,1 mg·100 g⁻¹ a nejvyšší u odrůd Olin KEŘ 92,1 mg·100 g⁻¹ a Primus

KEŘ 89,4 mg·100 g⁻¹. Naměřené hodnoty byly vyšší, než uvádí literatura a u odrůd Viktorie naopak nižší. Možným důvodem těchto odchylek mohly být odlišné klimatické podmínky, stanoviště, kde byl rybíz pěstován, stupeň zralosti plodů nebo druh testované odrůdy.

Koncentrace byly u všech čtyř odrůd vyšší v modifikacích KEŘ.



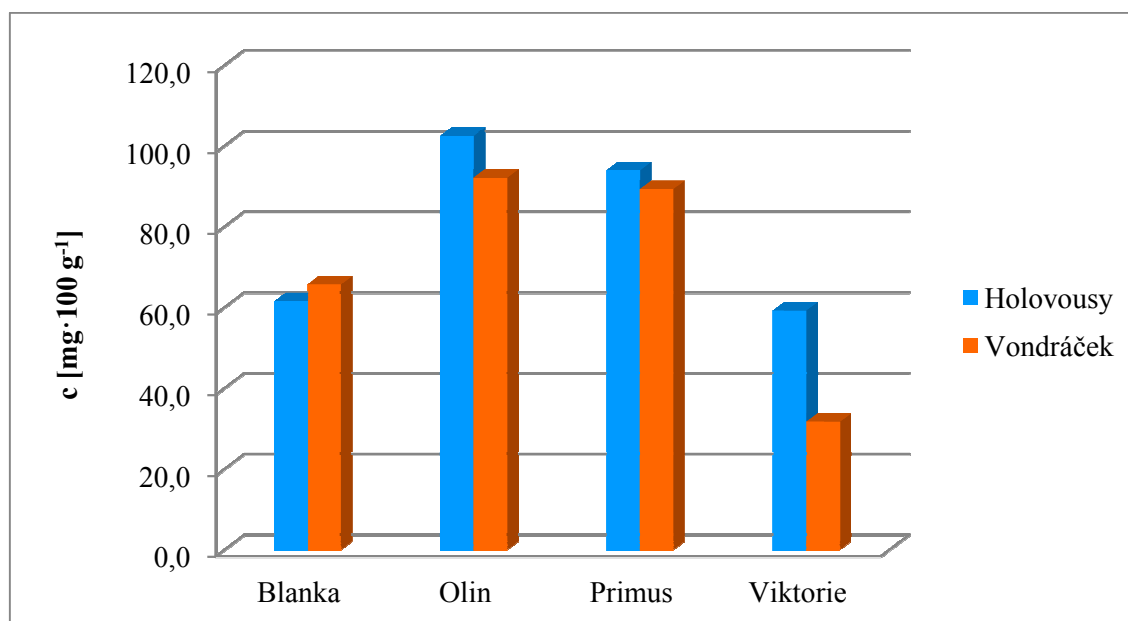
Graf 2: Srovnání obsahu polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka

Tabulka 8: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů od pěstitele Vondráčka a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	1,174	výsledky jsou shodné
Olin	1,988	výsledky jsou shodné
Primus	2,553	výsledky jsou shodné
Viktorie	1,635	výsledky jsou shodné

Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla mezi bobulemi KEŘ a V od pěstitele Vondráčka prokázána shodnost výsledků naměřených polyfenolů u všech čtyř odrůd (tabulka 8). Z těchto výsledků lze odvodit, že tvar rostliny neměl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech bílých rybízů.

4.1.1.3 Porovnání obsahu polyfenolů u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



Graf 3: Srovnání obsahů polyfenolů v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů

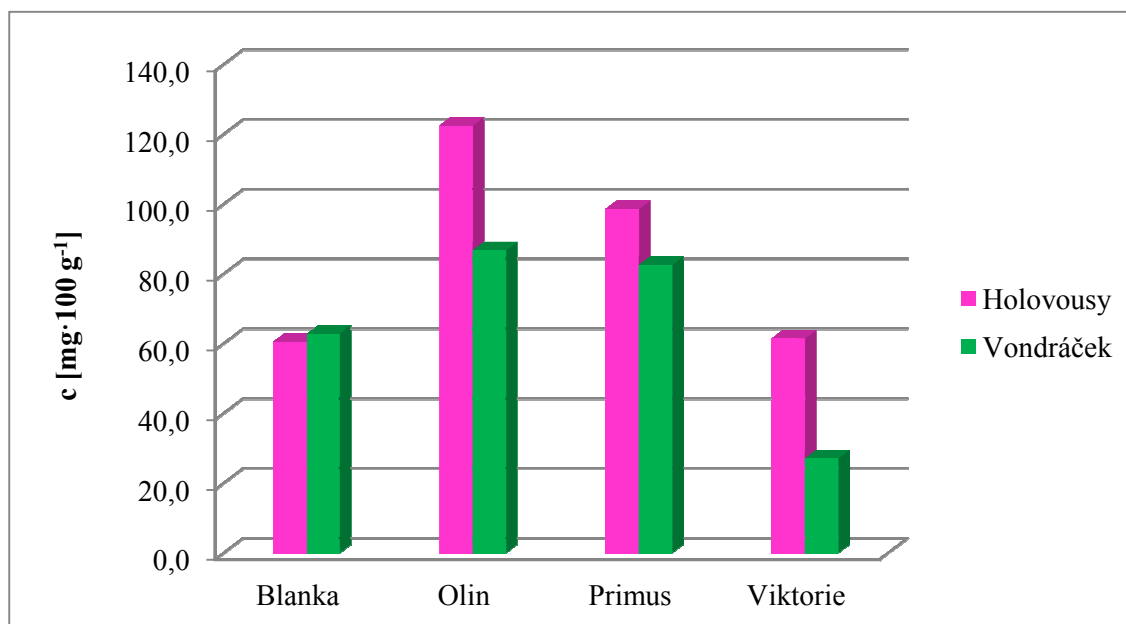
Vyšší koncentrace polyfenolů byly u odrůd Olin, Primus a Viktorie z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 3). Pouze u odrůdy Blanka byla vyšší koncentrace v bobulích pěstitele Vondráčka.

Tabulka 9: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	1,472	výsledky jsou shodné
Olin	3,490	výsledky nejsou shodné
Primus	1,817	výsledky jsou shodné
Viktorie	9,577	výsledky nejsou shodné

Lordův test pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byl vypočten i pro porovnání modifikace KEŘ bílých rybízů mezi Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy s.r.o. a pěstitelem Vondráčkem (tabulka 9). Shodnost

výsledků byla prokázána u odrůd Blanka a Primus. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně odvodit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.



Graf 4: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů

Porovnání bylo provedeno i mezi Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy s.r.o. a pěstitelem Vondráčkem pro vzorky bílých rybízů modifikace V (graf 4). Stejně jako u modifikace KERĚ, byly vyšší koncentrace polyfenolů u odrůd Olin, Primus a Viktorie. U odrůdy Blanka, byla koncentrace nepatrně vyšší v bobulích pěstitele Vondráčka.

Tabulka 10: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	1,094	výsledky jsou shodné
Olin	19,415	výsledky nejsou shodné
Primus	5,774	výsledky nejsou shodné
Viktorie	8,669	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti výsledů pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) stanovil shodu pouze u odrůdy Blanka (tabulka 10). Nejvyšší hodnota Lordova testu vyšla u odrůdy Olin $u = 19,415$, rozdílnost mezi výsledky činila 29 %. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.

4.1.2 Stanovení polyfenolů u odrůd červených rybízů

Celkem bylo analyzováno 12 odrůd červených rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Podle literatury by se měl obsah polyfenolů v červeném rybízu pohybovat okolo hodnoty $267,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [54].

4.1.2.1 Stanovení polyfenolů u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

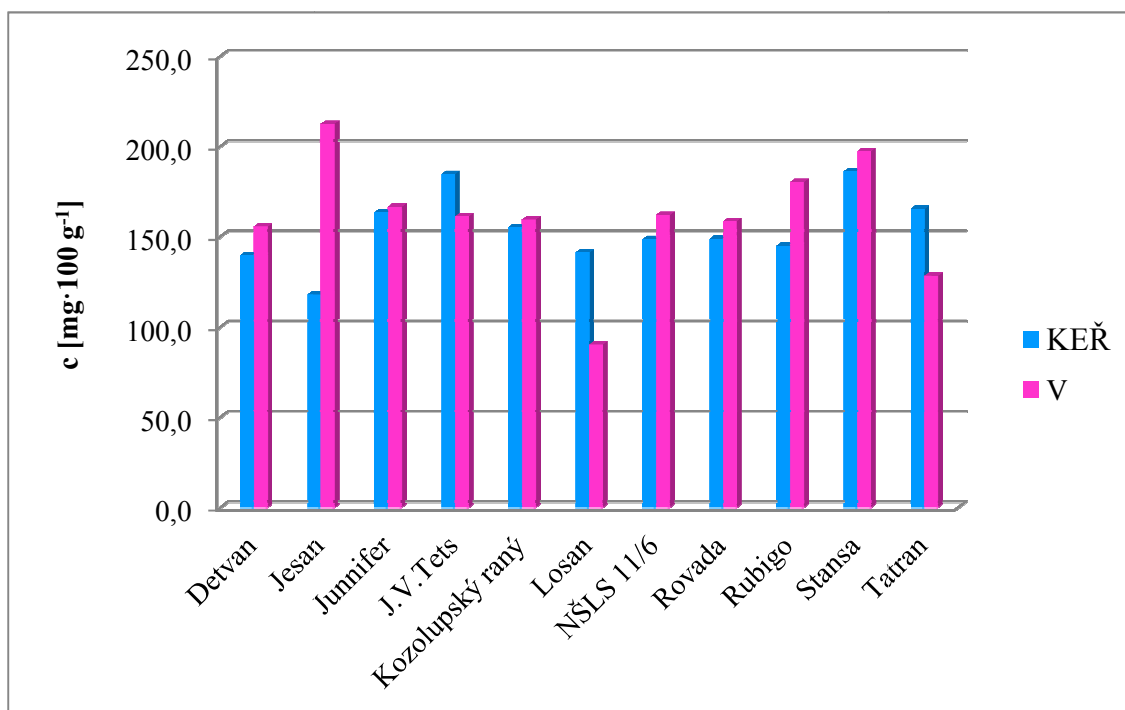
Tabulka 11: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$]
Detvan – KEŘ	0,352	$139,7 \pm 3,6$
Detvan – V	0,390	$155,5 \pm 3,9$
Jesan – KEŘ	0,300	$117,9 \pm 5,3$
Jesan - V	0,525	$212,5 \pm 6,3$
Junnifer – KEŘ	0,418	$163,5 \pm 5,1$
Junnifer – V	0,410	$166,5 \pm 5,6$
J.V.Tets – KEŘ	0,457	$184,5 \pm 5,4$
J.V.Tets – V	0,402	$161,3 \pm 4,2$
Kozolupský raný – KEŘ	0,390	$155,3 \pm 4,9$
Kozolupský raný – V	0,401	$159,4 \pm 4,9$
Losan – KEŘ	0,356	$141,3 \pm 1,3$
Losan – V	0,233	$90,3 \pm 5,2$
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,371	$148,6 \pm 5,7$

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
NŠLS 11/6 – V	0,404	162,0 ± 4,1
Rovada – KEŘ	0,372	148,8 ± 3,9
Rovada – V	0,400	158,5 ± 6,0
Rubigo- KEŘ	0,366	144,9 ± 1,9
Rubigo – V	0,452	180,2 ± 3,5
Stansa – KEŘ	0,466	186,2 ± 3,7
Stansa – V	0,486	197,3 ± 6,5
Tatran – KEŘ	0,417	165,4 ± 6,2
Tatran – V	0,323	128,3 ± 4,1

Nejnižší koncentrace polyfenolů u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla stanovena u odrůdy Losan V 90,3 mg·100 g⁻¹ a nejvyšší u odrůdy Jesan V, kde hodnota činila 212,5 mg·100 g⁻¹ (tabulka 11, graf 5). Vyšší koncentrace polyfenolů byly u odrůd Detvan, Jesan, Junnifer, Kozolupský raný, NŠLS 11/6, Rovada, Rubigo, Stansa detekovány v modifikacích V. Vyšší koncentrace u bobulí KEŘ byly pouze u odrůd J.V.Tets, Losan, Tatran.

Množství stanovených polyfenolů bylo nižší než kolik uvádí literatura. Tyto odchylky mohly být způsobeny klimatickými podmínkami, stanovištěm, kde byl rybíz pěstován, typem zvolené odrůdy nebo stupněm zralosti plodů.



Graf 5: Srovnání obsahů polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 12: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů mezi KEŘ a V u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Detvan	6,300	výsledky nejsou shodné
Jesan	24,432	výsledky nejsou shodné
Junnifer	0,845	výsledky jsou shodné
J.V.Tets	7,291	výsledky nejsou shodné
Kozolupský raný	1,273	výsledky jsou shodné
Losan	23,586	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	4,084	výsledky nejsou shodné
Rovada	2,944	výsledky jsou shodné
Rubigo	19,923	výsledky nejsou shodné
Stansa	3,264	výsledky nejsou shodné
Tatran	10,789	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti výsledků pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) určil shodu u odrůd Junnifer, Kozolupský raný a Rovada (tabulka 12). Největší rozdíl Lordova testu

byl stanoven u odrůd Jesan $u = 24,432$, kde rozdíl mezi koncentracemi KEŘ a V činil 45 %, dále odrůdy Losan $u = 23,586$, rozdíl mezi koncentracemi 36 % a Rubigo $u = 19,923$, kde byl rozdíl mezi koncentracemi 20 %. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech červených rybízů.

4.1.2.2 Stanovení polyfenolů u odrůd červených rybízů od pěstitele Vondráčka

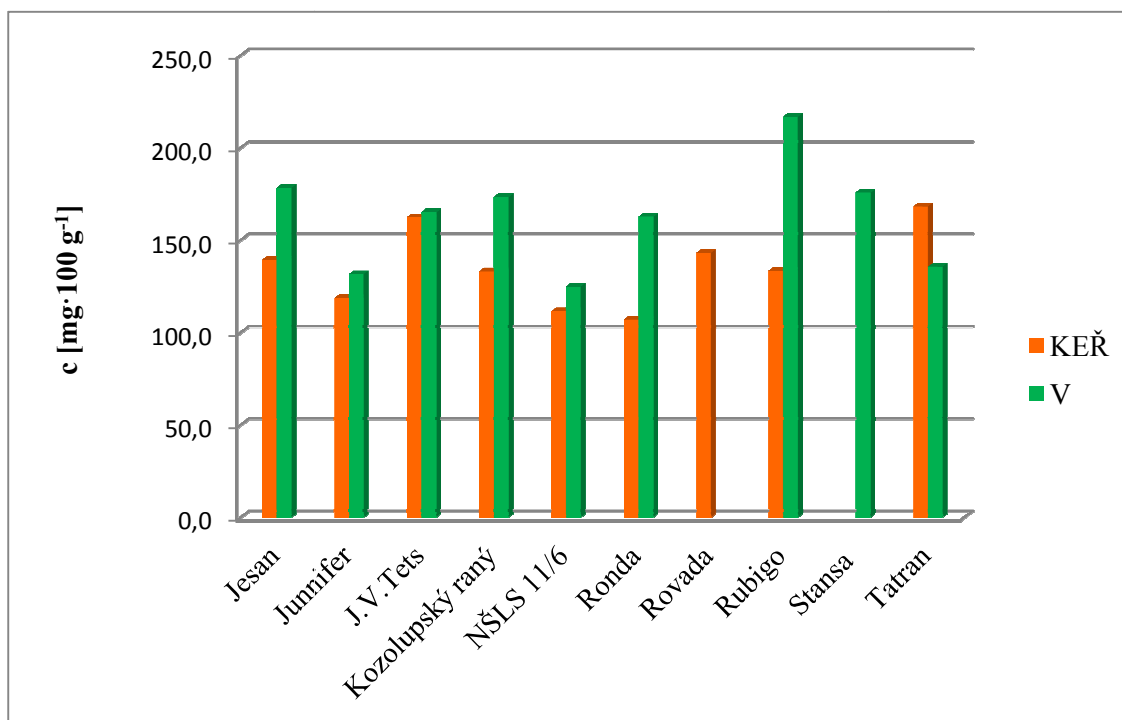
Tabulka 13: Naměřené hodnoty absorpance při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorpance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Jesan – KEŘ	0,350	139,3 ± 6,6
Jesan - V	0,446	178,3 ± 3,7
Junnifer – KEŘ	0,303	118,7 ± 4,3
Junnifer – V	0,334	131,6 ± 3,3
J.V.Tets – KEŘ	0,406	162,4 ± 6,0
J.V.Tets – V	0,413	165,1 ± 5,2
Kozolupský raný – KEŘ	0,338	133,1 ± 5,9
Kozolupský raný – V	0,438	173,3 ± 5,2
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,285	111,6 ± 5,4
NŠLS 11/6 – V	0,313	124,9 ± 4,2
Ronda – KEŘ	0,274	107,1 ± 4,8
Ronda – V	0,410	162,7 ± 4,1
Rovada – KEŘ	0,359	143,0 ± 4,2
Rubigo- KEŘ	0,333	133,5 ± 5,9
Rubigo – V	0,540	216,8 ± 5,2
Stansa – V	0,435	175,7 ± 3,6
Tatran – KEŘ	0,420	168,3 ± 6,9
Tatran –V	0,343	135,7 ± 6,5

Koncentrace polyfenolů u odrůd červených rybízů od pěstitele Vondráčka se pohybovaly od 107,1 do 216,8 mg·100 g⁻¹ (tabulka 13, graf 6). Nejnižší koncentrace byla zaznamenána u Rovada KEŘ a nejvyšší u Rubigo V. Vyšší koncentrace polyfenolů v modifikaci V byly u odrůd Jesan, Junifer, Kozolupský raný, NŠLS 11/6 a Ronda.

U odrůdy Tatran byla vyšší koncentrace u KEŘ. U odrůdy J.V.Tets byly koncentrace prakticky stejné.

Naměřené obsahy polyfenolů byly i u odrůd pěstitele Vondráčka nižší než hodnota uvedená v literatuře. Tyto odchylky byly nejspíše způsobeny rozdílnými klimatickými podmínkami a stanovištěm, kde byl rybíz pěstován, nebo také typem testované odrůdy či stupněm zralosti plodů.



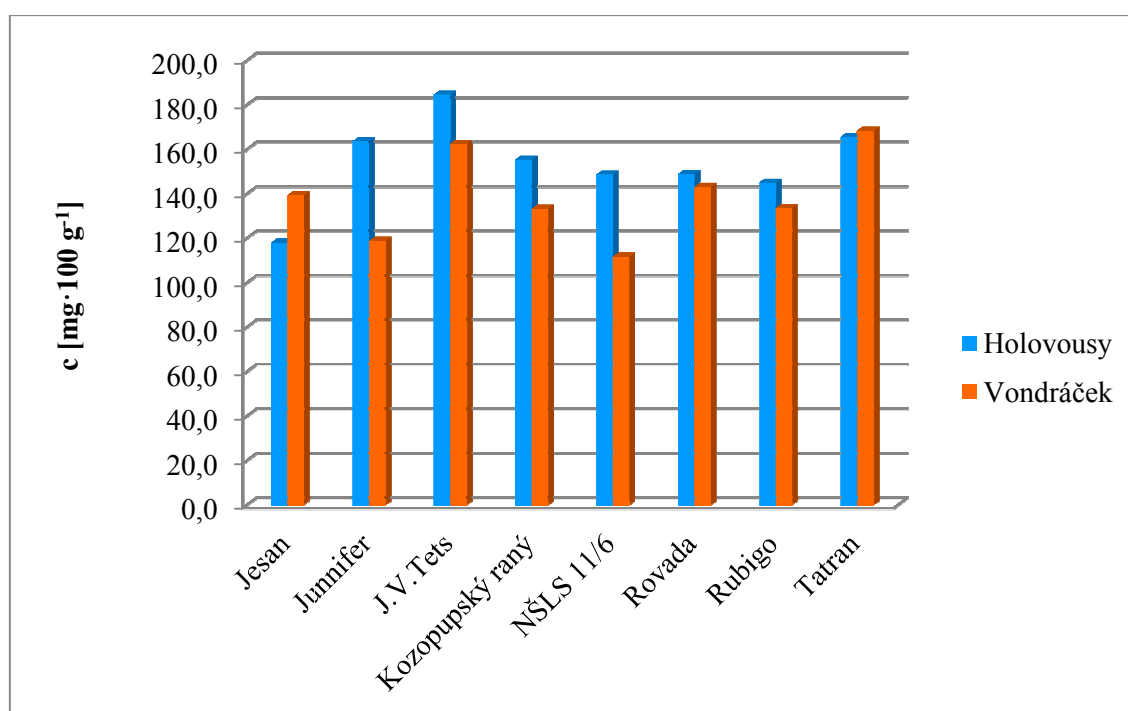
Graf 6: Srovnání obsahů polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka

Tabulka 14: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací a mezi KEŘ a V u odrůd červených rybízů od pěstitele Vondráčka a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	11,416	výsledky nejsou shodné
Junnifer	5,139	výsledky nejsou shodné
J.V.Tets	0,744	výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	10,850	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	4,164	výsledky nejsou shodné
Ronda	18,838	výsledky nejsou shodné
Rubigo	22,467	výsledky nejsou shodné
Tatran	7,318	výsledky nejsou shodné

U odrůdy J.V.Tets byla Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) prokázána shodnost výsledů mezi KEŘ a V (tabulka 14). Test shodnosti nemohl být vypočítán pro odrůdy Rovada a Stansa, protože bobule byly dodány pouze v jedné z modifikací. Nejvyšší neshodnost byla u odrůdy Rubigo $u = 22,457$. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech červených rybízů.

4.1.2.3 Porovnání obsahu polyfenolů u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



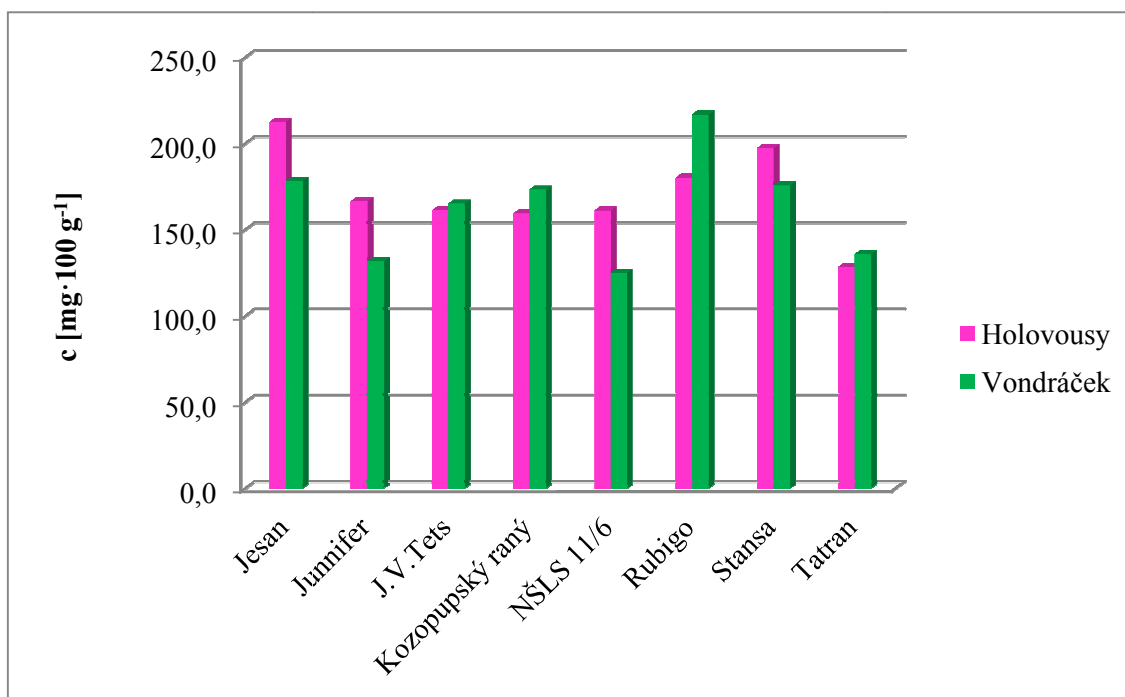
Graf 7: Srovnání obsahu polyfenolů v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů

Vyšší koncentrace polyfenolů byly u odrůd Junnifer, J.V. Tets, Kozolupský raný, NŠLS 11/6 a Rubigo v bobulích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 7). Pouze u odrůdy Jesan byla vyšší koncentrace u rybízu pěstitele Vondráčka.

Tabulka 15: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u KER z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	5,403	výsledky nejsou shodné
Junnifer	14,377	výsledky nejsou shodné
J.V.Tets	5,811	výsledky nejsou shodné
Kozolupský raný	6,201	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	9,979	výsledky nejsou shodné
Rovada	2,142	výsledky jsou shodné
Rubigo	4,409	výsledky nejsou shodné
Tatran	0,655	výsledky jsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi červenými rybízky z KER Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a červenými rybízky z KER pěstitele Vondráčka (tabulka 15) prokázal, že výsledky koncentrací polyfenolů jsou shodné u odrůd Rovada a Tatran. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.



Graf 8: Srovnání obsahů polyfenolů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů

U odrůd Jesan, Junnifer, NŠLS 11/6 a Stansa byly vyšší koncentrace polyfenolů ve vzorcích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 8). Naopak u odrůd Kozolupský raný a Rubigo byla vyšší koncentrace v rybízu od pěstitele Vondráčka.

Tabulka 16: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	10,221	výsledky nejsou shodné
Junnifer	11,865	výsledky nejsou shodné
J.V.Tets	1,238	výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	4,123	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	13,384	výsledky nejsou shodné
Rubigo	12,663	výsledky nejsou shodné
Stansa	6,379	výsledky nejsou shodné
Tatran	2,072	výsledky jsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byl vypočítán i pro modifikaci V červených rybízů Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a modifikaci V červených rybízů pěstitele Vondráčka (tabulka 16). Shoda byla prokázána pouze u dvou odrůd J.V.Tets a Tatran. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.

4.1.3 Stanovení polyfenolů u odrůd černých rybízů

Celkem bylo analyzováno 13 odrůd černých rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Podle literatury by se měl obsah polyfenolů v černém rybízu pohybovat v rozmezí 400 – 700 mg·100 g⁻¹ [54].

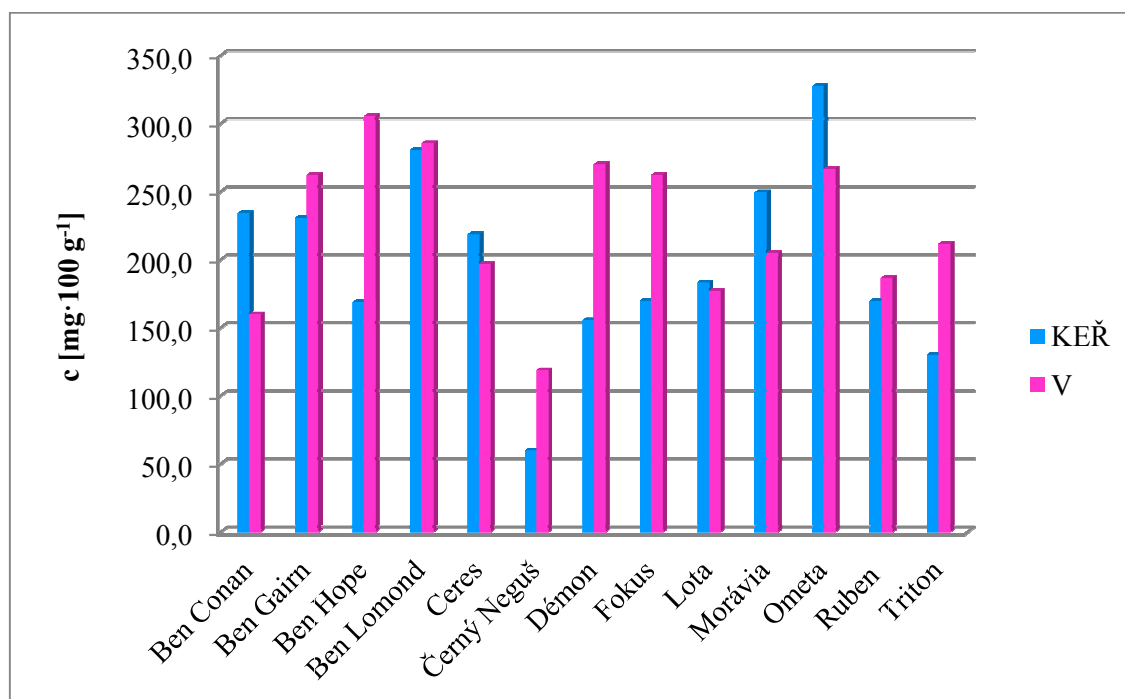
4.1.3.1 Stanovení polyfenolů u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 17: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Ben Conan – KEŘ	0,186	234,1 ± 4,3
Ben Conan – V	0,129	159,8 ± 3,7
Ben Gairn – KEŘ	0,181	230,5 ± 4,4
Ben Gairn – V	0,205	262,3 ± 2,3
Ben Hope – KEŘ	0,137	168,7 ± 5,6
Ben Hope – V	0,236	305,4 ± 2,3
Ben Lomond – KEŘ	0,218	280,6 ± 4,6
Ben Lomond – V	0,222	285,4 ± 5,2
Ceres – KEŘ	0,172	218,5 ± 2,4
Ceres – V	0,157	197,1 ± 4,7
Černý Neguš – KEŘ	0,057	59,8 ± 2,7
Černý Neguš – V	0,100	118,7 ± 4,0
Démon – KEŘ	0,127	155,5 ± 4,7
Démon – V	0,210	270,0 ± 4,8
Fokus – KEŘ	0,137	169,8 ± 3,2
Fokus – V	0,204	262,4 ± 3,4
Lota – KEŘ	0,146	183,2 ± 6,4
Lota – V	0,144	177,0 ± 1,9
Morávia – KEŘ	0,193	249,4 ± 5,8
Morávia - V	0,163	204,7 ± 4,9
Ometa – KEŘ	0,252	327,5 ± 3,5
Ometa – V	0,208	266,7 ± 3,9
Ruben – KEŘ	0,137	169,6 ± 3,5
Ruben – V	0,151	186,6 ± 4,2
Triton – KEŘ	0,108	130,1 ± 4,5
Triton – V	0,167	211,7 ± 3,3

Koncentrace polyfenolů v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (tabulka 17, graf 9) byla nejnižší u odrůdy Černý Neguš KEŘ 59,8 mg·100 g⁻¹ a nejvyšší u odrůdy Ometa KEŘ 327,5 mg·100 g⁻¹. Velmi vysoká koncentrace byla naměřena i u odrůdy Ben Hope V 305,4 mg·100 g⁻¹. Vyšší hodnoty koncentrací u modifikace V byly u odrůd Ben Gairn, Ben Hope, Černý Neguš, Démon, Fokus, Ruben a Triton. U odrůd Ben Conan, Ceres, Morávia a Ometa byly vyšší koncentrace u KEŘ.

Stanovené koncentrace byly nižší než hodnota uvedená v literatuře, ale to může být stupněm zralosti plodů, zvolenou odrůdou, odlišnými klimatickými podmínkami nebo odlišným stanovištěm, kde byl rybíz pěstován.



Graf 9: Srovnání obsahů polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 18: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů mezi KEŘ a V u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	28,011	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	14,304	výsledky nejsou shodné

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Hope	51,835	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	1,487	výsledky jsou shodné
Ceres	8,968	výsledky nejsou shodné
Černý Neguš	26,737	výsledky nejsou shodné
Démon	36,117	výsledky nejsou shodné
Fokus	42,974	výsledky nejsou shodné
Lota	1,866	výsledky jsou shodné
Morávia	12,604	výsledky nejsou shodné
Ometa	24,991	výsledky nejsou shodné
Ruben	6,722	výsledky nejsou shodné
Triton	31,189	výsledky nejsou shodné

Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla prokázána shodnost výsledků pouze u odrůd Ben Lomond a Lota (tabulka 18). Nejvyšší neshodnost koncentrací mezi KEŘ a V byla vypočtena u odrůdy Ben Hope $u = 51,834$, kde rozdíl mezi koncentracemi činil 45 %, a odrůdou Fokus $u = 42,974$ s rozdílem koncentrací mezi KEŘ a V 35 %. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně odvodit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech černých rybízů.

4.1.3.2 Stanovení polyfenolů u odrůd černých rybízů od pěstitele Vondráčka

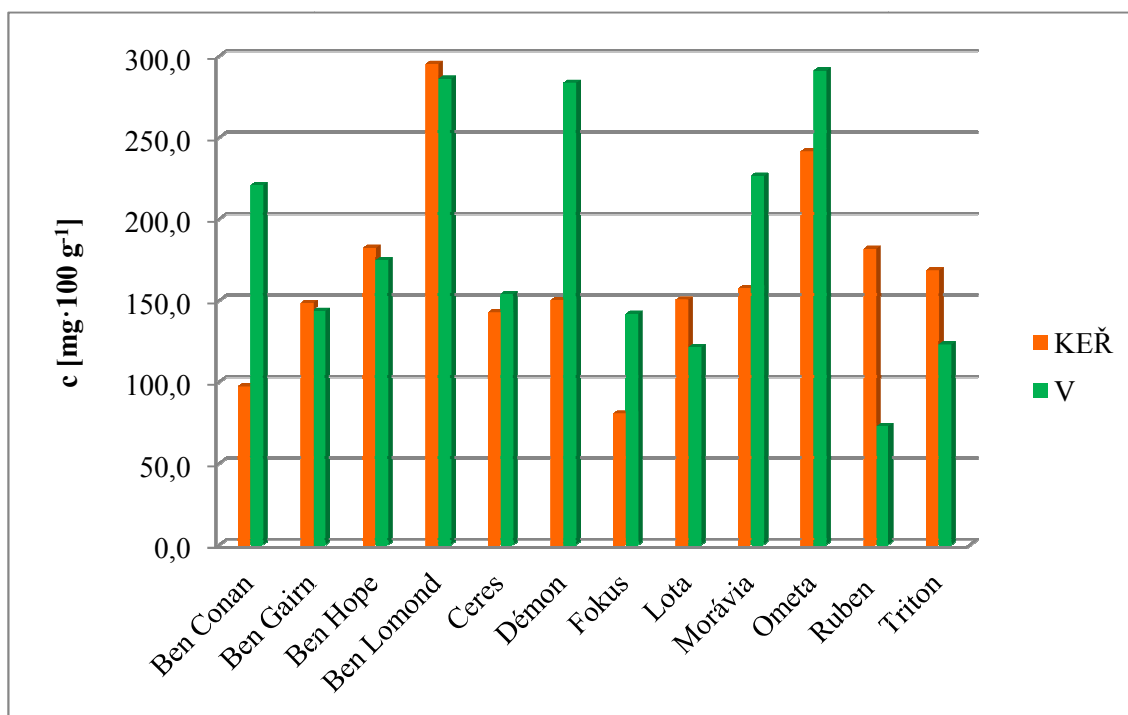
Tabulka 19: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Ben Conan – KEŘ	0,084	97,2 ± 4,3
Ben Conan – V	0,175	220,7 ± 3,7
Ben Gairn – KEŘ	0,122	148,2 ± 1,6
Ben Gairn – V	0,118	143,5 ± 6,8
Ben Hope – KEŘ	0,147	182,2 ± 6,9
Ben Hope – V	0,141	174,6 ± 3,7
Ben Lomond – KEŘ	0,228	295,2 ± 5,7
Ben Lomond – V	0,222	286,0 ± 5,6

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Průměrná koncentrace polyfenolů [mg·100 g ⁻¹]
Ceres – KEŘ	0,118	142,6 ± 5,9
Ceres – V	0,127	153,8 ± 1,3
Démon – KEŘ	0,124	150,2 ± 3,7
Démon – V	0,222	283,6 ± 5,8
Fokus – KEŘ	0,073	80,5 ± 3,4
Fokus – V	0,117	141,8 ± 2,8
Lota – KEŘ	0,124	150,4 ± 2,8
Lota – V	0,104	121,4 ± 6,5
Morávia – KEŘ	0,129	157,4 ± 4,5
Morávia - V	0,177	226,5 ± 2,1
Ometa – KEŘ	0,189	241,4 ± 3,7
Ometa – V	0,224	291,0 ± 4,9
Ruben – KEŘ	0,147	181,6 ± 5,2
Ruben – V	0,068	72,8 ± 5,3
Triton – KEŘ	0,136	168,4 ± 4,0
Triton – V	0,104	122,9 ± 1,1

Koncentrace polyfenolů v černých rybízích pěstitele Vondráčka se pohybovala od 72,8 do 295,2 mg·100 g⁻¹ (tabulka 19, graf 10). Nejnižší koncentrace byla u odrůdy Ruben a nejvyšší u odrůdy Ben Lomond. Vyšší obsahy polyfenolů v modifikaci V byly naměřeny u odrůd Ben Conan, Ceres, Démon, Fokus, Morávia a Ometa. U KEŘ byly vyšší koncentrace u odrůd Ben Gairn, Ben Hope, Ben Lomond, Lota, Ruben a Triton.

Stanovené koncentrace polyfenolů byly nižší než koncentrace uvedené v literatuře. Tyto odchylky byly nejspíše způsobeny stanovištěm, kde byl rybíz pěstován, klimatickými podmínkami, typem testovaných odrůd nebo stupněm zralosti plodů.



Graf 10: Srovnání obsahů polyfenolů mezi KEŘ a V v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka

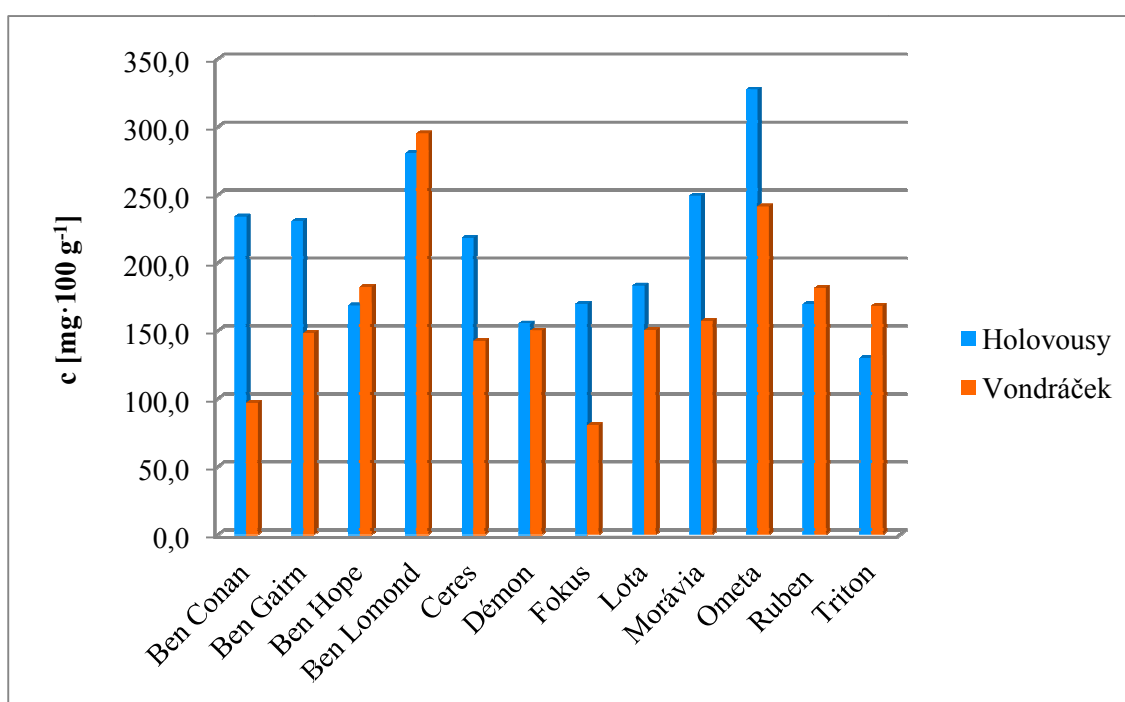
Tabulka 20: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů mezi KEŘ a V u odrůd černých rybízů od pěstitele Vondráčka ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	40,015	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	1,689	výsledky jsou shodné
Ben Hope	2,168	výsledky jsou shodné
Ben Lomond	2,436	výsledky jsou shodné
Ceres	4,639	výsledky nejsou shodné
Démon	41,869	výsledky nejsou shodné
Fokus	29,712	výsledky nejsou shodné
Lota	9,312	výsledky nejsou shodné
Morávia	31,874	výsledky nejsou shodné
Ometa	17,357	výsledky nejsou shodné
Ruben	31,090	výsledky nejsou shodné
Triton	26,985	výsledky nejsou shodné

Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla prokázána shoda u odrůd Ben Gairn, Ben Hope, Ben Lomond (tabulka 20). Nejvyšší hodnota Lordova testu byla vypočítána pro odrůdu Démon $u = 41,869$ s rozdílem mezi

koncentracemi KEŘ a V 47 % a odrůdy Ben Conan u = 40,015, kde je rozdíl koncentrací v modifikaci V o 56 % vyšší než v KEŘ. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah polyfenolů v plodech černých rybízů.

4.1.3.3 Porovnání obsahu polyfenolů u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



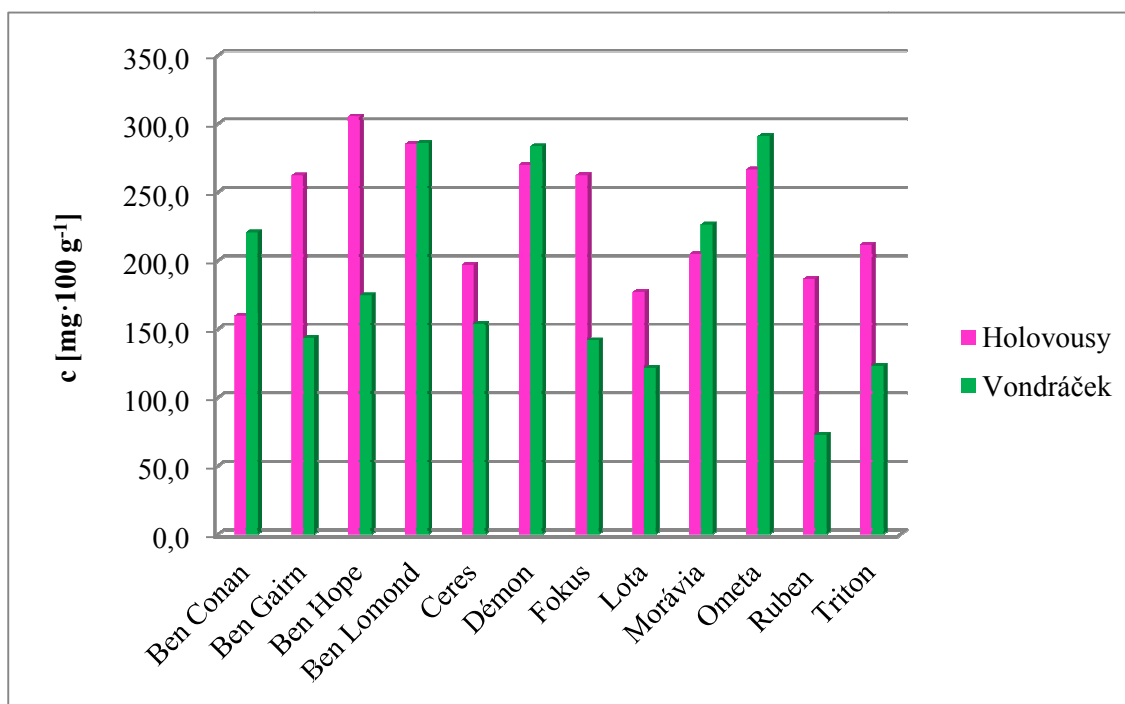
Graf 11: Srovnání obsahů polyfenolů v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů

Vyšší obsah polyfenolů v bobulích černých rybízů (graf 11) u pěstitele Vondráčka byl u odrůd Ben Hope, Ben Lomond, Ruben a Triton. U ostatních odrůd byla vyšší koncentrace ve vzorcích rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 21: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	46,386	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	41,678	výsledky nejsou shodné
Ben Hope	3,246	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	4,281	výsledky nejsou shodné
Ceres	27,333	výsledky nejsou shodné
Démon	1,756	výsledky jsou shodné
Fokus	40,750	výsledky nejsou shodné
Lota	10,284	výsledky nejsou shodné
Morávia	26,954	výsledky nejsou shodné
Ometa	36,193	výsledky nejsou shodné
Ruben	4,127	výsledky nejsou shodné
Triton	13,762	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi černými rybízky z KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a černými rybízky z KEŘ pěstitele Vondráčka (tabulka 21) prokázal, že výsledky byly shodné pouze u odrůdy Démon. Nejvyšší hodnota Lordova testu vyšla u odrůdy Ben Conan $u = 46,378$, kde byl rozdíl mezi koncentracemi jednotlivých dodavatelů 58 %, Ben Gairn 41,678 s rozdílem koncentrací 36 % a Fokus 40,750 s rozdílem mezi koncentracemi 53 %. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.



Graf 12: Srovnání obsahů polyfenolů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů

U odrůd Ben Gairn, Ben Hope, Ceres, Fokus, Lota, Ruben a Triton byly naměřeny vyšší koncentrace u vzorků z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 12). V černém rybízu od pěstitele Vondráčka byly vyšší koncentrace u odrůd Ben Conan, Démon, Morávia a Ometa.

Tabulka 22: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací polyfenolů u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	21,846	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	39,102	výsledky nejsou shodné
Ben Hope	66,022	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	0,169	výsledky jsou shodné
Ceres	21,401	výsledky nejsou shodné
Démon	3,930	výsledky nejsou shodné
Fokus	59,520	výsledky nejsou shodné
Lota	19,920	výsledky nejsou shodné
Morávia	9,467	výsledky nejsou shodné

Odrůda	u	Hypotéza
Ometa	8,346	výsledky nejsou shodné
Ruben	36,043	výsledky nejsou shodné
Triton	59,850	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byl vypočítán i pro modifikaci V černého rybízu Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a modifikaci V černého rybízu pěstitele Vondráčka (tabulka 22). Shoda byla prokázána pouze u odrůdy Ben Lomond. Největší rozdíl Lordova testu byl u odrůd Ben Hope $u = 66,022$, s rozdílem mezi koncentracemi 43 %, Fokus $u = 59,520$ s rozdílem koncentrací 46 % a Triton $u = 59,850$ kde rozdíl koncentrací byl u rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. o 42 % vyšší než od pěstitele Vondráčka. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah polyfenolů.

4.2 Stanovení antokyanů

Antokyaniny v odrůdách bílých, červených a černých rybízů byly stanovovány podle metody uvedené v kapitole 3.4.

4.2.1 Stanovení antokyanů u odrůd bílých rybízů

Celkem bylo analyzováno 6 odrůd bílých rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Podle literatury by se mělo množství antokyanů v bílých rybízích pohybovat kolem hodnoty $1,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [53].

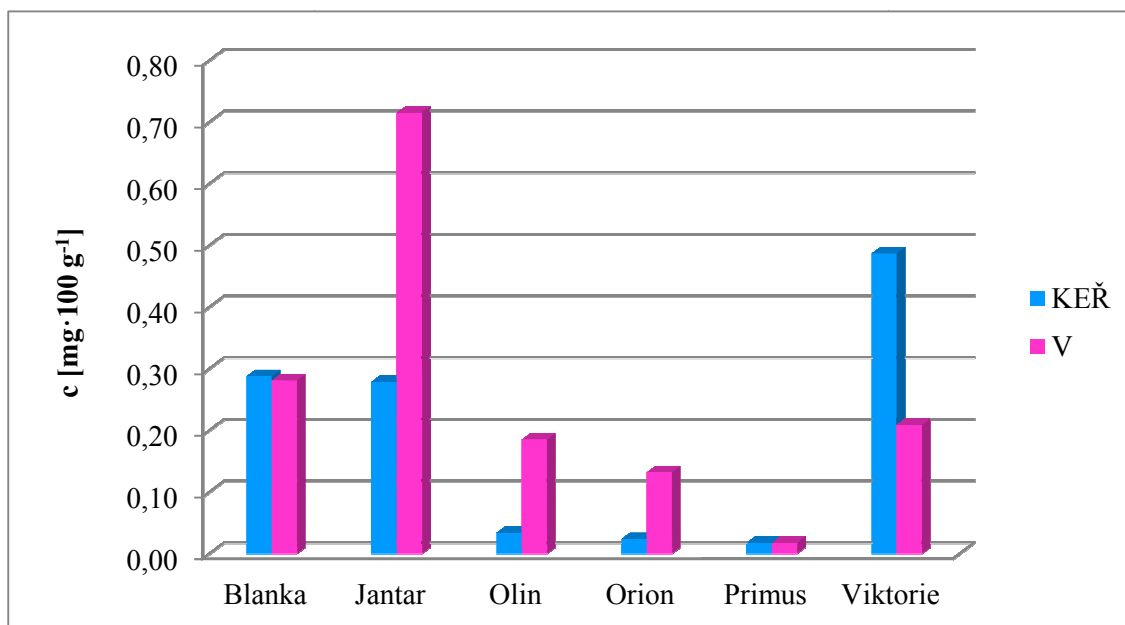
4.2.1.1 Stanovení antokyanů u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 23: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů v bílých odrůdách rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Blanka – KEŘ	0,068	0,027	0,064	0,029	0,29 ± 0,01
Blanka – V	0,069	0,034	0,063	0,033	0,28 ± 0,01
Jantar – KEŘ	0,062	0,029	0,054	0,025	0,79 ± 0,05
Jantar – V	0,100	0,041	0,086	0,041	0,72 ± 0,02
Olin – KEŘ	0,020	0,010	0,019	0,010	0,03 ± 0,01
Olin – V	0,027	0,013	0,012	0,005	0,19 ± 0,03
Orion – KEŘ	0,015	0,007	0,014	0,007	0,02 ± 0,02
Orion – V	0,023	0,011	0,020	0,014	0,13 ± 0,03
Primus – KEŘ	0,014	0,004	0,012	0,003	0,02 ± 0,00
Primus – V	0,019	0,007	0,019	0,008	0,02 ± 0,00
Viktorie - KEŘ	0,079	0,030	0,071	0,031	0,49 ± 0,02
Viktorie - V	0,093	0,045	0,089	0,044	0,21 ± 0,02

Množství antokyanů v bílém rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovalo od 0,02 až do 0,79 mg·100 g⁻¹ (tabulka 23). Nejnižší množství bylo naměřeno u odrůdy Primus 0,02 mg·100 g⁻¹, kde obsah antokyanů byl u KEŘ i V totožný (tabulka 24). Naopak nejvyšší množství antokyanů bylo detekováno u odrůdy Jantar KEŘ. U odrůdy Blanka byly výsledky KEŘ a V prakticky shodné. U ostatních odrůd Olin, Orion a Viktorie se obsah antokyanů v bobulích lišil a výsledky shodné nebyly. U odrůd Olin a Orion byl vyšší obsah antokyanů u modifikace V, naopak u Viktorie je vyšší množství v KEŘ. V porovnání s Viktorie V byl o 57 % vyšší (graf 13).

Obsah antokyanů uvedený v literatuře byl vyšší než naměřené hodnoty, ale tyto odchylky mohly být způsobeny volbou testovaných odrůd, stupněm zralosti plodů nebo stanovištěm a klimatickými podmínkami, ve kterých byl rybíz pěstován.



Graf 13: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 24: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Blanka	1,167	výsledky jsou shodné
Jantar	21,920	výsledky nejsou shodné
Olin	12,147	výsledky nejsou shodné
Orion	7,993	výsledky nejsou shodné
Primus	0,048	výsledky jsou shodné
Viktorie	25,722	výsledky nejsou shodné

Výpočtem Lordova testu pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla prokázána shoda pouze u odrůd Blanka a Primus (tabulka 24). U zbylých odrůd shoda v koncentraci antokyanů prokázána nebyla. Z výsledků Lordova testu nelze

jednoznačně odvodit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech bílých rybízů.

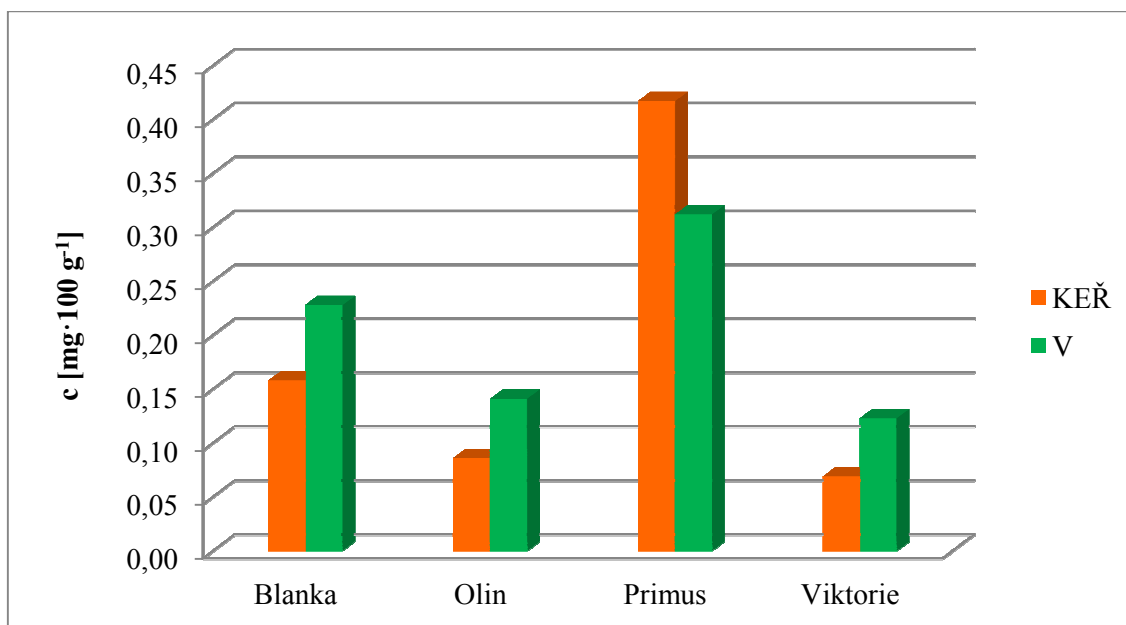
4.2.1.2 Stanovení antokyanů u odrůd bílých rybízů od pěstitele Vondráčka

Tabulka 25: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů v bílých odrůdách rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Blanka – KEŘ	0,065	0,028	0,061	0,027	0,16 ± 0,01
Blanka – V	0,074	0,032	0,071	0,033	0,23 ± 0,01
Olin – KEŘ	0,048	0,023	0,045	0,021	0,09 ± 0,01
Olin – V	0,025	0,011	0,023	0,012	0,14 ± 0,03
Primus – KEŘ	0,189	0,095	0,183	0,097	0,42 ± 0,01
Primus - V	0,135	0,067	0,126	0,065	0,31 ± 0,01
Viktorie – KEŘ	0,031	0,015	0,028	0,014	0,07 ± 0,01
Viktorie – V	0,035	0,017	0,032	0,016	0,12 ± 0,01

Rozmezí množství antokyanů v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka byl od 0,07 – 0,42 mg·100 g⁻¹ (tabulka 25). Test shodnosti výsledků mezi keř a V neprokázal shodnost ani u jedné z odrůd (tabulka 26). U odrůd Blanka, Olin a Viktorie byl vyšší obsah naměřen u modifikace V (graf 14). V případě odrůdy Primus byl vyšší obsah antokyanů v bobulích modifikace KEŘ. Odrůda Primus měla ve srovnání s ostatními uvedenými odrůdami nejvyšší obsah antokyanů – V 0,42 mg·100 g⁻¹ a KEŘ 0,312 mg·100 g⁻¹. Nejnižší obsah mají bobule Viktorie KEŘ 0,07 mg·100 g⁻¹.

Také v rybízích od pěstitele Vondráčka byl obsah antokyanů nižší než byl uveden v literatuře. Odchytky byly pravděpodobně způsobeny rozdílem testovaných odrůd, stupněm zralosti plodů nebo stanovištěm a klimatickými podmínkami, ve kterých byl rybíz pěstován.



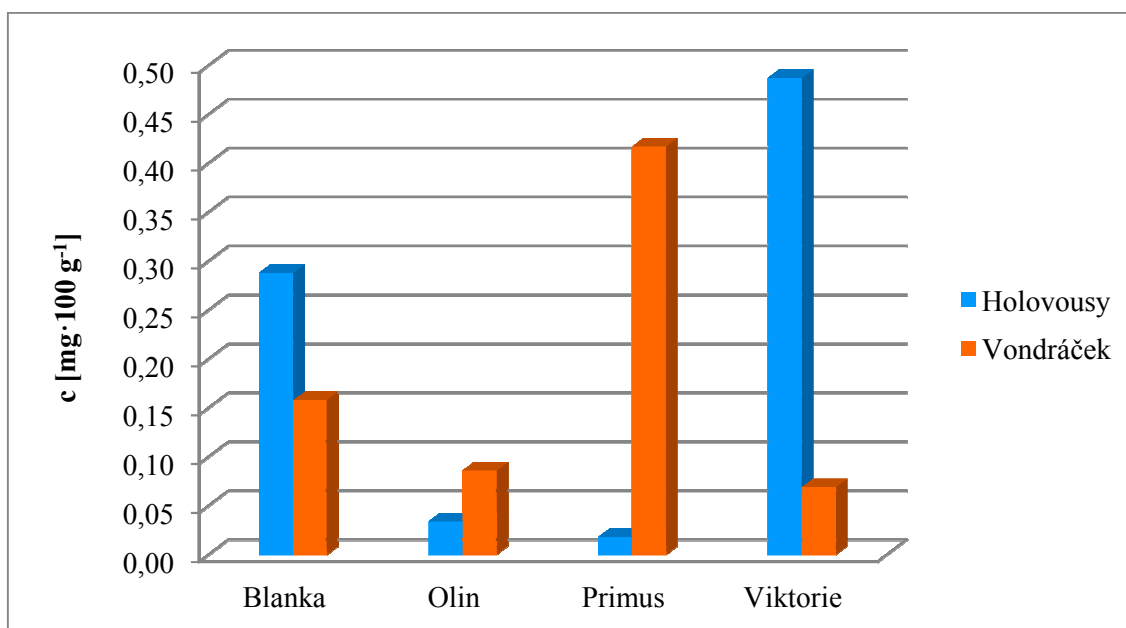
Graf 14: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka

Tabulka 26: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů od pěstitele Vondráčka a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	11,556	výsledky nejsou shodné
Olin	4,627	výsledky nejsou shodné
Primus	13,125	výsledky nejsou shodné
Viktorie	9,243	výsledky nejsou shodné

V ani jednom případě nebyla Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) prokázána shoda mezi koncentracemi antokyanů (tabulka 26). Z těchto výsledků lze odvodit, že tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech bílých rybízů.

4.2.1.3 Porovnání obsahu antokyanů u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



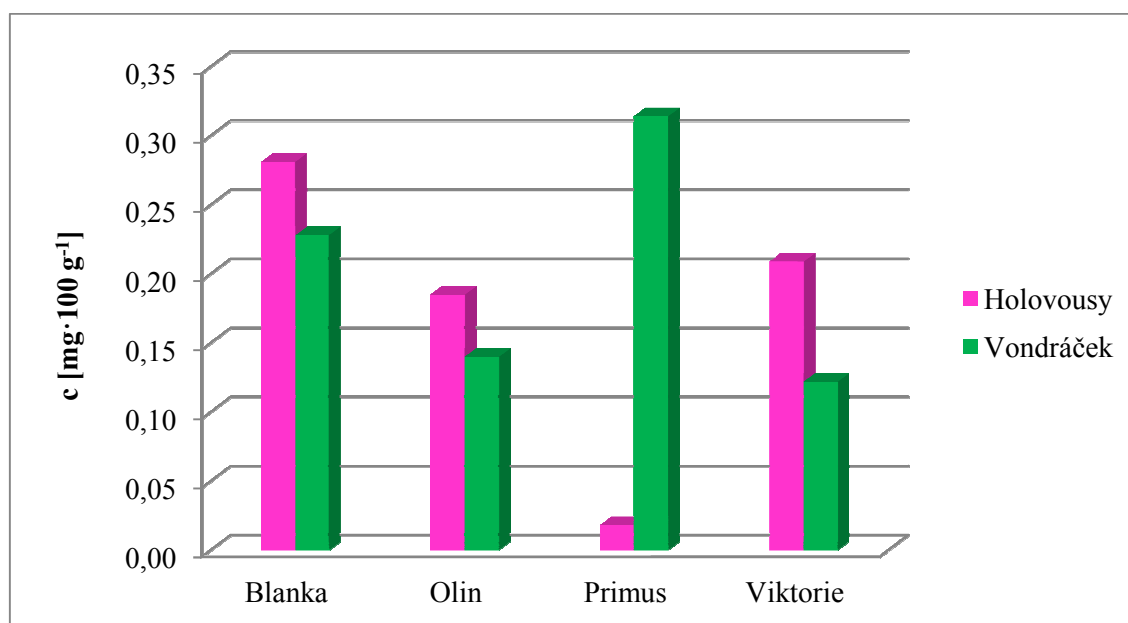
Graf 15: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů

Další porovnání shodnosti výsledků bylo provedeno i pro KEŘ odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a KEŘ odrůd bílých rybízů od pěstitele Vondráčka (tabulka 27). Zde bylo zjištěno, že ani jedna z odrůd neprokazuje shodu. Obsah antokyanů u odrůd Blanka a Viktorie byl vyšší v rybizech z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 15). Naopak u odrůd Olin a Primus byl vyšší podíl antokyanů u rybízů od pěstitele Vondráčka.

Tabulka 27: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	21,667	výsledky nejsou shodné
Olin	8,000	výsledky nejsou shodné
Primus	90,705	výsledky nejsou shodné
Viktorie	50,935	výsledky nejsou shodné

Shodnost výsledků byla vypočítána prostřednictvím Lordova testu (u) pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %). Kritická hodnota pro shodnost na hladině významnosti 0,01 je 3,008. U odrůdy Primus byla vypočítána hodnota Lordova testu dokonce 90,705, tedy rozdíl mezi naměřenými výsledky byl 94 %. O tomto rozdílu nebylo pochyb již při přípravě vzorků, kdy roztok z rybízu Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byl velmi čirý a jemně nažloutlé barvy, zatímco roztok z rybízu pěstitele Vondráčka nebyl čirý, byl lehce zakalený máslové barvy. Podobný případ nastal také u odrůdy Viktorie, kde $u = 50,935$, rozdílnost mezi výsledky činila 86 %. Z těchto výsledků lze odvodit, že stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, mělo zásadní vliv na obsah antokyanů.



Graf 16: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů

Vyšší obsah antokyanů byl u odrůd Blanka, Olin, Viktorie vyšší u vzorků z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 16). Stejně jako případě vzorků KEŘ, byl u odrůdy Primus od pěstitele Vondráčka převažující obsah antokyanu a to s rozdílem 94 %, výsledek Lordova testu 68,403.

Tabulka 28: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	hypotéza
Blanka	8,944	výsledky nejsou shodné
Olin	2,510	výsledky nejsou shodné
Primus	68,403	výsledky nejsou shodné
Viktorie	10,039	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi bílými rybízí z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a bílými rybízí pěstitele Vondráčka byl proveden i pro modifikaci V. Ale ani zde nebyla výpočtem Lordova testu prokázána žádná shoda (tabulka 28). Z těchto výsledků lze odvodit, že stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, mělo zásadní vliv na obsah antokyanů.

4.2.2 Stanovení antokyanů u odrůd červených rybízů

Celkem bylo analyzováno 12 odrůd červených rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Podle literatury by měl být obsah antokyanů v plodech červeného rybízu 20 – 60 mg·100 g⁻¹ [34].

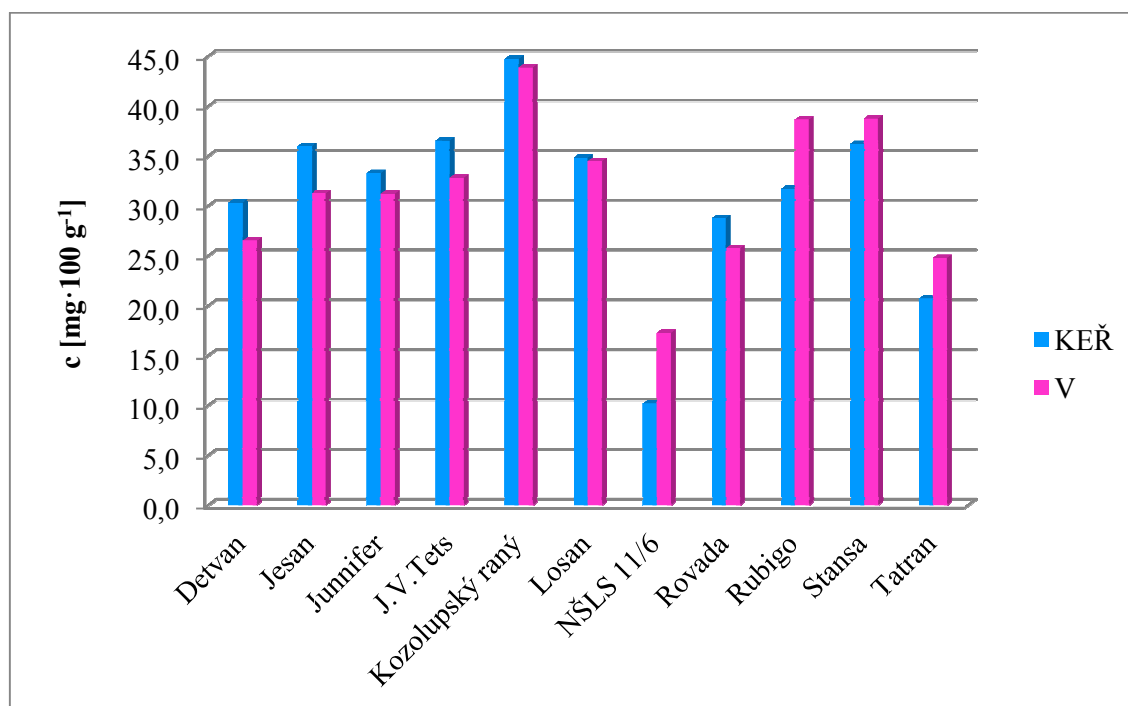
4.2.2.1 Stanovení antokyanů u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 29: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů v červených odrůdách rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Detvan - KEŘ	0,464	0,035	0,114	0,035	30,3 ± 1,4
Detvan - V	0,496	0,083	0,189	0,079	26,5 ± 1,3
Jesan - KEŘ	0,553	0,054	0,146	0,053	36,0 ± 2,6
Jesan - V	0,491	0,046	0,138	0,046	31,3 ± 1,2
Junnifer – KEŘ	0,487	0,037	0,075	0,034	33,3 ± 1,1
Junnifer - V	0,434	0,019	0,077	0,017	31,2 ± 2,2
J.V.Tets – KEŘ	0,596	0,069	0,190	0,078	36,6 ± 4,5
J.V.Tets - V	0,523	0,047	0,160	0,055	32,8 ± 2,0
Kozolupský raný – KEŘ	0,645	0,043	0,137	0,042	44,8 ± 3,4
Kozolupský raný – V	0,637	0,043	0,148	0,046	43,9 ± 3,1
Losan – KEŘ	0,475	0,006	0,075	0,003	34,9 ± 0,8
Losan -V	0,431	0,006	0,038	0,003	34,5 ± 2,3
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,234	0,051	0,115	0,049	10,2 ± 01,1
NŠLS 11/6 – V	0,262	0,019	0,072	0,023	17,3 ± 1,3
Rovada - KEŘ	0,489	0,064	0,159	0,059	28,8 ± 1,1
Rovada - V	0,407	0,0383	0,115	0,038x	25,78 ± 1,7
Rubigo- KEŘ	0,454	0,022	0,089	0,024	31,7 ± 1,1
Rubigo - V	0,534	0,018	0,094	0,020	38,7 ± 1,3
Stansa - KEŘ	0,634	0,087	0,220	0,088	36,2 ± 1,3
Stansa - V	0,642	0,081	0,206	0,083	38,8 ± 1,7
Tatran - KEŘ	0,354	0,072	0,115	0,071	20,7 ± 1,8
Tatran -V	0,342	0,013	0,062	0,012	24,8 ± 2,4

U červeného rybízu byl obsah antokyanů oproti bílému rybízu podstatně vyšší. Koncentrace antokyanů u vzorků KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. se pohybovala v rozmezí od 10,2 – 44,8 mg·100 g⁻¹ (tabulka 29, graf 17). Nejnižší koncentrace antokyanů byla stanovena u NŠLS 11/6 KEŘ a nejvyšší u KEŘ Kozolupský raný. U odrůdy NŠLS 11/6 byl nižší obsah antokyanů, než který byl uveden v literatuře.

U červených rybízů již nebyl tak podstatný rozdíl mezi modifikacemi KEŘ a V. Vyšší koncentrace antokyanů v modifikaci KEŘ byla stanovena u odrůd – Detvan, Jesan, Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, Losan a Rovada. U odrůd NŠLS 11/6, Rubigo, Stansa a Tatran byla vyšší koncentrace u V.



Graf 17: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 30: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrace antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Detvan	4,243	výsledky nejsou shodné
Jesan	3,812	výsledky nejsou shodné
Junnifer	1,893	výsledky jsou shodné
J.V.Tets	1,718	výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	0,405	výsledky jsou shodné
Losan	0,339	výsledky jsou shodné
NŠLS 11/6	8,719	výsledky nejsou shodné
Rovada	3,132	výsledky nejsou shodné
Rubigo	8,810	výsledky nejsou shodné
Stansa	2,571	výsledky jsou shodné
Tatran	2,894	výsledky jsou shodné

Výpočet Lordova testu pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) prokázal schodu mezi KEŘ a V u odrůd Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, Losan, Stansa, Tatran (u , tabulka 30). Nejvyšší rozdílnost mezi koncentracemi byla u odrůd NŠLS 11/6 ($u = 8,719$) a Rubigo ($u = 8,810$). Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech červených rybízů.

4.2.2.2 Stanovení antokyanů u odrůd červených rybízů od pěstitele Vondráčka

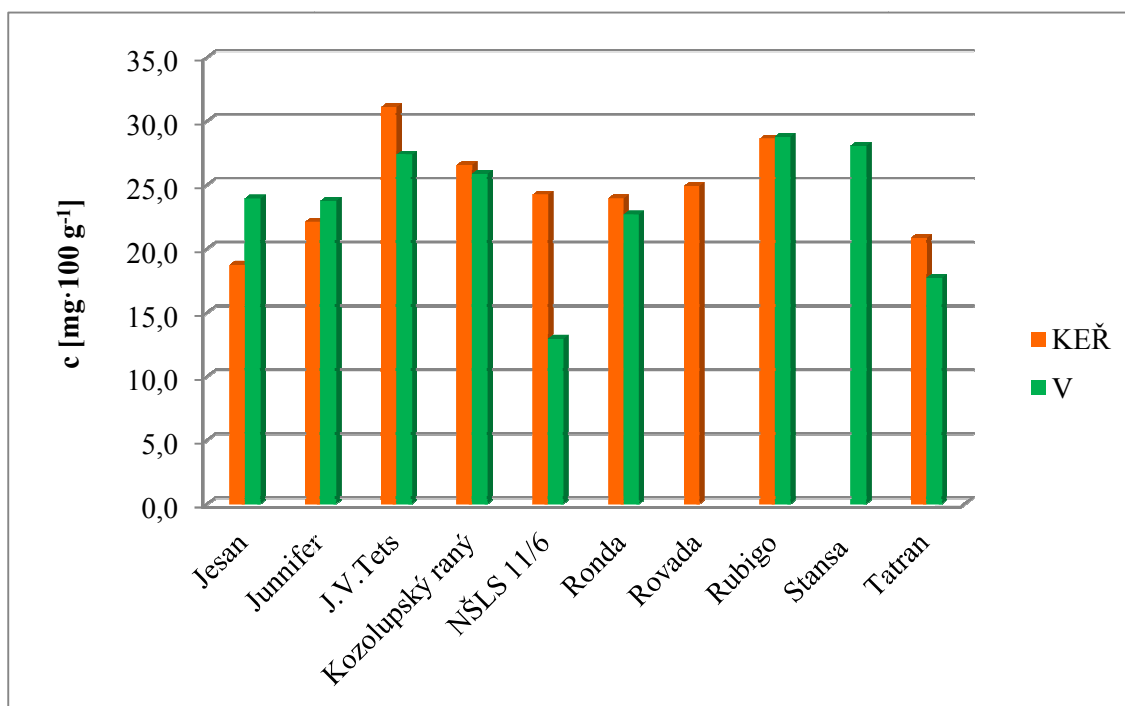
Tabulka 31: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnové délce 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů v červených odrůdách rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Jesan – KEŘ	0,310	0,039	0,097	0,038	18,7 ± 1,5
Jesan – V	0,403	0,053	0,125	0,049	23,9 ± 1,5

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Junnifer – KEŘ	0,378	0,049	0,130	0,051	22,1 ± 1,4
Junnifer – V	0,385	0,041	0,116	0,042	23,8 ± 1,7
J.V.Tets – KEŘ	0,572	0,105	0,211	0,097	31,1 ± 2,3
J.V.Tets – V	0,540	0,109	0,226	0,108	27,4 ± 3,1
Kozolupský raný – KEŘ	0,483	0,086	0,181	0,079	26,6 ± 1,9
Kozolupský raný – V	0,436	0,055	0,131	0,054	25,9 ± 3,2
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,254	0,041	0,111	0,173	24,2 ± 1,5
NŠLS 11/6 - V	0,231	0,030	0,087	0,031	13,0 ± 1,8
Ronda – KEŘ	0,359	0,025	0,092	0,029	24,0 ± 1,7
Ronda – V	0,420	0,063	0,162	0,065	22,7 ± 2,6
Rovada – KEŘ	0,387	0,035	0,098	0,030	24,9 ± 1,1
Rubigo- KEŘ	0,461	0,055	0,131	0,049	28,6 ± 0,7
Rubigo – V	0,614	0,171	0,282	0,168	28,8 ± 1,4
Stansa – V	0,485	0,072	0,159	0,067	28,1 ± 1,7
Tatran – KEŘ	0,339	0,046	0,097	0,036	20,9 ± 2,4
Tatran –V	0,346	0,061	0,145	0,060	17,7 ± 1,9

U červeného rybízu od pěstitele Vondráčka se hodnoty naměřených koncentrací pohybují od 13,0 do 31,1 mg·100 g⁻¹ (tabulka 31, graf 18). Nejnižší koncentrace byla naměřena u NŠLS 11/6 V a nejvyšší u odrůdy J.V.Tets KEŘ. U odrůd NŠLS 11/6 V a Tatran V, byla stanovena nižší koncentrace antokyanů, než která byla uvedena v literatuře. Důvodem mohly být stejně jako v předchozích případech odlišné klimatické podmínky, stanoviště, výběr jiných druhů odrůd či rozdílný stupeň zralosti plodů.

U odrůd Jesan, Junifer a Rubigo byly vyšší koncentrace antokyanů v modifikaci V. Naopak u KEŘ byla vyšší koncentrace oproti V u odrůd J.V.Tets, Kozolupský raný, NŠLS 11/6, Ronda a Tatran. Odrůdy Ronda a Stansa porovnány nebyly, protože bobule Rondy byly dodány od pěstitele Vondráčka pouze z KEŘ a Stansa z V.



Graf 18: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka

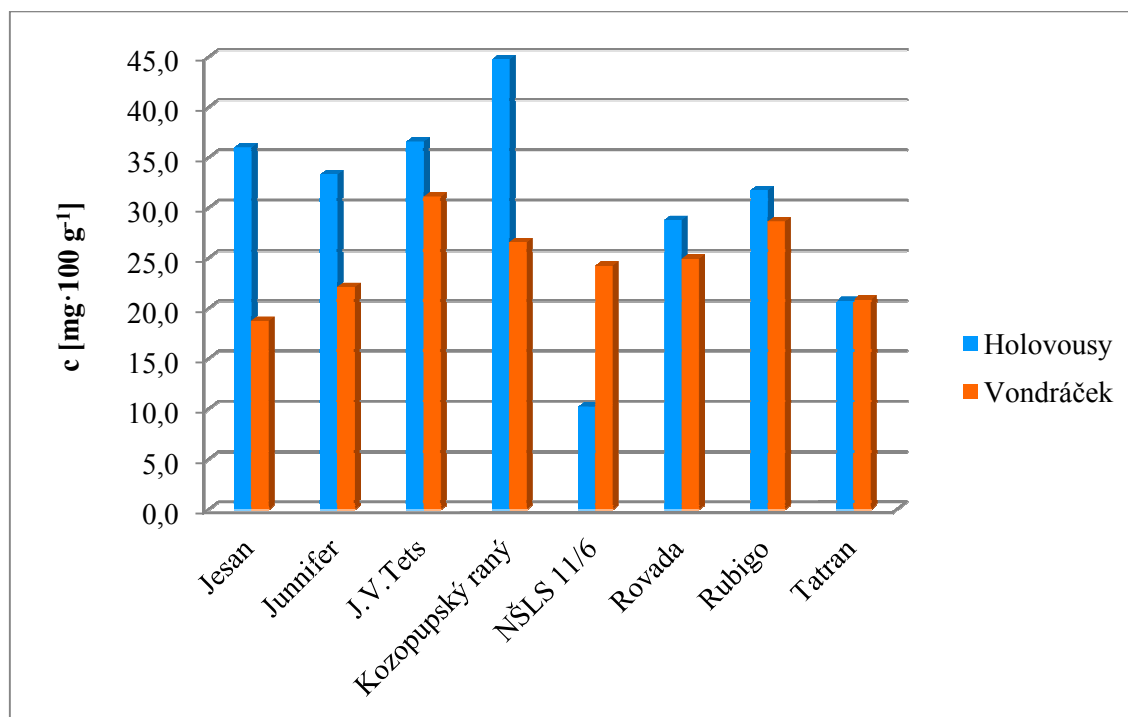
Tabulka 32: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd červených rybízů od pěstitele Vondráčka a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	8,086	výsledky nejsou shodné
Junnifer	1,564	výsledky jsou shodné
J.V.Tets	2,093	výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	0,409	výsledky jsou shodné
NŠLS 11/6	10,227	výsledky nejsou shodné
Ronda	0,937	výsledky jsou shodné
Rubigo	0,224	výsledky jsou shodné
Tatran	2,159	výsledky jsou shodné

Shodnost mezi KEŘ a V byla prokázána Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) u odrůd Junnifer, J.V.Tets, Kozolupský raný, Ronda, Rubigo a Tatran (tabulka 32). Nejvyšší hodnota testu shodnosti vyšla u odrůdy NŠLS 11/6 $u = 10,227$, kde rozdíl mezi KEŘ a V činil 47 %. Z výsledků testu shodnosti

nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny mel zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech červených rybízů.

4.2.2.3 Porovnání obsahu antokyanů u odrůd červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



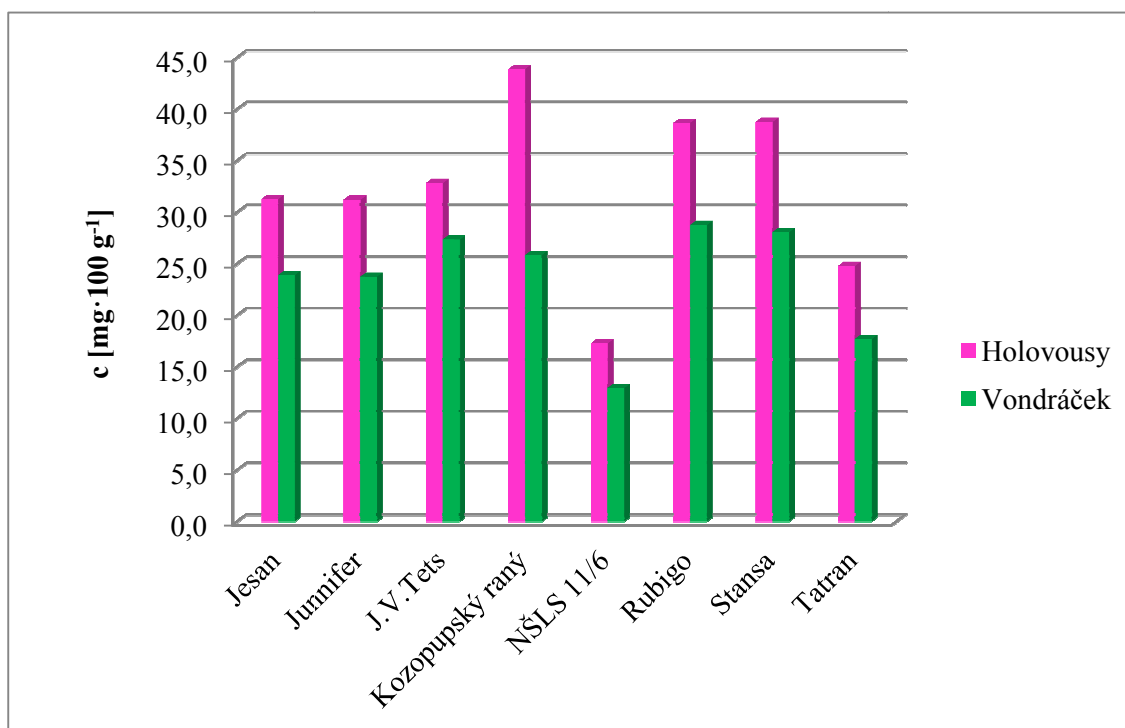
Graf 19: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích KER z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů

Vyšší koncentrace antokyanů byly naměřeny u rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 19). Výjimku tvořila pouze odrůda NŠLS 11/6, kde je vyšší koncentrace v rybizu od pěstitele Vondráčka. U odrůdy Tatran byly koncentrace prakticky stejné.

Tabulka 33: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	12,802	výsledky nejsou shodné
Junnifer	13,137	výsledky nejsou shodné
J.V.Tets	2,440	výsledky jsou shodné
Kozolupský raný	10,929	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	15,950	výsledky nejsou shodné
Rovada	5,194	výsledky nejsou shodné
Rubigo	5,274	výsledky nejsou shodné
Tatran	0,087	výsledky jsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi červenými rybízky z KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a červenými rybízky z KEŘ pěstitele Vondráčka (tabulka 33) prokázal, že výsledky byly shodné u odrůd J.V.Tets a Tatran. U ostatních odrůd shodnost prokázána nebyla. Nejvyšší hodnota Lordova testu byla vypočtena u odrůdy NŠLS 11/6 $u = 15,950$, rozdílnost mezi výsledky činila 57 %, dále u odrůdy Junnifer $u = 13,137$ a Jesan $u = 12,802$. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah antokyanů.



Graf 20: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů

Vyšší koncentrace antokyanů byly naměřeny u vzorků dodaných z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 20).

Tabulka 34: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u keřů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách červených rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Jesan	13,745	výsledky nejsou shodné
Junnifer	5,781	výsledky nejsou shodné
J.V.Tets	3,209	výsledky nejsou shodné
Kozolupský raný	8,223	výsledky nejsou shodné
NŠLS 11/6	4,187	výsledky nejsou shodné
Rubigo	11,177	výsledky nejsou shodné
Stansa	9,365	výsledky nejsou shodné
Tatran	4,887	výsledky nejsou shodné

Pro modifikaci V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a V pěstitele Vondráčka u odrůd červených rybízů (tabulka 34) byl také stanoven test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %). Shoda ale nebyla prokázána ani u jedné z odrůd. Nejvyšší neshodnost byla stanovena u odrůdy Jesan u = 13,745. Z výsledků Lordova testu lze určit, že stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, mělo zásadní vliv na obsah antokyanů.

4.2.3 Stanovení antokyanů v odrůdách černých rybízů

Celkem bylo analyzováno 13 odrůd černých rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Obsah antokyanů v černých rybízích by se měl podle literatury pohybovat od 130 do 400 mg·100 g⁻¹ [34].

4.2.3.1 Stanovení antokyanů u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 35: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrace antokyanů v černých odrůdách rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

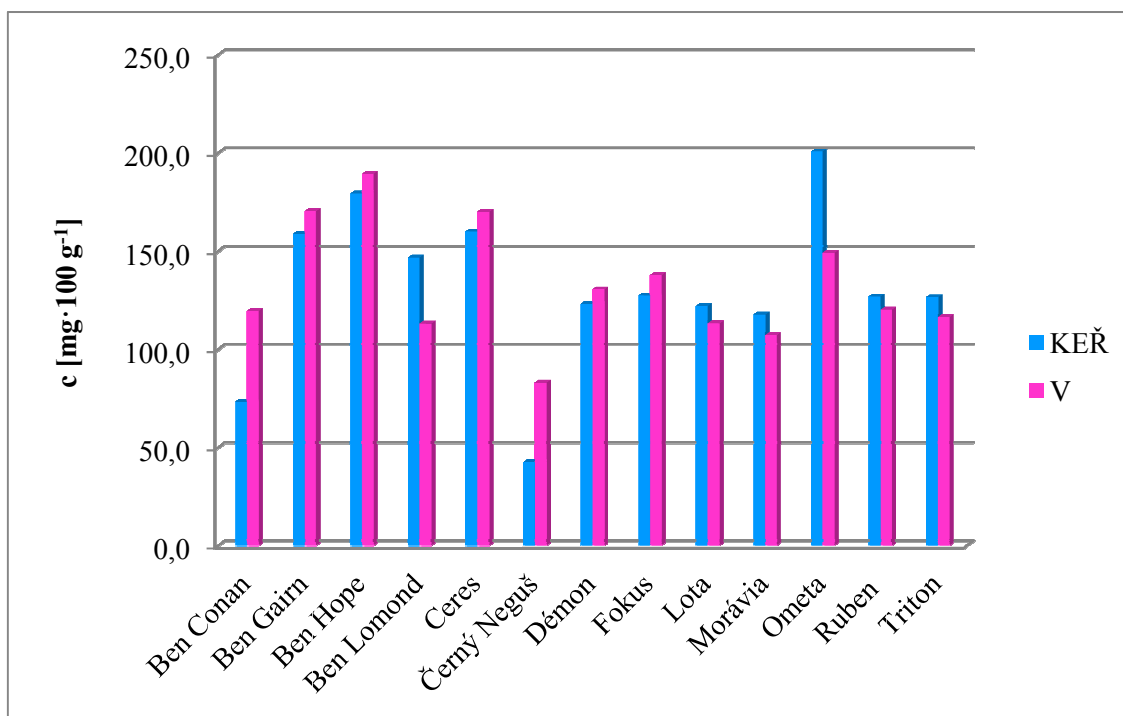
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Ben Conan – KEŘ	0,307	0,006	0,037	0,008	73,2 ± 7,0
Ben Conan - V	0,485	0,003	0,036	0,003	119,5 ± 2,4
Ben Gairn – KEŘ	0,668	0,014	0,066	0,015	158,7 ± 2,8
Ben Gairn – V	0,711	0,007	0,059	0,005	170,3 ± 5,5
Ben Hope – KEŘ	0,743	0,003	0,0573	0,003	179,3 ± 5,9
Ben Hope – V	0,797	0,011	0,071	0,009	189,4 ± 4,5
Ben Lomond – KEŘ	0,615	0,007	0,060	0,010	146,7 ± 5,8
Ben Lomond – V	0,471	0,007	0,044	0,006	113,1 ± 7,0

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Ceres – KEŘ	0,661	0,002	0,058	0,004	159,9 ± 7,8
Ceres – V	0,696	0,003	0,055	0,005	170,0 ± 6,4
Černý Neguš – KEŘ	0,176	0,002	0,016	0,001	42,6 ± 4,1
Černý Neguš – V	0,344	0,005	0,031	0,002	83,0 ± 7,4
Démon – KEŘ	0,514	0,005	0,050	0,007	123,2 ± 7,8
Démon – V	0,546	0,010	0,056	0,013	130,5 ± 6,3
Fokus – KEŘ	0,543	0,019	0,044	0,005	127,3 ± 4,8
Fokus – V	0,597	0,005	0,072	0,007	137,7 ± 8,1
Lota – KEŘ	0,501	0,002	0,042	0,005	122,0 ± 3,4
Lota – V	0,469	0,006	0,041	0,006	113,2 ± 6,6
Morávia – KEŘ	0,484	0,002	0,046	0,004	117,7 ± 5,7
Morávia - V	0,452	0,009	0,048	0,010	107,2 ± 5,4
Ometa – KEŘ	0,830	0,005	0,072	0,007	200,7 ± 8,1
Ometa – V	0,618	0,003	0,052	0,006	149,1 ± 7,2
Ruben – KEŘ	0,525	0,003	0,044	0,004	126,8 ± 4,3
Ruben – V	0,501	0,002	0,045	0,002	120,3 ± 5,7
Triton – KEŘ	0,526	0,009	0,049	0,009	126,5 ± 6,6
Triton - V	0,499	0,013	0,061	0,017	116,5 ± 6,3

Nejvyšší koncentrace antokyanů byly stanoveny u odrůd černých rybízů. Nejnižší koncentrace antokyanů u vzorků z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla 42,6 mg·100 g⁻¹ u odrůdy Černý Neguš KEŘ a nejvyšší koncentrace u odrůdy Ometa KEŘ 200,7 mg·100 g⁻¹ (tabulka 35, graf 21). Koncentrace některých odrůd byla nižší než hodnota uvedená v literatuře. Odchylna mohla být způsobena stupněm zralosti plodů, klimatickými podmínkami, stanovištěm, kde byl rybíz pěstován, či danou odrůdou.

Odrůdy Ben Conan, Ben Gairn, Ben Hope, Ceres, Černý Neguš, Démon a Fokus byly bohatší na antokyaniny v modifikaci V. U odrůd Ben Lomond, Lota, Morávia, Ometa, Ruben a Triton byla stanovena vyšší koncentrace v modifikaci KEŘ. Velmi

vysoké koncentrace vykazovaly kromě již zmíněné Omety, také bobule odrůd Ben Gairn, Ben Hope a Ceres.



Graf 21: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 36: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	15,179	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	4,271	výsledky nejsou shodné
Ben Hope	2,913	výsledky jsou shodné
Ben Lomond	7,903	výsledky nejsou shodné
Ceres	2,129	výsledky jsou shodné
Černý Neguš	10,516	výsledky nejsou shodné
Démon	1,555	výsledky jsou shodné
Fokus	2,421	výsledky jsou shodné
Lota	2,642	výsledky jsou shodné
Morávia	2,822	výsledky jsou shodné

Odrůda	u	Hypotéza
Ometa	10,193	výsledky nejsou shodné
Ruben	1,984	výsledky nejsou shodné
Triton	2,350	výsledky jsou shodné

Shodnost výsledků pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) koncentrací mezi KEŘ a V byla prokázána u 7 odrůd z 13 (tabulka 36) – Ben Hope, Ceres, Démon, Fokus, Lota, Morávia, Triton. Nejvyšší rozdíl mezi KEŘ a V byl u odrůdy Ben Conan, kde prostřednictvím Lordova testu byla vypočtena hodnota 15,179. Rozdíl mezi koncentracemi vzorků této odrůdy činil 39 %. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech černých rybízů.

4.2.3.2 Stanovení antokyanů u odrůd černých rybízů od pěstitele Vondráčka

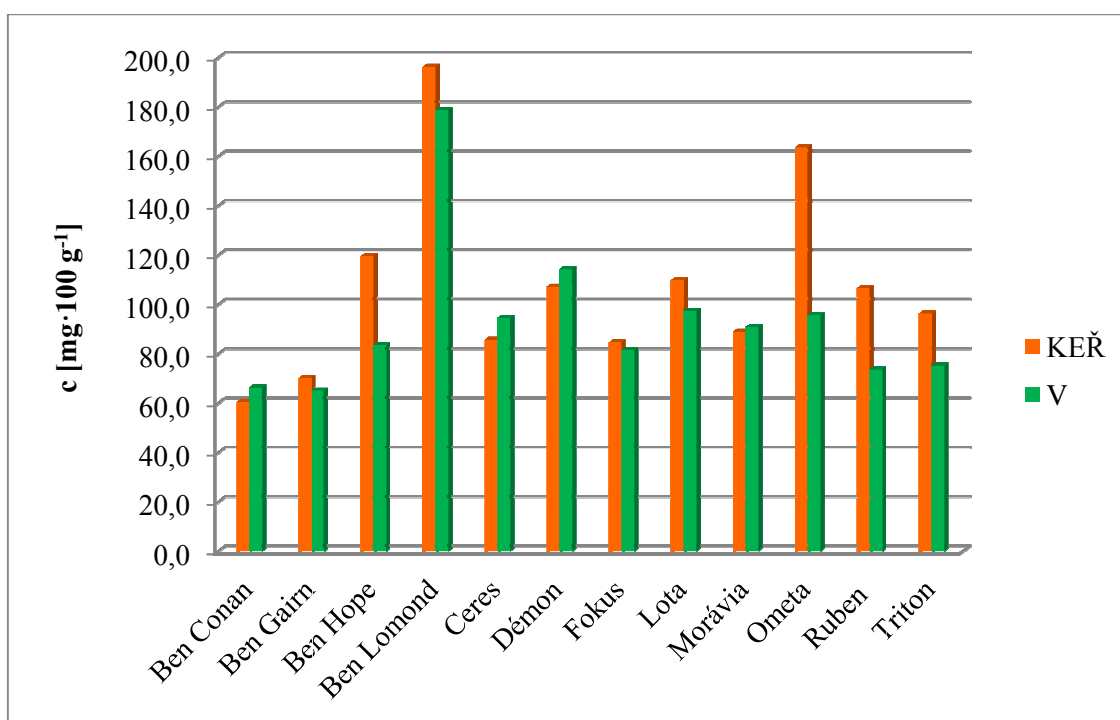
Tabulka 37: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů v černých odrůdách rybízů od pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Ben Conan – KEŘ	0,252	0,005	0,025	0,004	60,5 ± 5,2
Ben Conan - V	0,273	0,004	0,022	0,003	66,3 ± 4,3
Ben Gairn – KEŘ	0,306	0,012	0,038	0,009	70,1 ± 6,0
Ben Gairn – V	0,308	0,026	0,059	0,027	65,1 ± 4,8
Ben Hope – KEŘ	0,487	0,005	0,035	0,005	119,6 ± 4,7
Ben Hope – V	0,353	0,007	0,036	0,007	83,5 ± 8,7
Ben Lomond – KEŘ	0,821	0,0027	0,078	0,005	196,3 ± 6,0
Ben Lomond – V	0,754	0,004	0,075	0,004	178,9 ± 8,8
Ceres – KEŘ	0,363	0,005	0,034	0,006	85,7 ± 7,2
Ceres – V	0,390	0,004	0,033	0,004	94,5 ± 5,0
Démon – KEŘ	0,462	0,014	0,055	0,015	107,2 ± 8,2

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Průměrná koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Démon - V	0,496	0,009	0,056	0,009	114,3 ± 6,4
Fokus - KEŘ	0,352	0,003	0,028	0,003	84,6 ± 3,1
Fokus - V	0,336	0,006	0,033	0,004	81,6 ± 7,6
Lota – KEŘ	0,404	0,004	0,036	0,003	109,8 ± 6,2
Lota – V	0,462	0,008	0,043	0,009	97,4 ± 2,1
Morávia – KEŘ	0,375	0,005	0,038	0,006	88,9 ± 6,2
Morávia - V	0,388	0,011	0,046	0,010	90,8 ± 6,7
Ometa – KEŘ	0,672	0,006	0,057	0,005	163,6 ± 5,8
Ometa – V	0,407	0,006	0,046	0,007	95,6 ± 8,0
Ruben – KEŘ	0,463	0,017	0,060	0,017	106,6 ± 7,2
Ruben – V	0,315	0,007	0,033	0,008	73,6 ± 7,8
Triton – KEŘ	0,402	0,010	0,042	0,010	96,3 ± 6,5
Triton - V	0,340	0,022	0,056	0,022	75,2 ± 5,0

Obsah antokyanů v černém rybízu od pěstitele Vondráčka (tabulka 37, graf 22) byl nejnižší u odrůdy Ben Conan KEŘ 60,5 mg·100 g⁻¹ a nejvyšší u Ben Lomond KEŘ 196,3 mg·100 g⁻¹. Vysoká koncentrace antokyanů byla naměřena i v odrůdě Ometa KEŘ 163,6 mg·100 g⁻¹. Vyšší koncentrace u modifikace V byla stanovena u odrůd Ben Conan, Ceres, Démon a Morávia. U ostatních odrůd byla vyšší koncentrace naměřena v KEŘ.

Naměřené koncentrace antokyanů v červených rybízech byly nižší, než byla hodnota uvedená v literatuře, což stejně jako v předchozích případech mohlo být způsobeno řadou faktorů – volba odrůdy, klimatické podmínky, stupeň zralosti plodů apod.



Graf 22: Srovnání obsahů antokyanů mezi KEŘ a V v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka

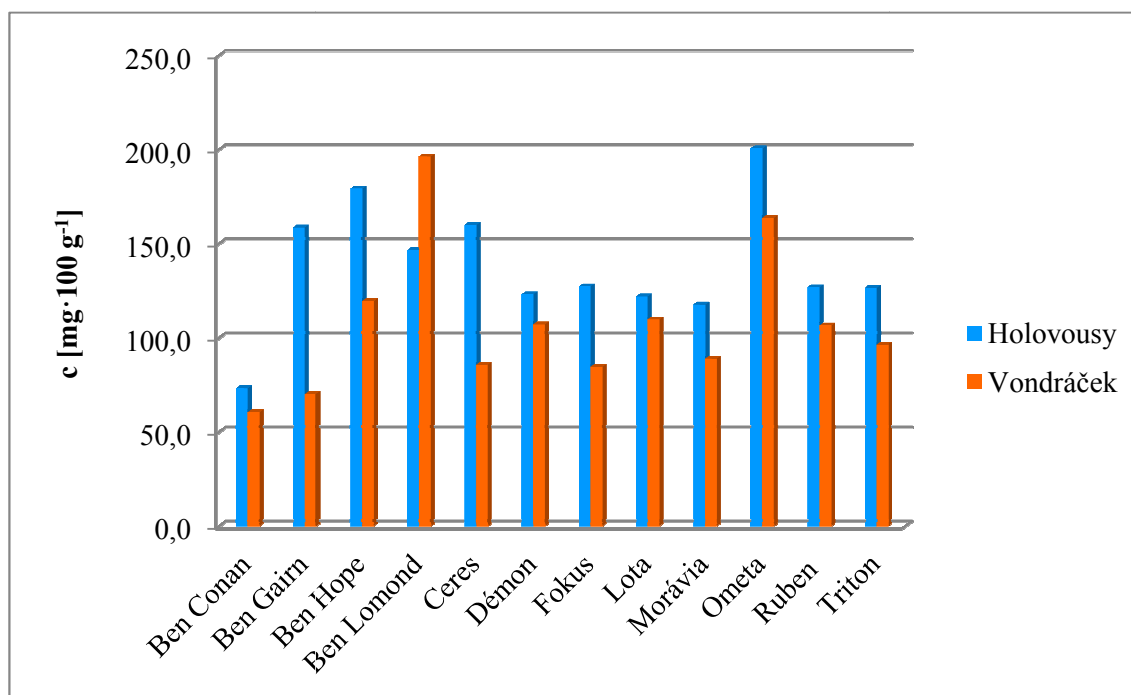
Tabulka 38: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů mezi KEŘ a V u odrůd černých rybízů od pěstitele Vondráčka ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	1,837	výsledky jsou shodné
Ben Gairn	1,403	výsledky jsou shodné
Ben Hope	8,079	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	3,531	výsledky nejsou shodné
Ceres	2,173	výsledky jsou shodné
Démon	1,465	výsledky jsou shodné
Fokus	0,860	výsledky jsou shodné
Lota	4,446	výsledky nejsou shodné
Morávia	0,441	výsledky jsou shodné
Ometa	14,779	výsledky nejsou shodné
Ruben	6,626	výsledky nejsou shodné
Triton	5,494	výsledky nejsou shodné

U odrůd Ben Conan, Ben Gairn, Ceres, Démon, Fokus a Morávia byla Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) prokázána shoda mezi KEŘ a V (tabulka 38). Největší rozdíl mezi koncentracemi KEŘ a V je u odrůdy Ometa

$u = 14,779$. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah antokyanů v plodech černých rybízů.

4.2.3.3 Porovnání obsahu antokyanů u odrůd černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



Graf 23: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů

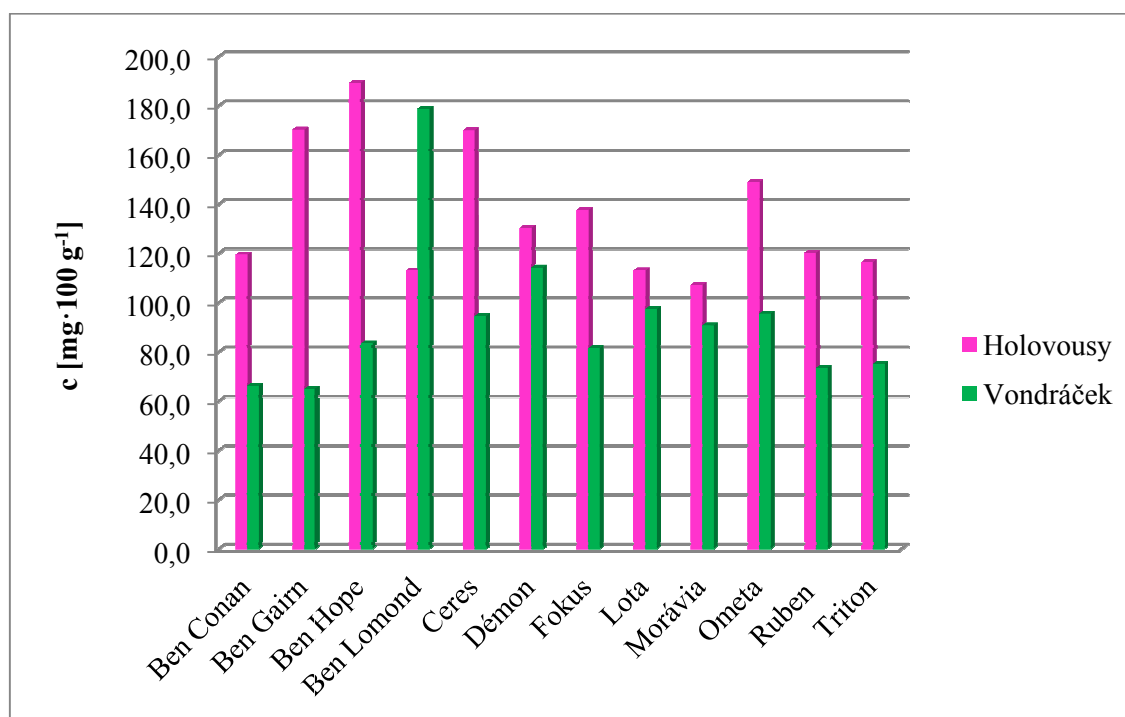
Vyšší koncentrace antokyanů jsou naměřeny u vzorků dodaných Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy s.r.o. (graf 23). Pouze u Ben Lomond byla vyšší koncentrace v rybízů od pěstitele Vondráčka.

Tabulka 39: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	2,988	výsledky jsou shodné
Ben Gairn	30,494	výsledky nejsou shodné
Ben Hope	16,946	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	12,677	výsledky nejsou shodné

Odrůda	u	Hypotéza
Ceres	14,906	výsledky nejsou shodné
Démon	2,994	výsledky jsou shodné
Fokus	16,353	výsledky nejsou shodné
Lota	7,688	výsledky nejsou shodné
Moravia	7,254	výsledky nejsou shodné
Ometa	8,027	výsledky nejsou shodné
Ruben	5,318	výsledky nejsou shodné
Triton	6,922	výsledky nejsou shodné

Testem shodnosti výsledků koncentraci pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka (tabulka 39), byla prokázána shoda u odrůdy Ben Conan a Démon. Největší neshoda byla prokázána u odrůdy Ben Gairn $u = 30,494$, rozdíl mezi koncentracemi byl 56 %. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně odhadnout, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah antokyanů.



Graf 24: Srovnání obsahů antokyanů v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů

Vyšší koncentrace antokyanů kromě odrůdy Ben Lomond, byly stanoveny u odrůd V Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 24).

Tabulka 40: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací antokyanů u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách černých rybízů ($u_{krit.} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Ben Conan	24,122	výsledky nejsou shodné
Ben Gairn	30,699	výsledky nejsou shodné
Ben Hope	24,070	výsledky nejsou shodné
Ben Lomond	12,472	výsledky nejsou shodné
Ceres	19,854	výsledky nejsou shodné
Démon	3,837	výsledky nejsou shodné
Fokus	10,771	výsledky nejsou shodné
Lota	1,166	výsledky jsou shodné
Morávia	4,094	výsledky nejsou shodné
Ometa	10,607	výsledky nejsou shodné
Ruben	10,400	výsledky nejsou shodné
Triton	10,971	výsledky nejsou shodné

Test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byl vypočítán i pro modifikaci V černého rybízu Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a modifikaci V černého rybízu pěstitele Vondráčka (tabulka 40). Shodnost výsledků byla stanovena pouze u jedné odrůdy, kterou byla Lota. Nejvyšší hodnota Lordova testu vyšla u odrůd Ben Gairn $u = 30,699$, Ben Conan $u = 24,122$ a Ben Hope $u = 24,070$. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah antokyanů.

4.3 Zralost plodů

Již na první pohled bylo zjevné, že plody nejsou stejné zralosti. To mohlo být možným důvodem odchylek mezi výsledky, což je znatelné hlavně ze statistických vyhodnocení (viz. přílohy). Z tohoto důvodu byl proveden pokus, kdy byly vybrány zralé bobule a bobule méně zralé a byly otestovány na obsah polyfenolů a antokyanů. Tento test byl proveden u třech odrůd – Rubigo KEŘ (červený rybíz) z Výzkumného a

šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a i v plodech Rubigo KEŘ od pěstitele Vondráčka, Ben Hope (černý rybíz) od pěstitele Vondráčka KEŘ i V a odrůdě Ben Conan (černý rybíz) KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka.

Tabulka 41: Naměřené hodnoty absorpance při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů ve zralých a méně zralých plodech červených rybízů Rubigo KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a Rubigo KEŘ pěstitele Vondráčka

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.		
Odrůda	Průměrné hodnoty absorpance A [nm]	Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
Rubigo KEŘ - zralé	0,384	152,9
Rubigo KEŘ - méně zralé	0,314	125,7
Pěstitel Vondráček		
Odrůda	Průměrné hodnoty absorpance A [nm]	Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
Rubigo KEŘ - zralé	0,385	153,1
Rubigo KEŘ - méně zralé	0,246	95,2

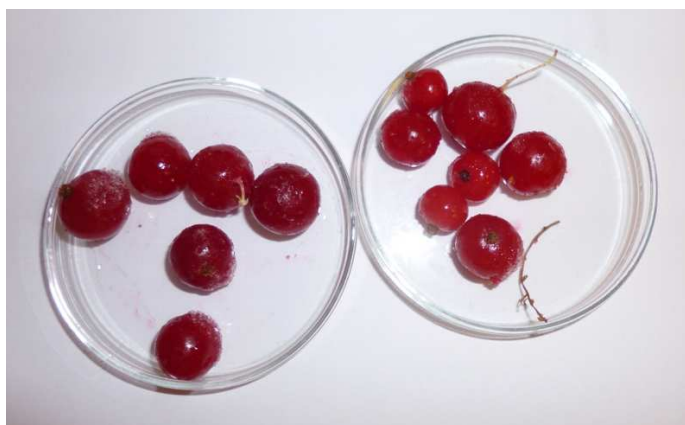
Koncentrace polyfenolů (tabulka 41) u zralé odrůdy Rubigo KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. měla hodnotu 152,8 mg·100 g⁻¹, u méně zralé 125,7 mg·100 g⁻¹, hodnota ze smíšeného vzorku (tabulka 11) byla 144,9 mg·100 g⁻¹. Rozdíl mezi barvou zralého a méně zralého rybízu je znázorněna na obrázku 5. I rozdíl mezi koncentrací antokyanů byla mezi zralými a méně zralými plody dosti velká (tabulka 42). Koncentrace antokyanů byla u zralých plodů 36,8 mg·100 g⁻¹ a u méně zralých plodů pouhých 16,0 mg·100 g⁻¹, u smíšeného vzorku (tabulka 29) 31,7 mg·100 g⁻¹.

Velmi velký rozdíl mezi zralostí plodů byl i v plodech Rubigo KEŘ od pěstitele Vondráčka (obrázek 6). U zralých plodů byla naměřena koncentrace polyfenolů 153,1 mg·100 g⁻¹ a u méně zralých 95,2 mg·100 g⁻¹. Koncentrace polyfenolů smíšeného vzorku měla hodnotu 133,5 mg·100 g⁻¹ (tabulka 13). Ve zralých plodech byla stanovena koncentrace antokyanů 35,5 mg·100 g⁻¹ a v plodech méně zralých pouhých

11,6 mg·100 g⁻¹. Koncentrace ve směsném vzorku měla hodnotu 28,6 mg·100 g⁻¹ (tabulka 31).

Tabulka 42: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnové délce 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů ve zralých a méně zralých plodech červených rybízů Rubigo KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a Rubigo KEŘ pěstitele Vondráčka

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.					
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Rubigo KEŘ - zralé	0,522	0,037	0,099	0,034	36,8
Rubigo KEŘ – méně zralé	0,268	0,033	0,084	0,031	16,0
Pěstitel Vondráček					
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Rubigo KEŘ - zralé	0,533	0,060	0,124	0,055	35,5
Rubigo KEŘ – méně zralé	0,254	0,062	0,118	0,058	11,6



Obrázek 5: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Rubigo KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.



Obrázek 6: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Rubigo KEŘ od pěstitele Vondráčka

Tabulka 43: Naměřené hodnoty absorpance při vlnových délkách 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů ve zralých a méně zralých plodech černých rybízů Ben Hope KEŘ a V pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorpance A [nm]	Koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
Ben Hope KEŘ – zralé	0,268	350,5
Ben Hope KEŘ – méně zralé	0,122	147,6
Ben Hope V – zralé	0,197	251,8
Ben Hope V – méně zralé	0,136	169,0

Dále bylo provedeno porovnání zralých a méně zralých plodů u odrůdy Ben Hope KEŘ pěstitele Vondráčka. Koncentrace polyfenolů (tabulka 43) ve zralých plodech 350,5 mg·100 g⁻¹ a v méně zralých plodech 147,6 mg·100 g⁻¹. U směšného vzorku byla naměřena koncentrace 182,2 mg·100 g⁻¹ (tabulka 19). Koncentrace antokyanů (tabulka 44) v Ben Hope KEŘ byla ve zralých plodech 178,8 mg·100 g⁻¹, v méně zralých plodech pouhých 44,7 mg·100 g⁻¹ a u směšného vzorku 119,6 mg·100 g⁻¹ (tabulka 37). Barevný rozdíl mezi zralými a méně zralými plody je znázorněn na obrázku 7 a na obrázku 8 je znázorněna barva šťávy, která byla z daných plodů získána.

U Ben Hope V pěstitele Vondráčka byla koncentrace polyfenolů (tabulka 43) ve zralých plodech 251,8 mg·100 g⁻¹ a v plodech méně zralých 169,0 mg·100 g⁻¹. Ve směšném vzorku byla stanovena koncentrace 174,6 mg·100 g⁻¹ (tabulka 19). Rozdíl byl identifikován i u koncentrací antokyanů (tabulka 44), která byla ve zralých plodech

111,3 mg·100 g⁻¹ a v méně zralých plodech 36,2 mg·100 g⁻¹. Stanovená koncentrace u směšného vzorku činila 83,5 mg·100 g⁻¹ (tabulka 37). Na obrázku 9 je barevný rozdíl mezi zralými a méně zralými bobulemi a na obrázku 10 je znázorněn řez zralou a méně zralou bobulí a získaná barva obou šťáv.

Tabulka 44: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů ve zralých a méně zralých plodech černých rybízů Ben Hope KEŘ a V pěstitele Vondráčka

Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Koncentrace antokyanů [mg·100 g ⁻¹]
	A ₅₁₀	A ₇₀₀	A ₅₁₀	A ₇₀₀	
Ben Hope KEŘ -zralé	0,753	0,013	0,077	0,015	178,8
Ben Hope KEŘ - nezralé	0,205	0,012	0,036	0,013	44,7
Ben Hope V - zralé	0,477	0,013	0,056	0,013	1113
Ben Hope V - nezralé	0,173	0,016	0,037	0,016	36,2



Obrázek 7: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Ben Hope KEŘ od pěstitele Vondráčka



Obrázek 8: Znárodnění rozdílů v barvě šťávy získané ze zralých (levá strana) a méně zralých plodů (pravá strana) odrůdy Ben Hope KEŘ od pěstitele Vondráčka.



Obrázek 9: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Ben Hope V od pěstitele Vondráčka



Obrázek 10: Na levé straně obrázku řez zralou a méně zralou bobulí Ben Hope V pěstitele Vondráčka. A na pravé straně obrázku znázorněn rozdíl v barvě šťávy získané ze zralých a méně zralých plodů odrůdy Ben Hope V od pěstitele Vondráčka.

Tabulka 45: Naměřené hodnoty absorbancí při vlnové délce 750 nm a vypočtené hodnoty koncentrací polyfenolů ve zralých a méně zralých plodech černého rybízu Ben Conan KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a Ben Conan V pěstitele Vondráčka

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.		
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
Ben Conan KEŘ - zralé	0,253	328,5
Ben Conan KEŘ – méně zralé	0,177	223,7
Pěstitel Vondráček		
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm]	Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
Ben Conan V - zralé	0,203	260,1
Ben Conan V – méně zralé	0,107	127,8

U odrůdy Ben Conan KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla koncentrace polyfenolů (tabulka 45) u zralých plodů 328,5 mg·100 g⁻¹ a u méně zralých plodů 223,7 mg·100 g⁻¹. Koncentrace polyfenolů ve směsném vzorku činila 234,1 mg·100 g⁻¹ (tabulka 17). Barva zralých a méně zralých plodů byla znázorněna na obrázku 11. Na obrázku 12 byl řez zralým a méně zralým plodem a rozdílnost barvy šťáv, které byly z těchto plodů získány. Koncentrace antokyanů (tabulka 46) u zralých plodů byla 148,4 mg·100 g⁻¹, u méně zralých plodů 31,7 mg·100 g⁻¹ a u směsného vzorku 60,5 mg·100 g⁻¹ (tabulka 35).

Dále byla stanovena koncentrace polyfenolů a antokyanů ve zralých a méně zralých plodech u Ben Conan V pěstitele Vondráčka. Na obrázku 13 byl znázorněn barevný rozdíl mezi bobulemi a na obrázku 14 barva šťavy, která byla z daných plodů získána. Koncentrace polyfenolů (tabulka 45) ve zralých plodech Ben Conan V byla 260,1 mg·100 g⁻¹ v méně zralých plodech 127,8 mg·100 g⁻¹. Ve směsném vzorku byla naměřena koncentrace 220,7 mg·100 g⁻¹ (tabulka 19). Ve zralých bobulích byla naměřena koncentrace antokyanů (tabulka 46) 79,7 mg·100 g⁻¹, v méně zralých bobulích 31,8 mg·100 g⁻¹ a ve směsném vzorku 59,7 mg·100 g⁻¹ (tabulka 37).

Tabulka 46: Naměřené hodnoty absorbancí při pH 1 a pH 4,5 při vlnových délkách 510 nm a 700 nm a vypočtené hodnoty koncentrací antokyanů ve zralých a méně zralých plodech černého rybízu Ben Conan KEŘ Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a Ben Conan V pěstitele Vondráčka

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.					
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
	A₅₁₀	A₇₀₀	A₅₁₀	A₇₀₀	
Ben Conan KEŘ – zralé	0,598	0,007	0,062	0,035	148,4
Ben Conan KEŘ – méně zralé	0,146	0,009	0,030	0,013	31,7
Pěstitel Vondráček					
Odrůda	Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 1		Průměrné hodnoty absorbance A [nm] při pH 4,5		Koncentrace antokyanů [mg·100 g⁻¹]
	A₅₁₀	A₇₀₀	A₅₁₀	A₇₀₀	
Ben Conan V – zralé	0,342	0,008	0,040	0,008	79,7
Ben Conan V – méně zralé	0,163	0,017	0,045	0,019	31,8



Obrázek 11: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Ben Conan KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.



Obrázek 12: Na levé straně obrázku řez zralou a méně zralou bobulí Ben Conan KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o., a na pravé straně obrázku znázorněn rozdíl v barvě šťáv získaných ze zralých a méně zralých plodů odrůdy Ben Conan KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.



Obrázek 13: Na levé straně obrázku zralé plody a na pravé straně obrázku méně zralé plody odrůdy Ben Conan V od pěstitele Vondráčka



Obrázek 14: Znázornění rozdílu v barvě šťávy získané ze zralých a méně zralých plodů odrůdy Ben Conan V od pěstitele Vondráčka.

4.4 Stanovení vitamínu C

Vitamin C v odrůdách bílých, červených a černých rybízů byl stanoven podle metody uvedené v kapitole 3.5.

4.4.1 Stanovení vitamínu C u odrůd bílých rybízů

Celkem bylo analyzováno 6 odrůd bílých rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Na závěr byly odpovídající varianty vzájemně porovnány za použití statistické metody popsané v kapitole 3.3.1. Podle tabulky 2 by mělo být zastoupení vitamínu C v plodech bílého rybízu 15 – 60 mg·100g⁻¹.

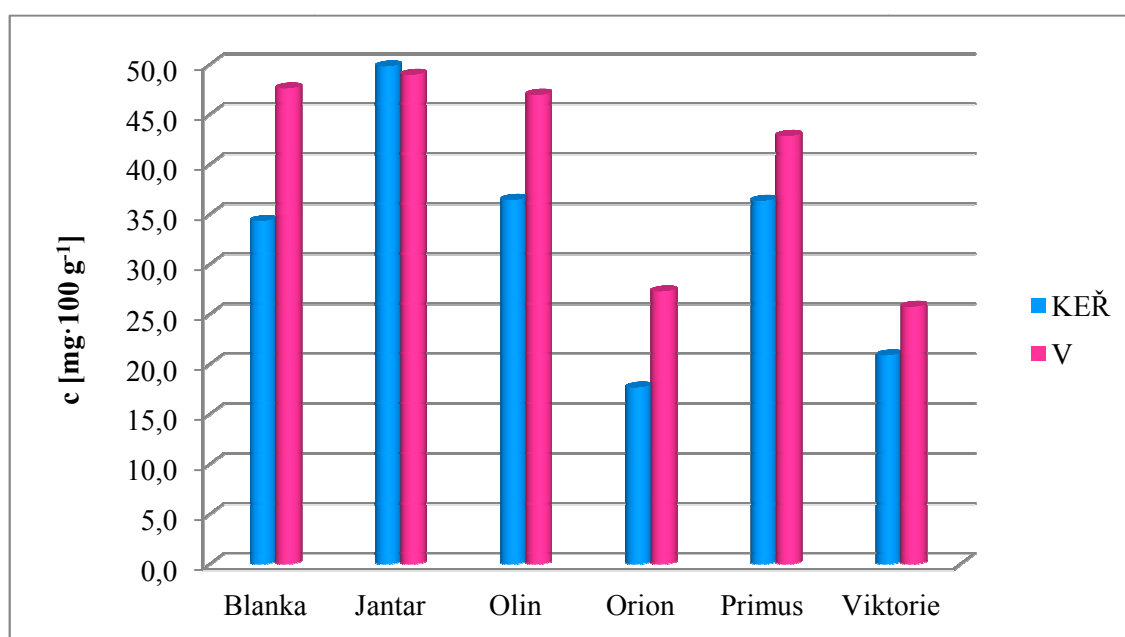
4.4.1.1 Stanovení vitamínu C u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Tabulka 47: Naměřené plochy piků a průměrné koncentrace vitamínu C v bílých odrůdách rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. přepočtena na 100 g ovoce

Odrůdy	Průměrná koncentrace vitamínu C [mg·100g ⁻¹]
Blanka KEŘ	34,3 ± 2,8
Blanka V	47,6 ± 4,8
Jantar KEŘ	49,8 ± 1,0
Jantar V	49,0 ± 1,5
Olin KEŘ	30,2 ± 4,1
Olin V	47,0 ± 8,4
Orion KEŘ	17,7 ± 3,1
Orion V	27,3 ± 2,7
Primus KEŘ	36,4 ± 7,9
Primus V	42,8 ± 10,0
Viktorie KEŘ	20,9 ± 4,2
Viktorie V	25,7 ± 3,5

Vitamin C byl stanoven pouze u odrůd bílých rybízů. Nejvyšší koncentrace vitamínu C v plodech z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byla stanovena u odrůdy Jantar (tabulka 47) - Jantar KEŘ 49,8 mg·100g⁻¹ a Jantar V 49,0 mg·100g⁻¹. Bohaté na obsah vitamínu C byly také odrůdy Blanka, Olin a Primus. Naopak nejmenší zastoupení stanovovaného vitamínu bylo naměřeno u odrůd Orion a Viktorie. Orion KEŘ obsahoval pouze 17,7 mg·100g⁻¹ a Viktorie KEŘ 20,9 mg·100g⁻¹. Vyšší koncentrace vitamínu C byly naměřeny v modifikacích V (graf 25), pouze u odrůdy Jantar byla koncentrace nepatrně vyšší u modifikace KEŘ.

Naměřené hodnoty odpovídaly hodnotám, které byly uvedeny v literatuře.



Graf 25: Srovnání obsahů vitamínu C mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o

Tabulka 48: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací vitamínu C mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůda	u	Hypotéza
Blanka	5,231	výsledky nejsou shodné
Jantar	1,050	výsledky jsou shodné
Olin	4,025	výsledky nejsou shodné
Orion	4,934	výsledky nejsou shodné

Odrůda	u	Hypotéza
Primus	1,077	výsledky jsou shodné
Viktorie	1,890	výsledky jsou shodné

Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) byla vypočítána shodnost výsledků (tabulka 48). Výsledky mezi KEŘ a V jsou shodné u odrůd Jantar, Primus a Viktorie. U odrůd Blanka, Olin a Orion shoda prokázána nebyla. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah vitamínu C v plodech bílých rybízů.

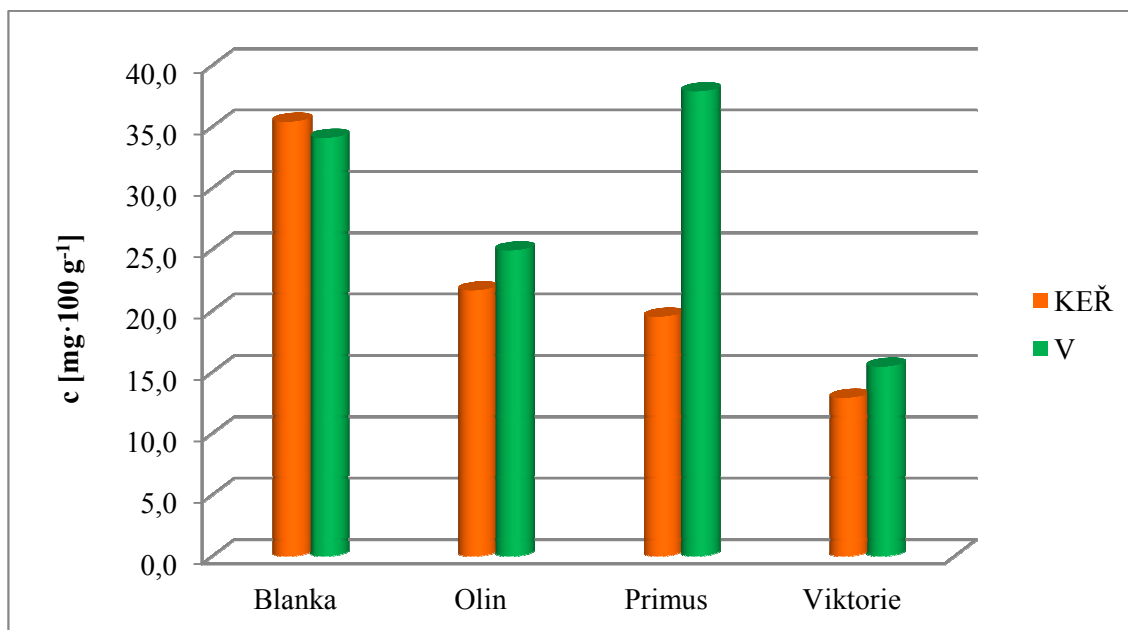
4.4.1.2 Stanovení vitamínu C u odrůd bílých rybízů od pěstitele Vondráčka

Tabulka 49: Naměřené plochy piků a průměrné koncentrace vitamínu C v bílých odrůdách rybízu od pěstitele Vondráčka přepočtena na 100 g ovoce

Odrůdy	Průměrná koncentrace vitamínu C [mg·100g ⁻¹]
Blanka KEŘ	35,4 ± 2,7
Blanka V	34,1 ± 5,6
Olin KEŘ	21,7 ± 4,1
Olin V	25,0 ± 0,5
Primus KEŘ	19,5 ± 6,7
Primus V	37,9 ± 6,5
Viktorie KEŘ	12,9 ± 4,2
Viktorie V	15,4 ± 9,0

V bílých rybízích od pěstitele Vondráčka nebyly koncentrace vitamínu C (tabulka 49) tak vysoké, jako v plodech bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. Nejvyšší koncentrace byla stanovena u odrůdy Primus V 37,9 mg·100g⁻¹ a také u odrůdy Blanka – Blanka KEŘ 35,4 mg·100g⁻¹ Blanka V 34,1 mg·100g⁻¹. Nejnižší koncentrace Vitamínu C byla v odrůdě Viktorie. Ve Viktorii KEŘ bylo naměřeno pouhých 12,9 mg·100g⁻¹. V odrůdách Olin, Primus a Viktorie byla vyšší koncentrace naměřena u modifikace V (graf 26). U odrůdy Blanka byla koncentrace nepatrně vyšší u KEŘ.

Naměřené koncentrace vitamínu C odpovídaly koncentracím uvedeným v literatuře, pouze u odrůdy Viktorie KEŘ byla koncentrace nižší.



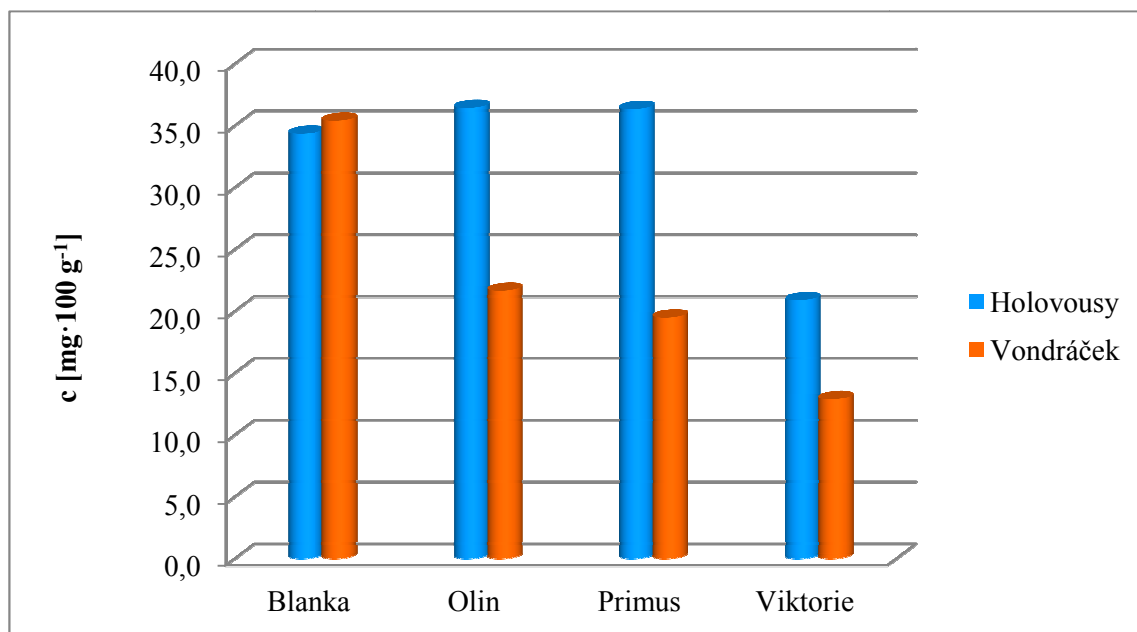
Graf 26: Srovnání obsahů vitamínu C mezi KEŘ a V v odrůdách bílých rybízů pěstitele Vondráčka

Tabulka 50: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací vitamínu C mezi KEŘ a V u odrůd bílých rybízů pěstitele Vondráčka a porovnání výsledků s tabelovanou hodnotou ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůdy	u	Hypotéza
Blanka	0,475	výsledky jsou shodné
Olin	1,396	výsledky jsou shodné
Primus	4,187	výsledky nejsou shodné
Viktorie	0,461	výsledky jsou shodné

Byl proveden prostřednictvím Lordova testu test na shodnost výsledků pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi KEŘ a V (tabulka 50). Shodnost výsledků byla prokázána u odrůd Blanka, Olin a Viktorie. U odrůdy Primus výsledky KEŘ a V shodné nebyly. Z výsledků testu shodnosti nelze jednoznačně určit, zdali tvar rostliny měl zásadní vliv na obsah vitamínu C v plodech bílých rybízů.

4.4.1.3 Porovnání obsahu vitamínu C u odrůd bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka



Graf 27: Srovnání obsahu vitamínu C v bobulích KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílého rybízu

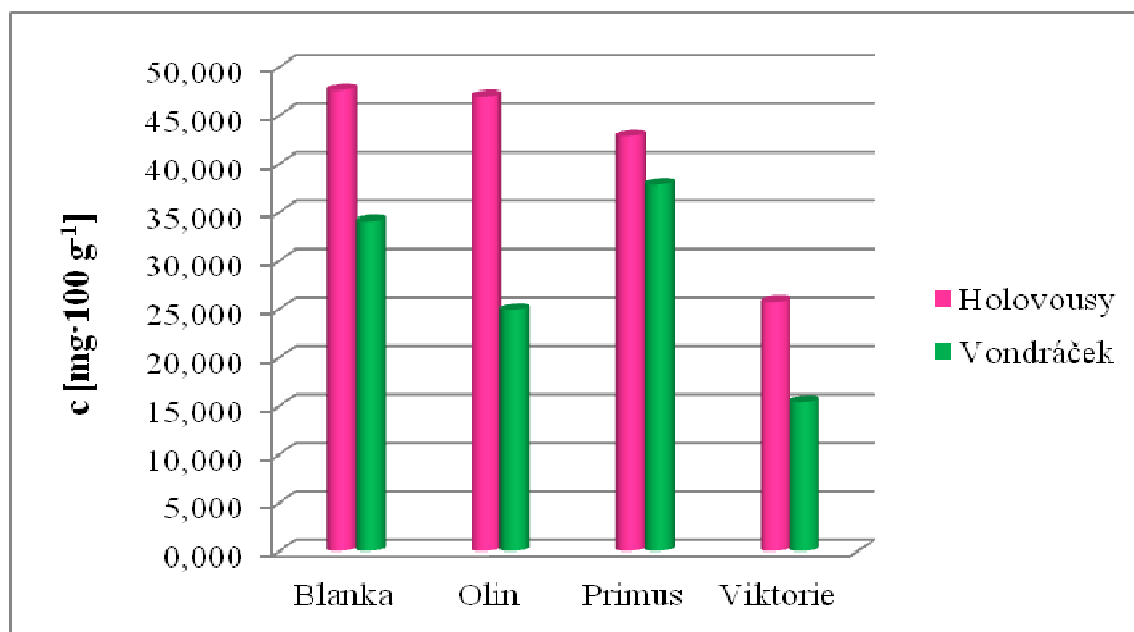
Vyšší koncentrace vitamínu C byly naměřeny u plodů KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (graf 27). Pouze u odrůdy Blanka byla koncentrace nepatrně vyšší u plodů od pěstitele Vondráčka.

Tabulka 51: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací vitamínu C u KEŘ z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůdy	u	Hypotéza
Blanka	0,576	výsledky jsou shodné
Olin	2,411	výsledky jsou shodné
Primus	3,499	výsledky nejsou shodné
Viktorie	2,042	výsledky jsou shodné

Pro srovnání koncentrací mezi bobulemi KEŘ odrůd bílého rybízu z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele

Vondráčka byl vypočítán test shodnosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %). Shodnost byla prokázána u odrůd Blanka, Olin a Viktorie (tabulka 51). Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah vitamínu C.



Graf 28: Srovnání obsahu vitamínu C v bobulích V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráček v odrůdách bílých rybízů

U modifikace V byly u všech čtyřech odrůd vyšší koncentrace v bobulích z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. než v bobulích od pěstitele Vondráčka (graf 28).

Tabulka 52: Výpočet Lordova testu (u) pro porovnání shodnosti výsledků koncentrací vitamínu C u V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka v odrůdách bílých rybízů ($u_{\text{krit.}} = 3,008$)

Odrůdy	u	Hypotéza
Blanka	3,895	výsledky nejsou shodné
Olin	7,473	výsledky nejsou shodné
Primus	0,910	výsledky jsou shodné
Viktorie	2,480	výsledky jsou shodné

Shodnost výsledků vypočtena Lordovým testem pro hladinu významnosti $\alpha = 0,01$ (99 %) mezi koncentracemi (tabulka 52) modifikace V byla prokázána u odrůd Primus a Viktorie. Shoda mezi koncentracemi modifikace V u odrůd Blanka a Olin Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a pěstitele Vondráčka nebyla. Z výsledků Lordova testu nelze jednoznačně určit, zdali mělo stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, zásadní vliv na obsah vitamínu C.

4.5 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita v odrůdách bílých, červených a černých rybízů byla stanovena podle metody uvedené v kapitole 3.5.

4.5.1 Stanovení antioxidační aktivity u odrůd bílých rybízů

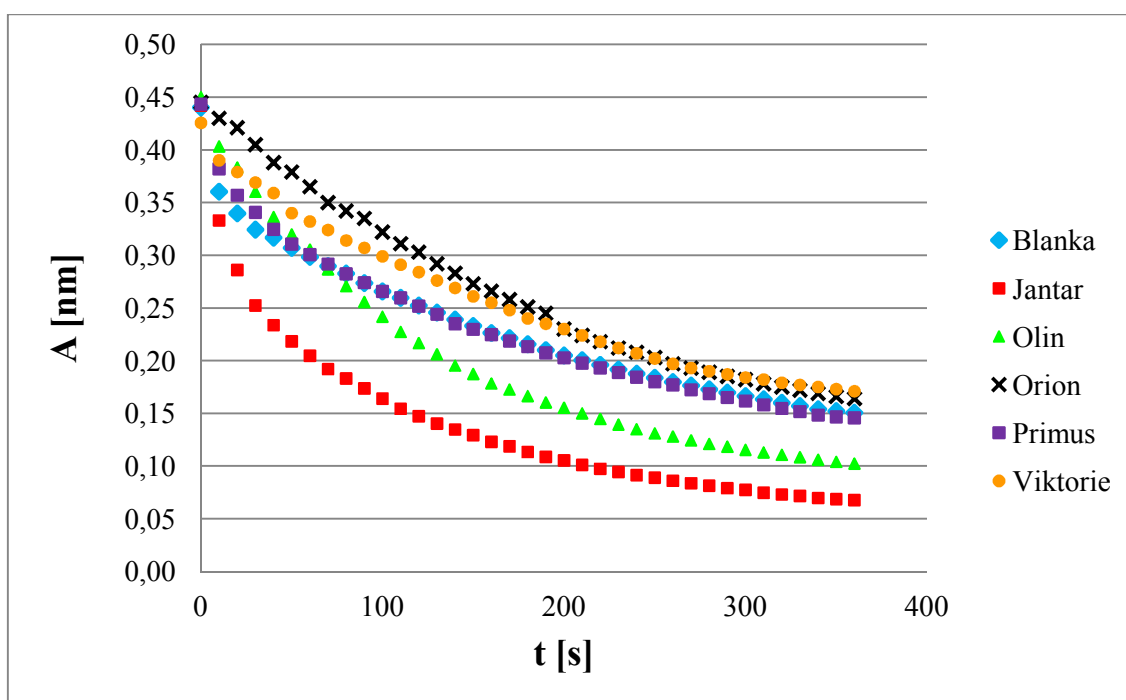
Celkem bylo analyzováno 6 odrůd bílých rybízů. Pro výpočet zhášecí aktivity byla vybrána průměrná hodnota absorbance všech tří měření, naměřená v čase 80 s.

Tabulka 53: Výsledné hodnoty zhášecí aktivity extraktů bílých odrůd rybízů

Odrůda	Průměrná absorbance A (v čase 80 s)	Zhášecí aktivita [80%]
Blanka	0,283	47,2
Jantar	0,183	65,9
Olin	0,271	49,4
Orion	0,342	36,2
Primus	0,282	47,4
Viktorie	0,314	41,4

Nejvyšší zhášecí aktivita u bílého rybízu byla naměřena u odrůdy Jantar, která v čase 80 s eliminuje 65,9 % radikálu. U odrůdy Jantar byl zároveň naměřen i nejvyšší obsah antioxidačního vitamínu C, polyfenolů a antokyanů. Nejnižší hodnoty zhašení aktivity byly naměřeny u odrůd Orion 36,2 % a Viktorie 41,4 % (tabulka 53), u kterých bylo stanoveno i nižší množství vitamínu C, polyfenolů a antokyanů.

Pokles absorbancí v průběhu měření, kdy došlo k reakci mezi vzorkem a radikálem DPPH byl zaznamenán do grafu 29.



Graf 29: Pokles absorbancí vzorků bílých rybízů v závislosti na čase

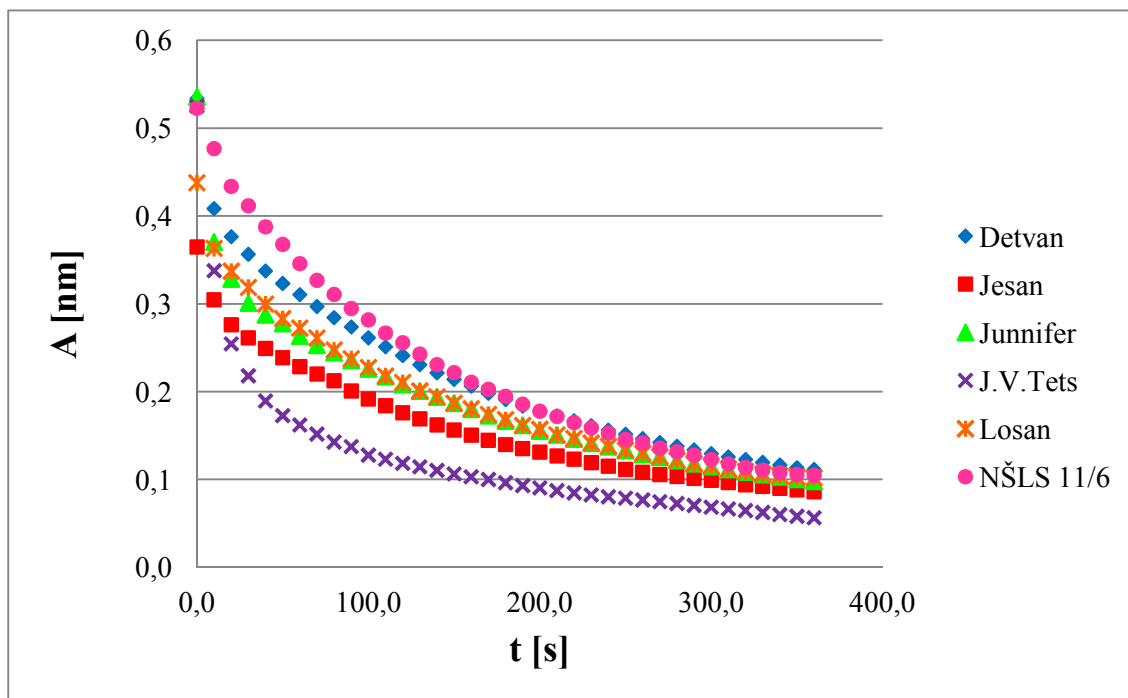
4.5.2 Stanovení antioxidační aktivity u odrůd červených rybízů

Celkem bylo analyzováno 11 odrůd červených rybízů. Pro výpočet zhášecí aktivity byla vybrána průměrná hodnota absorbance všech tří měření, naměřená v čase 80 s.

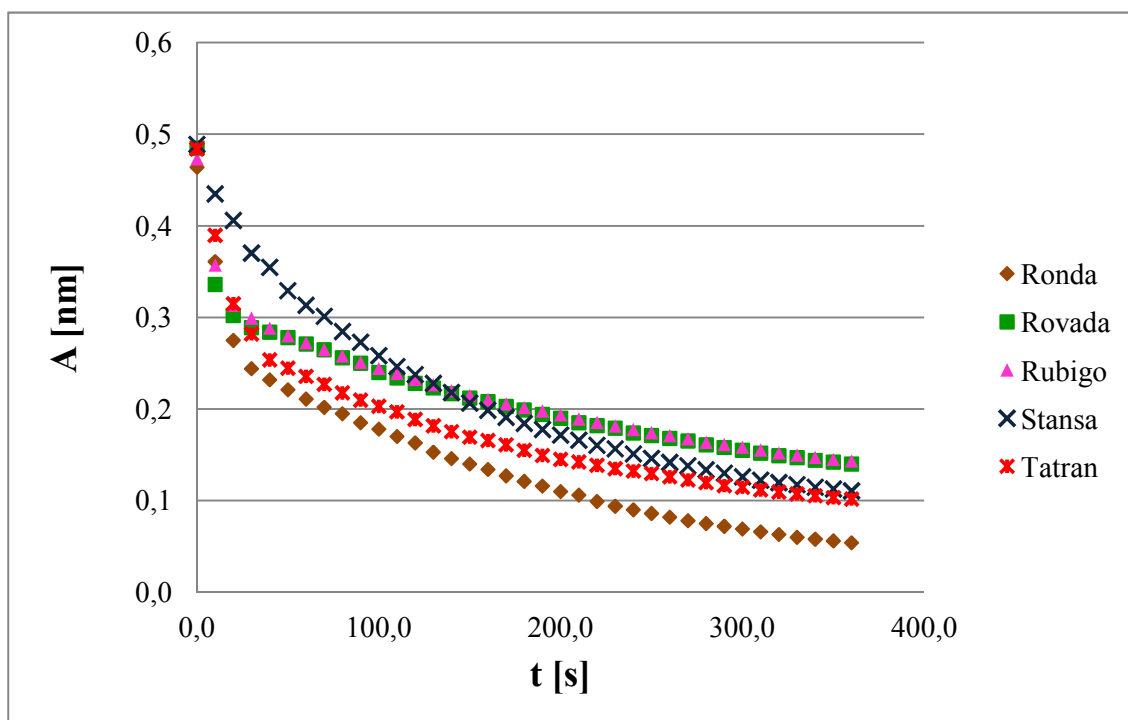
Tabulka 54: Výsledné hodnoty zhášecí aktivity extraktů červených odrůd rybízů

Odrůda	Průměrná absorbance A (v čase 80 s)	Zhášecí aktivity [80%]
Detvan	0,285	50,7
Jesan	0,213	60,7
Junnifer	0,245	57,6
J.V.Tets	0,143	75,3
Losan	0,248	54,2
NŠLS 11/6	0,256	42,6
Ronda	0,195	64,0
Rovada	0,311	55,7
Rubigo	0,272	49,8
Stansa	0,285	50,7
Tatran	0,218	59,8

Hodnoty zhášecí aktivity se u červených rybízů pohybovaly od 42,6 % u odrůdy NŠLS 11/6 až k 75,6 u odrůdy J.V.Tets (tabulka 54), což koresponduje i s obsah polyfenolů a antokyanů naměřených u těchto odrůd. Pokles absorbancí způsobený reakcí vzorku s radikálem DPPH byl kvůli přehlednosti zaznamenány do dvou grafů (graf 30 a graf 31).



Graf 30: Pokles absorbancí vzorků červených rybízů v závislosti na čase



Graf 31: Pokles absorbancí vzorků červených rybízů v závislosti na čase

4.5.3 Stanovení antioxidační aktivity u odrůd černých rybízů

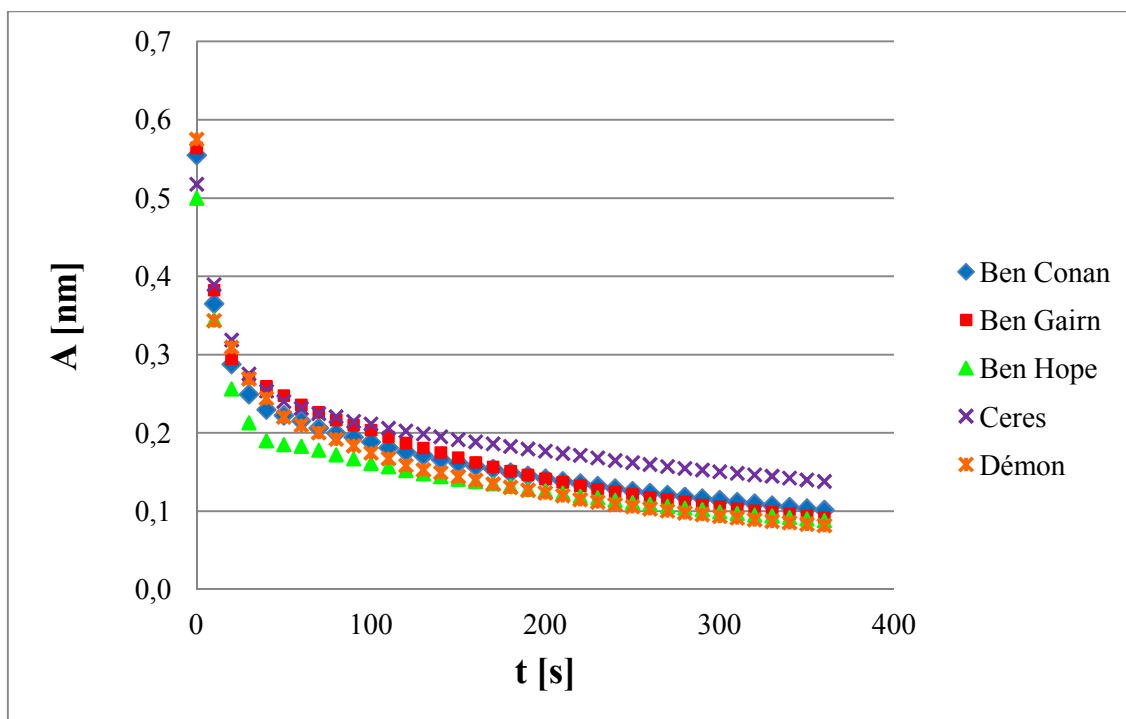
Celkem bylo analyzováno 10 odrůd černých rybízů. Pro výpočet zhášecí aktivity byla vybrána průměrná hodnota absorbance všech tří měření, naměřená v čase 80 s.

Tabulka 55: Výsledné hodnoty zhášecí aktivity extraktů černých odrůd rybízů

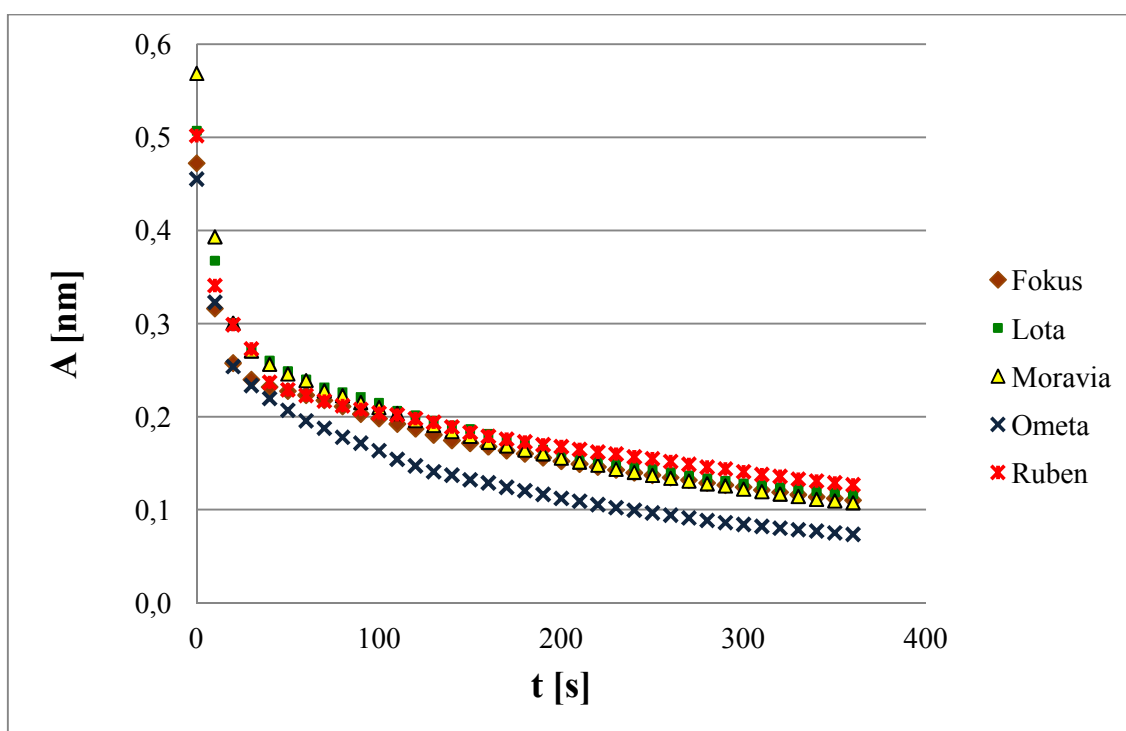
Odrůda	Průměrná absorbance A (v čase 80 s)	Zhášecí aktivita [80%]
Ben Conan	0,200	65,4
Ben Gairn	0,216	62,6
Ben Hope	0,212	70,6
Ceres	0,220	62,4
Demon	0,192	66,8
Fokus	0,211	63,9
Lota	0,226	61,4
Moravia	0,223	61,4
Ometa	0,178	69,2
Ruben	0,172	63,8

U černých rybízů byla stanovena nejvyšší zhášecí aktivita u odrůdy Ben Hope 70,6 % a nejnižší u odrůdy Lota a Moravia 61,4 % (tabulka 55). Stanovená zhášecí aktivita zhruba odpovídala i množství polyfenolů a antokyanů, které byly v odrůdách černého rybízu naměřeny.

Hodnoty poklesu absorbancí černých rybízů v závislosti na čase byly zaznamenány do grafů 32 a 33.



Graf 32: Pokles absorbancí vzorků černých rybízů v závislosti na čase



Graf 33: Pokles absorbancí vzorků černých rybízů v závislosti na čase

5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce je součástí projektu QI111A141 Ministerstva zemědělství. Název projektu je Výzkum nových technologií v pěstování angreštu a rybízu se zaměřením na kvalitu a využití plodů.

Teoretická část diplomové práce se zabývá popisem rostliny rodu *Ribes*, podmínkami pěstování, škůdci, kteří keře napadají, obsahem nutričně významných látek a využitím plodů v potravinářství. V dalších kapitolách teoretické části jsou charakterizovány fenolické látky, vitamin C a antioxidační aktivita, dále také jejich nutriční vlastnosti a způsoby stanovení.

Experimentální část je věnována stanovení polyfenolů spektrofotometricky pomocí Folin – Ciocaltauova činidla, stanovení antokyanových barviv pH – diferenciální metodou, stanovení vitaminu C prostřednictvím HPLC a stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.

Cílem práce bylo stanovení vybraných nutričně významných látek v bobulích 6 bílých, 12 červených a 13 černých odrůdách rybízů. Každá odrůda byla dodána ze 2 stanovišť, z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka, ve 2 tvarových modifikacích KEŘ a V. Stanovené nutriční hodnoty mezi KEŘ a V byly mezi sebou porovnány a bylo zhodnoceno, zdali má tvar rostliny zásadní vliv na obsah jednotlivých nutričně významných látek. Porovnání bylo provedeno také mezi dodavateli jednotlivých odrůd rybízů, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. a pěstitel Vondráček, a určeno, zdali má stanoviště, kde byl rybíz vypěstován, vliv na obsah jednotlivých látek.

Nejprve bylo provedeno stanovení polyfenolů v odrůdách bílých, červených a černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. a od pěstitele Vondráčka. Nejchudší na obsah polyfenolů byly bílé rybízky a naopak nejbohatší černé rybízky. Z plodů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. bylo stanoveno nejvyšší množství polyfenolů z odrůd bílých rybízů u odrůdy Jantar V $151,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, z odrůd červených rybízů u Jesan V $212,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a z černých rybízů u odrůdy Ometa KEŘ $327,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nejnižší množství polyfenolů bylo naměřeno z bílých rybízů u odrůdy Viktorie KEŘ $58,2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, z červených rybízů Losan V $90,3 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a z černých rybízů Černý Neguš KEŘ $59,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nejvyšší obsah polyfenolů v plodech od pěstitele

Vondráčka byl z bílých odrůd v Olin KEŘ 92,1 mg·100 g⁻¹ a Primus KEŘ 89,4 mg·100 g⁻¹, z červených rybízů v Rubigo V 216,8 mg·100 g⁻¹ a z černých rybízů v Ben Lomond 295,2 mg·100 g⁻¹. A naopak nejhudší na obsah polyfenolů byly v rybízích bílých Viktorie V 27,1 mg·100 g⁻¹, červených Rovada KEŘ 107,1 mg·100 g⁻¹ a černých Ruben V, kde je obsah ještě nižší než u Rovady, a to 72,8 mg·100 g⁻¹.

Dále byl stanoven obsah antokyanových barviv v jednotlivých odrůdách rybízů. U plodů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byl naměřen nejvyšší obsah antokyanů u bílých rybízů v odrůdě Jantar KEŘ 0,79 mg·100 g⁻¹, u červených rybízů v odrůdě Kozolupský raný KEŘ 44,8 mg·100 g⁻¹ a u černých rybízů Ometa KEŘ 200,7 mg·100 g⁻¹. Nejnižší obsah antokyanů byl u bílých rybízů v odrůdě Primus KEŘ i V, kde byla hodnota shodná 0,02 mg·100 g⁻¹, u červených rybízů v odrůdě NŠLS 11/6 KEŘ 10,2 mg·100 g⁻¹ a u černých rybízů v odrůdě Černý Neguš KEŘ 42,6 mg·100 g⁻¹. Z plodů od pěstitele Vondráčka bylo nejvyšší množství antokyanů u bílých rybízů v odrůdě Primus V 0,42 mg·100 g⁻¹, u červených rybízů v odrůdě J.V.Tets KEŘ 31,1 mg·100 g⁻¹ a u černých rybízů v odrůdě Ben Lomond KEŘ 196,3 mg·100 g⁻¹.

Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC bylo provedeno u všech odrůd bílých rybízů. Nejvyšší obsah z plodů Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byl prokázán u odrůdy Jantar KEŘ 49,8 mg·100 g⁻¹ a Jantar V 49,0 mg·100 g⁻¹ a nejnižší obsah u odrůd Orion 17,7 mg·100 g⁻¹ a Viktorie KEŘ 20,9 mg·100 g⁻¹. U plodů od pěstitele Vondráčka byl nejvyšší obsah vitamínu C stanoven u odrůdy Primus V 37,9 mg·100 g⁻¹ a nejnižší u Viktorie KEŘ 12,9 mg·100 g⁻¹.

Na závěr byla stanovena antioxidační aktivita v čase 80 s u jednotlivých odrůd rybízů. U bílých rybízů byla nejvyšší zhášecí aktivita u odrůdy Jantar 65,9 %, což koresponduje i s vysokým obsahem naměřených polyfenolů, antokyanů a vitamínu C. U odrůd Orion a Viktorie byly obsahy polyfenolů, antokyanů a vitamínu C nízké, proto byla i hodnota zhášecí aktivity nízká – Orion 36,2 % a Viktorie 41,4 %. U červených rybízů byla nejvyšší zhášecí aktivita stanovena u odrůdy J.V.Tets 75,6 %, u které byly obsahy stanovovaných nutričně významných látek vysoké, naopak nejnižší zhášecí aktivita byla u odrůdy NŠLS 11/6 42,6 %, u níž byly obsahy nutričně významných látek oproti jiným odrůdám červeného rybízu nízké. U černých rybízů byly stanoveny poměrně vysoké hodnoty polyfenolů a antokyanů u odrůdy Ben Hope, proto je i zhášecí

aktivita vysoká 70,6 % a nejnižší hodnoty byly stanovené u odrůd Lota a Morávia, zhášecí aktivita u nich činila 61,4 %.

Odrůda Primus z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. obsahovala oproti plodům této odrůdy od pěstitele Vondráčka velmi malý obsah antokyanů, to mohlo být způsobeno stanovištěm, kde byl rybíz pěstován nebo zralostí plodů. V plodech KEŘ a V z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. byl obsah antokyanů pouhých $0,02 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a v plodech od pěstitele Vondráčka v KEŘ $0,42 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a V $0,31 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Rozdíl obsahu antokyanů mezi dodavateli činí 94 %. Primus od pěstitele Vondráčka obsahoval i velké množství polyfenolů a vitamínu C.

Z výsledků jednotlivých nutričních hodnot nelze s přesností stanovit, zdali má tvar rostliny nebo stanoviště zásadní vliv na obsah jednotlivých složek. V několika málo případech bylo stanoveno, že obsah nutričních látek je v modifikacích KEŘ a V shodný, ale v ostatních případech se lišily. Stejně tomu bylo i při porovnání jednotlivých stanovišť, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. a pěstitel Vondráček, kde byly obsahy ve velké většině neshodné. Vyšší obsahy jednotlivých nutričních hodnot vycházely vyšší převážně u plodů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o.

Naměřené hodnoty jednotlivých nutričních látek byly odlišné i od hodnot z literatury. To mohlo být způsobeno již zmiňovaným stanovištěm, protože rybízy, popsané v literatuře, byly pěstovány mimo Českou republiku, tedy zásadní roli mohly hrát odlišné klimatické podmínky, dále také záleželo na typu odrůdy či stupni zralosti plodů.

Do budoucích let by se měla věnovat větší pozornost tomu, aby plody byly sbírány v plné zralosti, aby nedocházelo ke komplikacím a zkreslování výsledků při měření.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] *PLANTS Database: USDA PLANTS* [online]. Poslední verze 2009 [cit. 2014-01-02]. Classification.
Dostupné z: <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=RIBES>.
- [2] DUŠKOVÁ, L., KOPŘIVA, J.: *Pěstujeme rybíz, angrešt, jostu*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2002. 112 s. ISBN 80-247-0223-1.
- [3] BLATTNÝ, C.: *Rybízy, angrešty, maliníky a ostrižiny*. 1. vyd. Praha: Academia, 1971. 576 s.
- [4] HARANT, M., ZACHA, V.: *Pěstujeme bobuloviny*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1974. 258 s.
- [5] HRIČOVSKÝ, I.: *Rybíz, angrešt na zahrádce*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství 1990. 59 s.
- [6] LUŽA, J.: *Malá pomologie*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1967. 384 s.
- [7] NESRSTA, D., JAN, T., HANČ, M.: *Drobné ovoce a skořápkoviny: přes 140 barevných fotografií a popisů odrůd*. 1. vyd. Olomouc: Baštan, 2013. 213 s. ISBN 978-80-87091-40-1
- [8] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin I*. 3. vyd. Tábor, CZ: OSSIS, 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [9] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin II*. 3. vyd. Havlíčkův Brod: OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-86659-16-9.
- [10] VELÍŠEK, J., CEJPEK, K.: *Biosynthesis of Food Components*. 1. vyd. Tábor, CZ: OSSIS, 2008. 512 s

- [11] OPLETAL, L.: *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2010, 378 s. ISBN 978-80-246-1884-5.
- [12] OPLETAL, L., SKŘIVANKOVÁ, V.: *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2010, 653 s. ISBN 978-80-246-1801-2.
- [13] MÍKA, V.: *Fenolické látky v lučních rostlinách*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2001, 116 s. ISBN 80-86555-07-0.
- [14] VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie 2*. 1.vyd. Praha: Academia, 1992, 135 s. ISBN 80-200-0441-6.
- [15] Bravo, L.: Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 1998, roč. 56, č. 11, s. 317 – 333. ISSN 00296643.
Dostupné z:
<http://search.proquest.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/docview/212310380?accountid=17115>
- [16] ONDREJOVIČ, M., MALIAR, T., POLÍVKA, L., ŠILHÁR, S.: Polyfenoly Jablk. *Chemické listy*, 2009, roč. 103, s. 394 – 400.
Dostupné Z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_05_394-400.pdf
- [17] MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, CH., RÉMÉSY, CH., JIMÉNEZ, L.: Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Society for Clinical Nutrition*, roč. 79, č. 5, s. 727 – 747. Dostupné Z: <http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full>
- [18] MARCANÍKOVÁ, K., BEŇOVÁ, B.: Využití coulometrického detektoru pro analýzu fenolických látek. *Chemické listy*, 2010, roč. 104, s. 27 – 30.
Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_13_s27-s30.pdf
- [19] MÍKA, V. *Fenolické látky v lučních rostlinách*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2001, 116 s., ISBN 80-86555-07-0.

[20] KUHNLE, G.G.C., DELL'AQUILA, C., RUNSWICK, A.S., BINGHAM, A.S.: Variability of phytoestrogen content in foods from different sources. *Food chemistry*, 2009, roč. 113, č. 4, s. 1184 – 1187.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608009679>

[21] JORDHEIM, M., MÅGE, F., ANDERSEN, Ø.M.: Anthocyanins in Berries of Ribes Including Gooseberry Cultivars with a High Content of Acylated Pigments. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, roč. 55, č. 14, s. 5529 – 5535.

Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0709000>

[22] DYKES, L., ROONEY, L.W.: Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. Feature, 2007.

Dostupné z: http://sorghumcheckoff.com/wp-content/uploads/2012/06/Dykes_and_Rooney_CFW_2007.pdf

[23] IGNATOWICZ, E., BAER – DUBOWSKÁ, W.: Resveratrol, a natural chemopreventive agent against degenerative disease. *Pol. J. Pharmacol.*, 2001, roč. 53, č. 6, s. 557 – 569, ISSN 1230 - 6002

Dostupné z: http://www.if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2001/6_557.pdf

[24] ŠMIDRKAL, J., FILIP, V., MELZUCH, K., HANZLÍKOVÁ, I., BUCKIOVÁ, D., KŘÍSA, B.: Resveratrol. *Chemické listy*, 2001, roč. 95, č. 10, s. 602 – 609.

Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/10-PDF/602-609.pdf>

[25] FREMONT, L., Biological effects of resveratrol. *Life Science*, 2000, roč. 66, č. 8, s. 663 – 673.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320599004105>

[26] BEGUM, A.N., NICOLLETE, C., MILA, I., LAPIERRE, C., NAGANO, K., FUKUSIMA, K., HEINENON, S.M., ADLERCREUTZ, H., REMESY, C., SCALBERT, A., 2004. Dietary lignins are precursors of mammalian lignans in rats. *Journal of Nutrition*, roč. 134, č. 1, s. 120 – 127.

Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/134/1/120.long>

- [27] WATERHOUSE, L.A.: DETERMINATION OF TOTAL PHENOLICS. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2002. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faa0101s06/abstract>
- [28] STRATIL, P., KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V.: Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 2007, roč. 71, č. 4, s. 1741 – 1751.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914006005741>
- [29] STRATIL, P., KUBÁŇ, V., FOJTOVÁ, J.: Comparison of the Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Wines as Determined by Spectrophotometric Methods. *Czech J. Food Sci.*, 2008, roč. 26, č. 4, s. 242 – 253.
Dostupné z: <http://agriculturejournals.cz/publicFiles/01961.pdf>
- [30] LEE, G., ROSSI, V.M., COICHEV, N., MOYA, D.H.: The reduction of Cu(II)/neocuproine complexes by some polyphenols: Total polyphenols determination in wine samples. *Food Chemistry*, 2011, roč. 126, č. 2, s. 679 – 686.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610014275>
- [31] NAKAMURA, T., COICHEV, N., MOYA, D.H.: Modified CUPRAC spectrophotometric quantification of total polyphenol content in beer samples using Cu(II)/neocuproine complexes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012, roč. 28, č. 2, s. 126 – 134.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157512001470>
- [32] CASTAÑEDA – OVANDO, A., PACHECO – HERNÁNDEZ, M.A.L., PÁEZ – HERNÁNDEZ, M.A.E., RODRÍGUEZ, J.A., GALÁN – VIDAL, C.A.: Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 2009, roč. 113, č. 4, s. 859 – 871.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608010674>
- [33] WELCH, C.R., QINGLI, W., SIMON J.E.: Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. *Current Analytical Chemistry*, 2008, roč. 4, č. 2, s. 75 – 101. ISSN 15734110.
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2783603/>

- [34] DELGADO – VARGAS, F., JIMÉNEZ, A.R., PAREDES – LÓPEZ, O.: Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains – Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 200. roč. 40, č. 3, s. 173 – 289. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10850526>
- [35] GIUSTI, M.M., WROLSTAD R.E.: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV – Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001.
Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faf0102s00/abstract>
- [36] VALLS, J., MILIÁN, S., MARTI, M.P., BORRÀS, E., AROLA, L.: Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 2009, roč. 1216, č. 43, s. 7143 – 7172.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967309010206>
- [37] DA COSTA, C.T., HORTON D., MARGOLIS, S.A.: Analysis of anthocyanins in food by chromatography, liquid chromatography – mass spectrometry and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 2000, roč. 881, č. 1 – 2, s. 403 – 410.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300003289>
- [38] DENEV, P., CIZ, M., AMBROZOVA, G., LOJEK, A., YANAKIEVA, I., KRATCHANOVA, M.: Solid – phase extraction of berries anthocyanins and evaluation of their antioxidative properties. *Food Chemistry*, 2010, roč. 123, č. 4, s. 1055 – 1061.
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610006357>
- [39] JORDÁN, V., HEMZALOVÁ, M.: ANTIOXIDANTY: *Zázračné zbraně: vitaminy, minerály, stopové prvky, aminokyseliny jejich využití pro zdravý život*. Vyd. 1. Brno: Jota, 2001, 153 s. ISBN 80-7217-156-9.
- [40] SCHMIDT, Š.: *Antioxidanty a oxidačné změny tukov v potravinách*. 1. vyd. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011, 217 s. ISBN 978-80-227-3491-2.

[41] BABBAR, N., OBEROI, H.S., UPPAL, D.S., PATIL, R.T.: Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtain from six important fruit residues. *Food Research International*, 2011, roč. 44, č. 1, s. 391 – 396.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910003625>

[42] STRUNECKÁ, A., PATOČKA, J.: *Doba jedová*. 1. vyd. Praha: Triton, 2011 – 2012, s. 295, ISBN 978-80-7387-469-81.

[43] SLÍVA J., MINÁRIK, J.: *Doplňky stravy*. 1. vyd. Praha: Troton, 2009, 124 s. ISBN 978-80-7387-169-7.

[44] PISOSCHI, A.M., POP, A., SERBAN, A.I., FAFANEATA, C.: Elektrochemical methods for ascorbic acid determinativ. *Electrochimica Acta*, 2014, roč. 121, s. 443 – 460.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468613025802>

[45] ARYA, S.P., MAHAJAN, M., JAIN, P.: Non – spectrophotometric metods for the determinativ of Vitamin C. *Analytica Chimica Acta*, 2000, roč. 417, č. 1, s. 1 – 14.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267000009090>

[46] BURINI, G., Development of a quantitative metod for the analysis of total L-ascorbic acid in fous by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2007, roč. 1154, č. 1 – 2, s. 97 – 102.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967307004803>

[47] RAHMAN KHAN, M.M., TAHMAN M.M., ISLAM M.S., BEGUM, S.A.: A Simple UV Spevtrophotometric Method for the Determination of Vitamin C Content in Various Fruits and Vegetables at Sylhet Alea in Banladesh. *Journal of Biological Sciences*, 2006, roč. 6, č. 2., s. 388 – 392, ISSN 1727 – 3048.

Dostupné z: <http://scialert.net/fulltext/?doi=jbs.2006.388.392>

[48] NOVÁKOVÁ, L., SOLICH, P.: HPLC methods for simultaneous of ascorbic and dehydroascorbic acids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, roč. 27, č. 10, s. 942 – 958.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993608001805>

[49] CHEBROLU, K.K., JAYAPRAKASHA, G.K., YOO, K.S., JIFON, J.L., PATIL, B.S.: An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC. *LWT – Food Science and Technology*, 2012, roč. 47, č. 2, s. 443 – 449.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812000813>

[50] KARABÍN, M., DOSTÁLEK, P., HOFTA, P.: Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chemické listy*, 2006, roč. 100, s. 184 – 189.

Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_03_184-189.pdf

[51] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E.: Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*, 2004, roč. 98, s. 174 – 179.

Dostupné z: http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf

[52] WEIL, J.A., BOLTON, J.R.: Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and practical Applications. *McGraw-Hill Book Company*, 2007, s. 664.

Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ed086p33>

[53] HARRIS, C.S., CUERIRIER, A., LOMANT, E., HADDAD, P.S., ARNASON, J.T., BENNETT, S.A.L., JOHNS, T.: Investigating wild berries as a dietary approach to reducing the formation of advanced glycation endproducts: Chemical correlates of in vitro antiglycation activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2014, roč.69, č. 1, s. 71 – 77. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11130-014-0403-3>

[54] BENVENUTI, S., PELLATI, E., MELEGARI, M., BERTELLI, D.: Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*, 2004, roč. 69, č. 3, s. 164 – 169.

Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13352.x/pdf>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAPH	2,2'-azobis(isobutyrimidamid)-dihydroxhloride
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothianizol-6-sulfonát)
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
CCC	countercurrent chromatography
CE	capillar electrophoresis
CEC	capillary electrochromatography
CGE	capillary gel electrophoresis
CZE	capillary zone electrophoresis
CITP	capillary isotachophoresis
CUPRAC	copper reduction assay
DAD	diode array detektor
DCIP	2,6-dichlorophenolindofenol
DNA	deoryribonucleic acid
DNPB	2,4-dinitrophenylhydrazine
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EDTA	etyllenediaminetetraacetic acid
EPR	elektron paramagnetic resonance
ESI	electrospray ionization
FAB	fast atom bombardment
FCM	Folin-Ciocalteu metod
FRAP	ferric reducing antioxidant potential
HILIC	hydrophilic interaction liquid chromatography
HPLC	high performance (pressure) liquid chromatogramy
HSCCC	high speed countercurrent chromatography
LDL	low density lipoprotein
LIF	laser induced fluorescence
MALDI	micellar electrokinetic chromatogramy
MEKC	micellar electrokinetic chromatography
MS	mass spectrometry
NMR	nuclear magnetic resonance
ODS	octadecyl silica gel
ORAC	oxygen radiál absorbance capacity

PC	paper chromatography
PS/DVB	poly(styrene-divinylbenzene)
RPC	reserved phase chromatography
TCL	thin layer chromatogramy
TEAC	trolox equival entantioxidant capacity
TOF	time of flight
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
UV	ultraviolet radiation
VIS	visible radiation

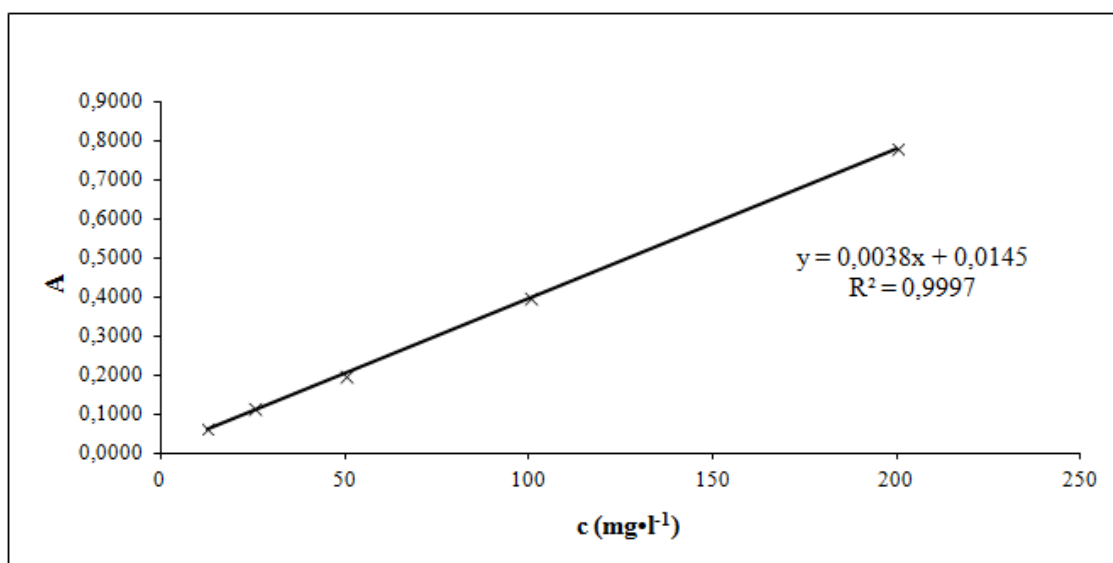
8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1: Kalibrační závislost pro stanovení polyfenolů měřená při 750 nm
- Příloha 2: Hodnoty kalibrační závislosti pro stanovení polyfenolů
- Příloha 3: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 4: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 5: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 6: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 7: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 8: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 9: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 10: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3, \alpha = 0,01$)

- Příloha 11: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 12: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 13: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 14: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 15: Kalibrační křivka pro stanovení vitamínu C
- Příloha 16: Hodnoty kalibrační křivky pro stanovení vitamínu C
- Příloha 17: Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3, \alpha = 0,01$)
- Příloha 18: Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3, \alpha = 0,01$)

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Kalibrační závislost pro stanovení polyfenolů měřená při 750 nm



Příloha 2: Hodnoty kalibrační závislosti pro stanovení polyfenolů

Koncentrace [mg·l ⁻¹]	A ₁	A ₂	A ₃	Průměrná A
12,500	0,064	0,064	0,060	0,063
25,000	0,118	0,114	0,115	0,116
50,000	0,196	0,199	0,197	0,197
100,000	0,396	0,396	0,399	0,397
200,000	0,763	0,777	0,795	0,778

Příloha 3: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [mg·100 g⁻¹] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (n = 3, α = 0,01)

Odrůda	R	S	s _x	s _r [%]	IS
Blanka – KEŘ	1,329	0,544	0,314	0,884	61,533 ± 3,998
Blanka – V	1,057	0,432	0,249	0,713	60,537 ± 3,178
Jantar – KEŘ	1,825	0,782	0,451	0,680	114,916 ± 5,488
Jantar – V	1,183	0,494	0,285	0,327	151,104 ± 3,559
Olin – KEŘ	1,611	0,693	0,400	0,676	102,513 ± 4,846
Olin – V	0,814	0,358	0,207	0,292	122,444 ± 2,447
Orion – KEŘ	1,094	0,447	0,258	0,340	131,308 ± 3,291
Orion – V	1,359	0,557	0,321	0,483	115,273 ± 4,088

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Primus – KEŘ	1,203	0,501	0,289	0,533	93,994 ± 3,619
Primus – V	1,389	0,601	0,347	0,610	98,558 ± 4,177
Viktorie – KEŘ	1,926	0,788	0,455	1,331	58,226 ± 5,792
Viktorie - V	2,061	0,855	0,494	1,391	61,446 ± 6,198

Příloha 4: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Blanka – KEŘ	1,489	0,617	0,356	0,939	65,680 ± 4,478
Blanka – V	0,988	0,427	0,246	0,680	62,773 ± 2,970
Olin - KEŘ	1,694	0,696	0,402	0,756	92,136 ± 5,059
Olin - V	1,026	0,420	0,243	0,485	86,728 ± 3,086
Primus - KEŘ	1,307	0,538	0,311	0,602	89,433 ± 3,931
Primus - V	1,382	0,580	0,335	0,703	82,559 ± 4,157
Viktorie - KEŘ	0,946	0,421	0,243	1,327	31,726 ± 2,845
Viktorie - V	1,906	0,780	0,450	2,881	27,064 ± 5,732

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

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Detvan - KEŘ	1,211	0,519	0,300	0,372	139,653 ± 3,643
Detvan - V	1,307	0,579	0,334	0,372	155,518 ± 3,932
Jesan - KEŘ	1,761	0,722	0,417	0,612	117,925 ± 5,298
Jesan - V	2,108	0,881	0,508	0,414	212,478 ± 6,340
Junnifer – KEŘ	1,692	0,691	0,399	0,423	163,492 ± 5,090
Junnifer - V	1,851	0,831	0,480	0,499	166,487 ± 5,567
J.V.Tets – KEŘ	1,811	0,757	0,437	0,410	184,547 ± 5,448
J.V.Tets - V	1,380	0,606	0,350	0,376	161,279 ± 4,152
Kozolupský raný - KEŘ	1,612	0,673	0,388	0,433	155,270 ± 4,850
Kozolupský raný - V	1,628	0,673	0,418	0,455	159,396 ± 4,898
Losan - KEŘ	0,438	0,186	0,108	0,132	141,271 ± 1,318
Losan - V	1,725	0,726	0,419	0,805	90,261 ± 5,188
NŠLS 11/6 – KEŘ	1,902	0,778	0,449	0,524	148,567 ± 5,722

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
NŠLS 11/6 – V	1,376	0,582	0,336	0,359	161,953 ± 4,138
Rovada - KEŘ	1,304	0,597	0,345	0,401	148,762 ± 3,923
Rovada - V	1,997	0,865	0,499	0,546	158,481 ± 6,008
Rubigo- KEŘ	0,618	0,261	0,150	0,180	144,892 ± 1,858
Rubigo - V	1,154	0,481	0,278	0,267	180,188 ± 3,471
Stansa - KEŘ	1,226	0,515	0,297	0,277	186,152 ± 3,688
Stansa - V	2,174	0,898	0,518	0,455	197,252 ± 6,540
Tatran - KEŘ	2,064	0,892	0,515	0,539	165,425 ± 6,208
Tatran -V	1,378	0,598	0,345	0,466	128,298 ± 4,144

Příloha 6: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Jesan - KEŘ	2,189	0,895	0,517	0,642	139,294 ± 6,585
Jesan - V	1,232	0,503	0,290	0,282	178,345 ± 3,705
Junnifer – KEŘ	1,421	0,595	0,344	0,501	118,737 ± 4,274
Junnifer - V	1,087	0,461	0,266	0,350	131,627 ± 3,270
J.V.Tets – KEŘ	2,009	0,840	0,485	0,517	162,350 ± 6,043
J.V.Tets - V	1,735	0,719	0,415	0,436	165,135 ± 5,219
Kozolupský raný - KEŘ	1,957	0,815	0,471	0,612	133,133 ± 5,888
Kozolupský raný - V	1,745	0,736	0,425	0,425	173,300 ± 5,248
NŠLS 11/6 – KEŘ	1,804	0,743	0,429	0,666	111,583 ± 5,427
NŠLS 11/6 – V	1,393	0,571	0,330	0,457	124,895 ± 4,190
Ronda - KEŘ	1,592	0,677	0,391	0,632	107,095 ± 4,788
Ronda – V	1,362	0,563	0,325	0,346	162,746 ± 4,098
Rovada - KEŘ	1,386	0,566	0,327	0,396	143,000 ± 4,170
Rubigo- KEŘ	1,972	0,849	0,490	0,636	133,472 ± 5,933
Rubigo - V	1,735	0,754	0,435	0,348	216,775 ± 5,220
Stansa - V	1,199	0,516	0,298	0,294	175,738 ± 3,606
Tatran - KEŘ	2,281	0,931	0,538	0,554	168,270 ± 6,862
Tatran -V	2,175	0,901	0,520	0,664	135,659 ± 6,543

Příloha 7: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Ben Conan – KEŘ	1,427	0,607	0,350	0,259	234,092 ± 4,294
Ben Conan - V	1,226	0,508	0,293	0,318	159,754 ± 3,689
Ben Gaim – KEŘ	1,448	0,592	0,342	0,257	230,535 ± 4,357
Ben Gaim – V	0,773	0,316	0,183	0,121	262,316 ± 2,327
Ben Hope – KEŘ	1,878	0,833	0,481	0,494	168,698 ± 5,649
Ben Hope – V	0,760	0,324	0,187	0,106	305,410 ± 2,285
Ben Lomond – KEŘ	1,520	0,622	0,359	0,222	280,589 ± 4,572
Ben Lomond – V	1,712	0,722	0,417	0,253	285,394 ± 5,150
Ceres – KEŘ	0,811	0,332	0,192	0,152	218,463 ± 2,438
Ceres – V	1,574	0,668	0,386	0,339	197,078 ± 4,735
Černý Neguš – KEŘ	0,884	0,387	0,224	0,648	59,804 ± 2,660
Černý Neguš – V	1,317	0,582	0,336	0,490	118,661 ± 3,962
Démon – KEŘ	1,612	0,663	0,383	0,246	155,409 ± 4,691
Démon - V	1,559	0,649	0,375	0,419	269,962 ± 4,848
Fokus - KEŘ	1,052	0,449	0,259	0,264	169,846 ± 3,165
Fokus - V	1,115	0,459	0,265	0,175	262,361 ± 3,353
Lota – KEŘ	2,141	0,875	0,505	0,480	183,196 ± 6,440
Lota – V	0,618	0,253	0,146	0,143	177,047 ± 1,860
Morávia – KEŘ	1,930	0,854	0,493	0,342	249,391 ± 5,805
Morávia - V	1,619	0,691	0,399	0,337	204,655 ± 4,871
Ometa – KEŘ	1,151	0,480	0,277	0,146	327,473 ± 3,461
Ometa – V	1,280	0,523	0,302	0,196	266,722 ± 3,851
Ruben – KEŘ	1,178	0,482	0,278	0,284	169,638 ± 3,545
Ruben – V	1,395	0,588	0,340	0,315	186,609 ± 4,198
Triton – KEŘ	1,510	0,674	0,389	0,518	130,090 ± 4,542
Triton - V	1,105	0,459	0,265	0,217	211,652 ± 3,324

Příloha 8: Statistické zpracování výsledků koncentrací polyfenolů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Ben Conan – KEŘ	1,524	0,701	0,405	0,721	97,178 ± 4,294
Ben Conan - V	1,562	0,677	0,391	0,307	220,667 ± 3,689
Ben Gaim – KEŘ	0,528	0,220	0,127	0,149	148,183 ± 1,587
Ben Gaim – V	2,266	0,981	0,566	0,684	143,464 ± 6,816
Ben Hope – KEŘ	2,288	0,943	0,544	0,518	182,219 ± 6,882
Ben Hope – V	1,222	0,519	0,299	0,297	174,611 ± 3,675
Ben Lomond – KEŘ	1,887	0,780	0,450	0,264	295,172 ± 5,675
Ben Lomond – V	1,878	0,771	0,445	0,270	286,003 ± 5,648
Ceres – KEŘ	1,964	0,825	0,476	0,578	142,627 ± 5,907
Ceres – V	0,448	0,188	0,109	0,122	153,812 ± 1,346
Démon – KEŘ	1,244	0,512	0,296	0,341	150,153 ± 3,743
Démon - V	1,942	0,826	0,477	0,291	283,572 ± 5,843
Fokus - KEŘ	1,140	0,499	0,288	0,619	80,518 ± 3,429
Fokus - V	0,922	0,377	0,217	0,266	141,770 ± 2,772
Lota – KEŘ	0,946	0,391	0,226	0,260	150,449 ± 2,845
Lota – V	2,177	0,892	0,515	0,735	121,371 ± 6,548
Morávia – KEŘ	1,483	0,624	0,361	0,397	157,393 ± 4,461
Morávia - V	0,684	0,290	0,167	0,128	226,458 ± 2,056
Ometa – KEŘ	1,226	0,507	0,293	0,210	241,449 ± 3,688
Ometa – V	1,629	0,710	0,410	0,244	290,998 ± 4,899
Ruben – KEŘ	1,730	0,707	0,408	0,289	181,641 ± 5,203
Ruben – V	1,771	0,726	0,419	0,997	72,805 ± 5,327
Triton – KEŘ	1,344	0,550	0,317	0,325	168,360 ± 4,041
Triton - V	0,378	0,160	0,092	0,130	122,915 ± 1,136

Příloha 9: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Blanka – KEŘ	0,003	0,001	0,001	0,433	$0,288 \pm 0,009$
Blanka – V	0,003	0,001	0,001	0,443	$0,281 \pm 0,009$
Jantar – KEŘ	0,015	0,006	0,004	2,212	$0,791 \pm 0,045$
Jantar – V	0,005	0,006	0,001	0,288	$0,715 \pm 0,015$
Olin - KEŘ	0,004	0,002	0,001	4,492	$0,034 \pm 0,011$
Olin - V	0,009	0,004	0,002	2,081	$0,185 \pm 0,027$
Orion - KEŘ	0,005	0,002	0,001	8,488	$0,024 \pm 0,015$
Orion - V	0,009	0,004	0,002	2,832	$0,132 \pm 0,026$
Primus - KEŘ	0,000	0,000	0,000	0,968	$0,018 \pm 0,001$
Primus - V	0,000	0,000	0,000	0,711	$0,018 \pm 0,001$
Viktorie - KEŘ	0,005	0,002	0,001	0,416	$0,487 \pm 0,015$
Viktorie - V	0,006	0,002	0,001	1,174	$0,209 \pm 0,018$

Příloha 10: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Blanka – KEŘ	0,003	0,001	0,001	0,788	$0,158 \pm 0,009$
Blanka – V	0,003	0,001	0,001	0,548	$0,228 \pm 0,009$
Olin - KEŘ	0,003	0,001	0,001	1,445	$0,086 \pm 0,009$
Olin - V	0,009	0,004	0,002	2,576	$0,141 \pm 0,026$
Primus - KEŘ	0,004	0,002	0,001	0,408	$0,417 \pm 0,012$
Primus - V	0,004	0,002	0,001	0,545	$0,312 \pm 0,012$
Viktorie - KEŘ	0,003	0,001	0,001	2,163	$0,069 \pm 0,010$
Viktorie - V	0,003	0,001	0,001	0,913	$0,123 \pm 0,008$

Příloha 11: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Detvan - KEŘ	0,473	0,193	0,112	0,637	30,335 ± 1,423
Detvan - V	0,422	0,174	0,101	0,656	26,538 ± 1,269
Jesan - KEŘ	0,858	0,359	0,207	0,998	36,000 ± 2,581
Jesan - V	0,384	0,164	0,095	0,526	31,266 ± 1,154
Junnifer – KEŘ	0,377	0,158	0,091	0,474	33,301 ± 1,133
Junnifer - V	0,720	0,298	0,172	0,954	31,225 ± 2,164
J.V.Tets – KEŘ	1,490	0,614	0,355	0,894	36,563 ± 4,481
J.V.Tets - V	0,678	0,294	0,170	0,894	32,839 ± 2,039
Kozolupský raný - KEŘ	1,033	0,431	0,249	0,964	44,759 ± 3,375
Kozolupský raný - V	1,122	0,525	0,303	1,195	43,886 ± 3,109
Losan - KEŘ	0,281	0,115	0,066	0,330	34,858 ± 0,846
Losan - V	0,778	0,321	0,186	0,931	34,499 ± 2,341
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,367	0,154	0,089	1,505	10,210 ± 01,105
NŠLS 11/6 – V	0,445	0,182	0,105	1,053	17,289 ± 1,337
Rovada - KEŘ	0,377	0,155	0,090	0,540	28,763 ± 1,135
Rovada - V	0,579	0,244	0,141	0,948	25,769 ± 1,741
Rubigo - KEŘ	0,366	0,160	0,092	0,503	31,714 ± 1,102
Rubigo - V	0,423	0,173	0,100	0,447	38,670 ± 1,273
Stansa - KEŘ	0,423	0,174	0,100	0,481	36,215 ± 1,274
Stansa - V	0,575	0,240	0,139	0,619	38,782 ± 1,730
Tatran - KEŘ	0,604	0,250	0,144	1,205	20,731 ± 1,818
Tatran - V	0,803	0,336	0,194	1,354	24,802 ± 2,414

Příloha 12: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách červených rybízů od pěstitele Vondráčka. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Jesan - KEŘ	0,490	0,205	0,118	1,095	18,744 ± 1,473
Jesan - V	0,151	0,062	0,036	0,259	23,922 ± 1,473
Junnifer – KEŘ	0,475	0,197	0,114	0,892	22,110 ± 1,429
Junnifer - V	0,573	0,241	0,139	1,015	23,750 ± 1,725

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
J.V.Tets – KEŘ	0,752	0,307	0,177	0,988	31,092 ± 2,262
J.V.Tets - V	1,027	0,422	0,243	1,540	27,368 ± 3,089
Kozolupský raný - KEŘ	0,632	0,259	0,150	0,976	26,555 ± 1,902
Kozolupský raný - V	1,070	0,453	0,262	1,752	25,858 ± 3,219
NŠLS 11/6 – KEŘ	0,512	0,223	0,129	0,922	24,233 ± 1,540
NŠLS 11/6 – V	0,591	0,243	0,140	1,879	12,952 ± 1,778
Ronda - KEŘ	0,558	0,232	0,134	0,966	24,009 ± 1,678
Ronda – V	0,868	0,354	0,205	1,563	22,673 ± 2,611
Rovada - KEŘ	0,363	0,148	0,086	0,595	24,918 ± 1,092
Rubigo- KEŘ	0,220	0,102	0,059	0,358	28,619 ± 0,663
Rubigo - V	0,463	0,189	0,109	0,657	28,772 ± 1,391
Stansa - V	0,569	0,232	0,134	0,828	28,066 ± 1,712
Tatran - KEŘ	0,805	0,329	0,190	1,579	20,853 ± 2,423
Tatran -V	0,647	0,279	0,161	1,576	17,717 ± 1,946

Příloha 13: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Ben Conan – KEŘ	2,313	0,946	0,546	1,304	73,230 ± 6,956
Ben Conan - V	0,782	0,351	0,202	0,293	119,543 ± 2,353
Ben Gaim – KEŘ	0,915	0,281	0,220	0,240	158,659 ± 2,751
Ben Gaim – V	1,819	0,755	0,436	0,443	170,332 ± 5,471
Ben Hope – KEŘ	1,493	0,614	0,354	0,324	179,324 ± 5,891
Ben Hope – V	1,959	0,800	0,462	0,446	189,378 ± 4,492
Ben Lomond – KEŘ	1,914	0,788	0,455	0,537	146,663 ± 5,756
Ben Lomond – V	2,336	0,981	0,567	0,868	113,080 ± 7,025
Ceres – KEŘ	2,592	1,058	0,611	0,662	159,937 ± 7,798
Ceres – V	2,134	0,925	0,534	0,544	170,002 ± 6,419
Černý Neguš – KEŘ	1,374	0,569	0,328	1,336	42,591 ± 4,132
Černý Neguš – V	2,474	1,030	0,595	1,240	83,049 ± 7,441
Démon – KEŘ	2,608	1,093	0,631	0,887	123,167 ± 7,844
Démon - V	2,107	0,927	0,535	0,710	130,498 ± 6,338
Fokus - KEŘ	1,590	0,715	0,413	0,562	127,340 ± 4,784

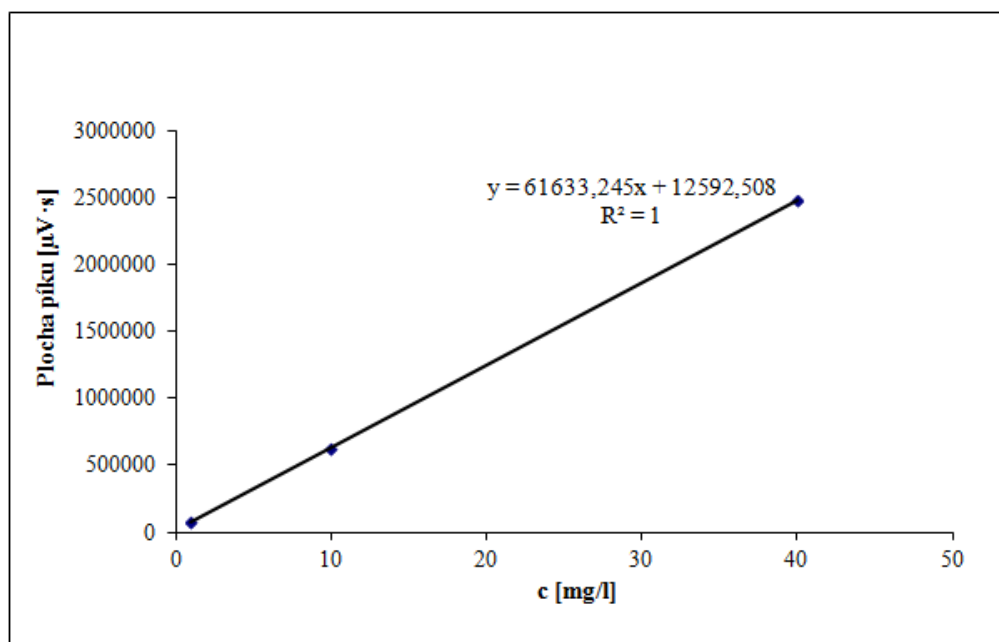
Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Fokus - V	2,685	0,105	0,638	0,803	137,691 ± 8,076
Lota – KEŘ	1,125	0,459	0,265	0,377	121,971 ± 3,384
Lota – V	2,208	0,902	0,521	0,797	113,166 ± 6,640
Morávia – KEŘ	1,899	0,780	0,451	0,663	117,652 ± 5,711
Morávia - V	1,790	0,745	0,430	0,695	107,243 ± 5,383
Ometa – KEŘ	2,680	1,103	0,637	0,550	200,704 ± 8,063
Ometa – V	2,380	0,989	0,571	0,663	149,122 ± 7,159
Ruben – KEŘ	1,432	0,649	0,375	0,512	126,848 ± 4,307
Ruben – V	1,884	0,789	0,455	0,656	120,270 ± 5,669
Triton – KEŘ	2,194	0,919	0,531	0,727	126,501 ± 6,598
Triton - V	2,083	0,921	0,531	0,790	116,451 ± 6,267

Příloha 14: Statistické zpracování výsledků koncentrací antokyanů [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách černých rybízu od pěstitele Vondráčka ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Ben Conan – KEŘ	1,729	0,711	0,410	1,175	60,489 ± 5,199
Ben Conan - V	1,426	0,593	0,343	0,895	66,284 ± 4,288
Ben Gaim – KEŘ	1,989	0,814	0,470	1,161	70,106 ± 5,984
Ben Gaim – V	1,611	0,658	0,380	1,011	65,056 ± 4,845
Ben Hope – KEŘ	1,565	0,663	0,383	0,554	119,611 ± 4,708
Ben Hope – V	2,906	1,195	0,690	1,432	83,490 ± 8,741
Ben Lomond – KEŘ	2,002	0,849	0,490	0,432	196,300 ± 6,021
Ben Lomond – V	2,939	1,248	0,721	0,698	178,857 ± 8,839
Ceres – KEŘ	2,387	1,001	0,578	1,168	85,715 ± 7,180
Ceres – V	1,668	0,688	0,397	0,728	94,524 ± 5,016
Démon – KEŘ	2,732	1,117	0,645	1,042	107,183 ± 8,218
Démon - V	2,126	0,874	0,504	0,765	114,254 ± 6,395
Fokus - KEŘ	1,022	0,451	0,261	0,534	84,612 ± 3,076
Fokus - V	2,526	1,070	0,618	1,312	81,561 ± 7,599
Lota – KEŘ	2,067	0,856	0,494	0,878	109,766 ± 6,218
Lota – V	0,708	0,298	0,172	0,272	97,430 ± 2,128
Morávia – KEŘ	2,063	0,859	0,496	0,966	88,915 ± 6,206
Morávia - V	2,226	0,918	0,530	1,011	90,805 ± 6,696
Ometa – KEŘ	1,937	0,863	0,498	0,527	163,642 ± 5,826
Ometa – V	2,670	1,122	0,648	1,174	95,560 ± 8,031

Odrůda	R	S	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Ruben – KEŘ	2,378	0,971	0,561	0,911	106,588 ± 7,152
Ruben – V	2,606	1,079	0,623	1,466	73,571 ± 7,838
Triton – KEŘ	2,166	0,889	0,513	0,923	96,328 ± 6,514
Triton - V	1,673	0,702	0,405	0,932	75,238 ± 5,033

Příloha 15: Kalibrační křivka pro stanovení vitamínu C



Příloha 16: Hodnoty kalibrační křivky pro stanovení vitamínu C

Koncentrace [mg·l ⁻¹]	Plocha píku 1. měření	Plocha píku 2. měření	Plocha píku 3. měření	Průměr plochy píku
1	83865	74158	72788	76937
10	608490	650550	617161	625400
40	2450137	2490950	2495120	2478736

Příloha 17: Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [mg·100 g⁻¹] v odrůdách bílých rybízů z Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůda	R	s	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Blanka KEŘ	0,936	0,389	0,225	1,134	34,342 ± 2,816
Blanka V	1,598	0,736	0,425	1,546	47,597 ± 4,806
Jantar KEŘ	0,316	0,137	0,079	0,275	49,809 ± 0,950
Jantar V	0,488	0,228	0,132	0,466	48,965 ± 1,469

Odrůda	R	s	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Olin KEŘ	1,374	0,569	0,329	1,886	30,201 ± 4,133
Olin V	2,789	1,247	0,720	2,656	46,957 ± 8,389
Orion KEŘ	1,037	0,428	0,247	2,420	17,675 ± 3,120
Orion V	0,912	0,390	0,225	1,429	27,293 ± 2,743
Primus KEŘ	2,623	1,166	0,673	3,200	36,442 ± 7,890
Primus V	3,324	1,396	0,806	3,259	42,845 ± 9,999
Viktorie KEŘ	1,391	0,603	0,348	2,886	20,890 ± 4,183
Viktorie V	1,180	0,525	0,303	2,037	25,748 ± 3,548

Příloha 18: Statistické zpracování výsledků koncentrací vitamínu C [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] v odrůdách bílých rybízů od pěstitele Vondráčka ($n = 3$, $\alpha = 0,01$)

Odrůdy	R	s	$s_{\bar{x}}$	s_r [%]	IS
Blanka KEŘ	0,894	0,384	0,222	1,085	35,396 ± 2,689
Blanka V	1,872	0,768	0,444	2,255	34,083 ± 5,631
Olin KEŘ	2,174	0,897	0,518	4,145	21,649 ± 4,133
Olin V	0,161	0,0713	0,041	0,286	24,909 ± 0,485
Primus KEŘ	2,223	0,957	0,553	4,912	19,485 ± 6,686
Primus V	2,163	0,891	0,515	2,355	37,851 ± 6,507
Viktorie KEŘ	2,532	1,035	0,598	2,804	12,878 ± 4,183
Viktorie V	2,985	1,227	0,708	7,959	15,419 ± 8,978