

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Obsah vitamínu C v ovocných šťávách a pyré**

**Diplomová práce**

Autor práce: Bc. Markéta Kubecová

Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Alena Hejtmánková CSc.

2018

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Obsah vitamínu C v ovocných šťávách a pyré“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych tímto poděkovala své vedoucí práce, paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové CSc. Za její trpělivost, cenné rady a za odborné vedení práce.

## Souhrn

Vitamin C je ve vodě rozpustný vitamin, nazývaný také jako askorbová kyselina. Pro lidský organismus je esenciální a musíme ho přijímat potravou. Uplatňuje se v mnoha biologických procesech a je tedy důležitý pro správnou funkci organismu.

Askorbová kyselina se nachází především v ovoci a zelenině, které tak mají významný podíl na příjmu vitaminu C ve stravě. Nejvyšší obsah vitaminu C obsahuje čerstvé ovoce a zelenina. Mezi jednotlivými druhy jsou rozdíly a obsah vitaminu C také závisí na mnoha faktorech. Vitamin C je velice labilní vitamin, který se rychle ztrácí během nesprávné přípravy pokrmů, skladování a tepelné úpravy.

Doporučený příjem vitaminu C je stanoven na  $100 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ . Takové množství zamezí vzniku hypovitaminózy nebo avitaminózy, která je charakterizována nemocí kurděje. Ve vyspělých zemích je však toto onemocnění spíše vzácné.

Konzumace ovocných šťáv je velice oblíbená, s tím souvisí otázka, zdali nám ovocné šťávy přináší pozitivní v jejich konzumaci, obsahují prospěšné látky pro náš organismus. Tato práce se zabývá stanovením obsahu vitaminu C v ovocných šťávách, které jsou běžně dostupné v obchodních řetězcích. Cílem bylo také zjistit, zdali ovocná pyré obsahují vitamin C.

V této práci byla na základě literární rešerše zavedena metoda HPLC pro stanovení vitaminu C v ovocných šťávách a pyré. Vlastní stanovení poté proběhlo na kapalinovém chromatografu (HPLC) od firmy Waters.

Výsledky analýzy ovocných šťáv a pyré ukázaly, že obsah vitaminu C se liší v závislosti na ovocném druhu, který byl na výrobu šťávy použit. Nejméně vitaminu C obsahovaly jablečné šťávy, obsah vitaminu C byl pod mezí detekce nebo minimální. Nejvíce vitaminu C obsahovaly šťávy z černého rybízu a citrusových plodů. Bylo potvrzeno, že obsah vitaminu C na obalu šťávy obsahuje uvedené množství vitaminu C, u některých výrobků dokonce až v dvojnásobném množství. V pyré byl také vitamin C zjištěn. Nejvíce ho obsahovalo pyré s černým rybízem.

**Klíčová slova:** vitamin C, ovocné šťávy, pyré, metoda HPLC, ovoce

## Summary

Vitamin C is water-soluble vitamin, also called ascorbic acid. It is essential for human organism which is obtained from food. It is used in many biological processes and is therefore important for the proper function of the organism.

Ascorbic acid is mainly found in fruits and vegetables which have a significant share of vitamin C intake in the diet. The highest content of vitamin C contains fresh fruits and vegetables. There are differences between species and content of the vitamin c which depends on many factors. Vitamin C is a very labile vitamin, which is quickly lost during incorrect food preparation, storage and heat modification.

The recommended intake of vitamin C is set at 100 mg per day. Such an amount prevents the formation of hypovitaminosis or avitaminosis, which is characterized by scurvy disease. In developed countries, however, this disease is rather rare.

Consumption of fruit juices is very popular, however it raises a question if fruit juices given to us are in positive consumption, if it contains beneficial substances for our organism. The report was to determine if fruit juices contains vitamin C, which are normally found in chain stores. The goal was to find out if puree contains vitamin C.

The HPLC method for the determination of vitamin C in fruit juice and puree was established on literature review. The determination of vitamin C was performed on liquid chromatograph (HPLC) owned by the company Waters.

The analysis of fruit juices and purée, showed that the content of vitamin C is different depending on fruit species used for production. Apple juice contains the least amount of vitamin C, the content of vitamin C stands below detection limit or minimal. Black current and citrus juices contains the most of vitamin C. It was confirmed, the quantity of vitamin C was written on the product packaging of juices. Some products contained up to two times the quantity. Vitamin C was also found in purée. The most of vitamin C was found in purée with black currant.

**Keywords:** vitamin C, fruit juices, purée, method HPLC, fruits

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>7</b>
2.1	Cíle práce .....	7
2.2	Vědecké hypotézy.....	7
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>8</b>
3.1	<b>Vitamin C</b> .....	<b>8</b>
3.1.1	Historie .....	9
3.2	<b>Funkce vitamínu C</b> .....	<b>10</b>
3.2.1	Vstřebávání a transport v organismu .....	10
3.3	<b>Zdroje vitamínu C</b> .....	<b>11</b>
3.4	<b>Skladování a zpracování vitamínu C</b> .....	<b>13</b>
3.4.1	Zpracování .....	14
3.5	<b>Reakce kyseliny askorbové</b> .....	<b>15</b>
3.5.1	Enzymová oxidace .....	15
3.5.2	Autooxidace a oxidace.....	16
3.5.3	Redukce iontů kovů .....	16
3.5.4	Reakce s volnými radikály.....	16
3.5.5	Degradace katalyzovaná kyselinami .....	17
3.5.6	Reakce s dalšími složkami potravin .....	17
3.6	<b>Doporučený příjem vitamínu C</b> .....	<b>17</b>
3.7	<b>Hypovitaminóza</b> .....	<b>18</b>
3.8	<b>Avitaminóza</b> .....	<b>19</b>
3.9	<b>Použití v potravinářství</b> .....	<b>19</b>
3.10	<b>Syntetický a přirozený vitamin C v potravě</b> .....	<b>20</b>
3.11	<b>Spotřeba ovoce v ČR</b> .....	<b>20</b>
3.12	<b>Ovocné šťávy</b> .....	<b>21</b>
3.13	<b>Vybrané druhy ovoce</b> .....	<b>22</b>
3.13.1	Jablka.....	22
3.13.2	Černý rybíz.....	22
3.13.3	Rakytník řešetlákový .....	23
3.14	<b>Legislativa ovocných šťáv a koncentrátů</b> .....	<b>23</b>
3.14.1	Ovocná a zeleninová šťáva .....	24
3.14.2	Ovocná šťáva z citrusových plodů .....	24
3.14.3	Ovocná nebo zeleninová šťáva z koncentrované ovocné nebo zeleninové šťávy.....	24
3.14.4	Koncentrovaná ovocná nebo zeleninová šťáva .....	24
3.14.5	Nektar.....	24
3.15	<b>Metody</b> .....	<b>25</b>
3.16	<b>Kapalinová chromatografie</b> .....	<b>25</b>
3.17	<b>Stanovení vitamínu C metodou HPLC</b> .....	<b>27</b>
3.18	<b>Jiné chemické metody stanovení askorbové kyseliny</b> .....	<b>28</b>
3.18.1	Oxidimetrická stanovení.....	28
3.18.2	Titrační stanovení 2,6 – dichlorfenolindofenolem (DCIP) .....	28
3.18.3	Spektrofotometrické stanovení kyseliny askorbové .....	28
3.18.4	Elektrometrická titrace askorbové kyseliny .....	29
3.18.5	Polarografická metoda .....	29

<b>4</b>	<b>Materiál a metodika .....</b>	<b>29</b>
4.1	Vzorky ovocných šťáv.....	29
4.2	Vzorky pyré.....	31
4.3	Chemikálie .....	31
4.4	Přístroje .....	31
4.5	Pomůcky .....	32
4.6	Příprava roztoků .....	32
4.7	Příprava vzorků šťáv.....	32
4.8	Příprava vzorků pyré .....	33
4.9	Příprava standardních roztoků .....	33
4.10	Chromatografické podmínky .....	33
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>36</b>
5.1	Stanovení askorbové kyseliny v ovocných šťávách .....	36
5.2	Stanovení askorbové kyseliny v ovocných pyré .....	41
5.3	Statistické vyhodnocení .....	43
	Diskuze.....	48
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>52</b>
	Seznam použité literatury.....	53

# 1 Úvod

Vitamin C neboli askorbová kyselina je ve vodě rozpustný vitamin, který musíme přijímat v určitém množství potravou. Jedná se o důležitý vitamin pro lidský organismus, který svým nedostatkem trápil lidi už o několik stovek let zpět. První zmínky o vitaminu souvisí se zaoceánskými plavbami námořníků, kteří často trpěli nedostatkem vitaminu C. Nemoc kurděje způsobená nedostatkem tohoto vitaminu je smrtelné onemocnění, kterému může zabránit jen pravidelný přísun vitaminu C ve stravě.

K nevýznamnějším zdrojům vitaminu C patří ovoce a zelenina, nejlépe v čerstvé formě. Dále ale také mléčné výrobky.

Doporučené množství vitaminu C v České republice je  $100 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ . Takové množství člověk přijme, pokud dodržuje zásady zdravé výživy a denně konzumuje 1-2 porce ovoce a 3-4 porce zeleniny, tzn. doporučené množství ovoce a zeleniny alespoň 500 g denně.

Jelikož je vitamin C velmi nestálý, rychle se ztrácí při úpravě pokrmů a skladování ovoce a zeleniny, musí se pracovat rychle s vhodnými materiály. Lepší je konzumace čerstvého ovoce a zeleniny než tepelně upravené z hlediska obsahu vitaminu C.

Tato práce se věnuje obsahu vitaminu C v různých ovocných šťávách a pyré. Analýza se týkala šťáv z jablek, černého rybízu, citrusových plodů, rakytníku a dalších. Analýza pyré byla zaměřena na obsah vitaminu C v druzích jablečných, jablečných s rakytníkem a černým rybízem a jak se liší jednotlivé druhy.

Práce se také zabývá obsahem vitaminu C, který je udáván na obalech ovocných šťáv. Zdali uvedený obsah vitaminu C odpovídá skutečnosti.



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **2.1 Cíle práce**

Cílem diplomové práce je porovnání obsahu vitamínu C v ovocných šťávách pomocí metody HPLC. Záměrem bylo zjistit, kolik vitamínu C obsahují 100% jablečné šťávy, dále 100% jablečné šťávy s přidavkem dalších ovocných druhů – černý rybíz, červený rybíz, rakytník, jahoda a hruška. Sortiment těchto šťáv byl dále rozšířen na další ovocné šťávy, především na nápoje z koncentrátů a nektary s příchutí černého rybízu, pomeranče a dalších. Cílem bylo také zjistit, zdali vitamin C obsahují ovocná pyré.

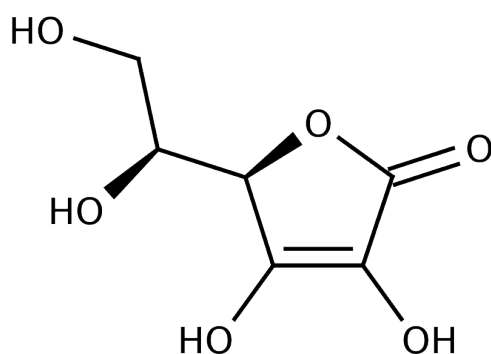
### **2.2 Vědecké hypotézy**

- Obsah vitamínu C v ovocných šťávách je rozdílný v závislosti na druhu ovoce.
- Ovocné šťávy, které mají uvedený obsah vitamínu C na obalu, obsahují dané množství.
- Rozdílný obsah vitamínu C v pyré.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Vitamin C

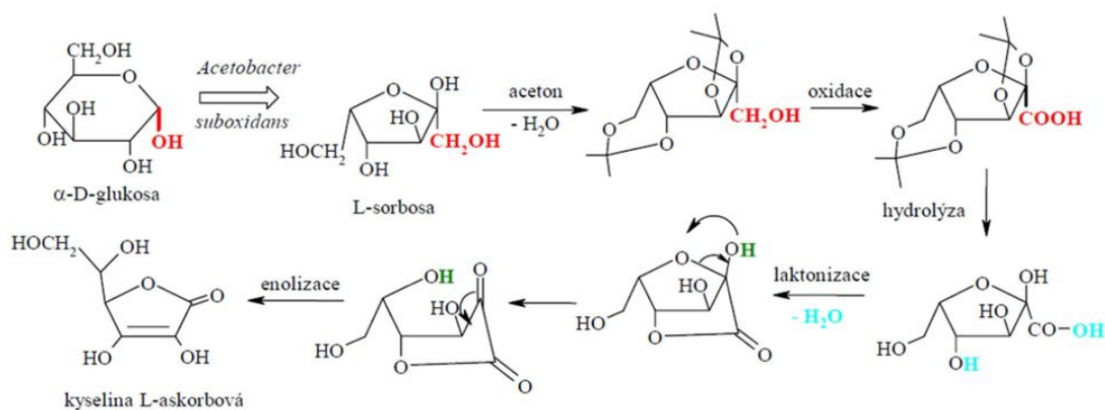
Vitaminem C se označuje kyselina askorbová, ale také se charakterizuje celý reverzibilní oxidačně-redukční systém, kde dochází k přenosu dvou elektronů. Systém tvoří kyseliny L-askorbová, semidehydro-L-askorbová a L-dehydroaskorbová (Hlúbik et Opltová, 2004). Z chemického hlediska se jedná o lakton 2-oxo-L-gulonové kyseliny (Komprda, 2012).



Obrázek 1 Kyselina L-askorbová

Vitamin C je pro lidský organismus esenciální, tedy musíme ho přijímat v potravě. Patří mezi vitaminy rozpustné ve vodě a je nezbytný pro normální funkci organismu. Askorbovou kyselinu syntetizují všechny zelené rostliny, které získávají svoji potřebnou energii pomocí fotosyntézy. Živočichové - hmyz, bezobratlí, většina ryb a několik druhů ptáků a savci možnost syntetizovat kyselinu askorbovou ztratili, z důvodu mutace genetického kódu L-gulonolaktonoxidázy (Hlúbik et Opltová, 2004). Navíc vitaminem je vitamin C pouze pro člověka, primáty, morčata a netopýry živící se ovocem (Velíšek et Hajšlová, 2009). Ostatní živočichové si ho vytváří z glukózy (Obr. 2) (Komprda, 2012).

S výzkumem tohoto vitaminu se začalo na začátku 30. let 20. století, kdy byl i pojmenován jako vitamin C. Příznaky nedostatku vitaminu C jsou však známy už z doby starověku (Hlúbik et Opltová, 2004).



Obrázek 2 Schéma vzniku kyseliny L-askorbové z glukózy

### 3.1.1 Historie

Vitamin C byl v povědomí u lidí už v 18. století. Nedostatek vitamínu C, způsobující nemoc kurděje, trápil námořníky na dlouhých zámořských cestách. Proto James Lind, lékař britského válečného loďstva v roce 1747 provedl vědecký experiment, ve kterém dvě skupiny námořníků konzumovali odlišnou stravu. Jedna skupina denně konzumovala citrusové plody a druhá nikoliv. Tímto způsobem bylo prokázáno, že citrusové plody obsahují nějakou látku, která posílí organismus a zabrání tak vzniku kurdějí (Žamboch, 1996).

Nedostatek vitamínu C se však projevoval již v 16. století při prvních mořeplavbách. Už tehdy kapitáni lodí popisovali nemoc kurděje. Kurdějemí nebo hypovitaminózami netrpěli ale jenom námořníci, ale i lidé v mírnějším a severním zeměpisném pásu. Nedostatek vitamínu se projevoval vždy na konci zimních měsíců. Lidé žijící v těchto oblastech měli za zdroj vitamínu C především zelí a jablka a ty už v zimních měsících byla nedostatková potrava. Zásadním průlomem ve stravě byla konzumace brambor, které poskytují důležitý zdroj vitamínu C (Žamboch, 1996).

Samotný objev vitamínu C se však uskutečnil o dvě stě let později. Začátkem 30. let 20. století byl vitamin C izolován z ovoce a zeleniny. Nejdříve byl nazván jako kyselina hexuroniková, až později byla tato kyselina přejmenovaná na kyselinu askorbovou, jelikož se zjistilo, že má anti-skorbutické vlastnosti. Chemicky byl vitamin C poprvé syntetizován v roce 1933 (Carr et Vissers, 2013).

## 3.2 Funkce vitamínu C

Askorbová kyselina se uplatňuje v mnoha biologických procesech a přispívá tak správné funkci lidského organismu. Jejími hlavními funkcemi jsou: syntéza kolagenu, karnitinu, katecholaminů, metabolismus aminokyseliny tyrozinu, redukce peroxidů, vychytávání volných radikálů (působí tedy jako antioxidant). Dále redukuje  $\text{Fe}^{3+}$  na  $\text{Fe}^{2+}$ , tím se stává železo pro organismus lépe vstřebatelné, je součástí také jaterních enzymů a má důležitou regulační funkci při translaci genetické informace (Komprda, 2012). Brání vzniku karcinogenních nitrosaminů (Hlúbik et Opltová, 2004). Podle Svačiny (2008) askorbová kyselina má ochranný účinek v prevenci kardiovaskulárních onemocnění a některých nádorů – karcinom žaludku, jazyka, hltanu, hrtanu, jícnu, plic, děložního hrdla a prsu. Uplatňuje se v metabolismu cholesterolu. Významnou funkci má také s vitamínem E, zajišťují ochranu membrán před oxidací. Chrání i nestálé formy listové kyseliny (Velíšek et Hajšlová, 2009). Koncentrace vitamínu C v oku může být až 50 x vyšší než v krevní plazmě, chrání tak oko. Roli hraje také ve spermatogenezi. Vitamin C je nadřazený všem antioxidantům během ochrany lipidů, působí tak nejefektivněji. Dále stabilizuje rozličné krevní komponenty jako je homocystein, folát, proteiny a jiné mikronutrienty. Pokud se oddělí krevní plazma od červených krvinek, vitamin C je první antioxidant, který vymizí. (Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2004)

Studie publikovaná Straten Van M. et kol. (2002) zkoumala, zdali má pravidelná konzumace vitamínu C vliv na preventivní působení proti nachlazení. Studie proběhla se 168 dobrovolníky ve věku v průměru 47 – 48 let, kteří dostávali placebo nebo 2 tablety vitamínu C denně po dobu 60 dní v zimním období, konkrétně od listopadu do února. Výsledky byly pozitivní. Skupina osob, která dostávala pravidelnou dávku vitamínu C měla průběh onemocnění mnohem slabší než skupina osob, která dostávala placebo. Rozdíl byl ve výši teploty, době jejího trvání a také celková doba onemocnění byla kratší. Stejně tak byl pozorovatelný rozdíl v dřívějším rozpoznání onemocnění u dobrovolníků, kteří užívali vitamin C než ve skupině osob, která užívala placebo.

### 3.2.1 Vstřebávání a transport v organismu

Askorbová kyselina se začíná vstřebávat aktivním transportem v horní části tenkého střeva (duodenu). Po absorpci je v plazmě zhruba  $\frac{1}{4}$  celkového množství přenášena ve vazbě na plazmatické bílkoviny. K vyloučení askorbové kyseliny dochází v ledvinách, v nichž se však

část zpátky resorbuje. Resorbované množství je poté ukazatelem hladiny vitamínu C v krevní plazmě a tedy i příjmu vitamínu C. Koncentrace vitamínu C v plazmě se pohybuje v rozmezí 40 – 120  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . (Komprda, 2012).

### 3.3 Zdroje vitamínu C

Veškerá potřeba vitamínu C je kryta vitamínem z potravy. Nejvíce je kryta zeleninou a to z 30 – 40 %, po zelenině následuje ovoce s 30 – 35 %. Důležitým zdrojem jsou brambory, které se konzumují často, proto zajišťují příjem vitamínu C přibližně s 20 - 30 %. Mléko se na krytí potřeby vitamínem C podílí asi 10 % (Velíšek et Hajšlová, 2009).

V rostlinách dosahuje aktivní forma askorbové kyseliny okolo 90 – 95 %, zbytek tvoří kyselina dehydroaskorbová, tedy neaktivní forma vitamínu C (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Všeobecně nejvýznamnějšími zdroji vitamínu C je ovoce a zelenina. Téměř 90 % vitamínu C pochází právě z ovoce a zeleniny. Nejvyšší obsah vitamínu má čerstvé ovoce a čerstvá zelenina. Mezi jednotlivými druhy jsou však velké rozdíly a obsah také závisí na vegetačních podmínkách během růstu, stupni zralosti, ročním období, místě růstu, atd. (Dietary reference intakes, 2004). Druhy ovoce, v kterých je vitamínu C nejvíce, jsou: rakytník řešetlákový, šípkové plody, černý rybíz, jahody, maliny, citrusové plody. Ze zeleniny to jsou papriky, brokolice, rajčata. Za kvalitní zdroj se považují i brambory. Obsahují sice jen 8 – 18 mg/100 g vitamínu C, ale jejich častou konzumací během celého roku patří k významným zdrojům (Kudlová, 2009). Podle Velíška et Hajšlové (2009) je absolutně nejvyšší obsah kyseliny askorbové v ovoci jménem malpigie, které je známé také jako barbadoská třešeň nebo acerola (Obr. 3). Obsah vitamínu se pohybuje mezi 17 – 46 g/kg jedlého podílu. Ovoce pochází z karibské oblasti a severu Jižní Ameriky. Podobný obsah vitamínu C mají také plody australské terminálie (Obr. 4), která tohoto vitamínu obsahuje 23 – 32 g/kg jedlého podílu (Velíšek et Hajšlová, 2009).



Obrázek 3 Acerola



Obrázek 4 Terminálie australská

Bohaté zdroje vitamínu C však nebývají příliš významné pro krytí potřeby tohoto vitamínu z důvodu, že se nekonzumují často, naopak příležitostně a jen v malém množství. Týká se to např. šípků, rakytníku, černého rybízu, petržele kadeřavé. Větší význam mají druhy ovoce a zeleniny, ve kterých je pouze průměrný obsah vitamínu C, ale které se konzumují pravidelně a v relativně vyšším množství. Subtropické ovoce pokrývá potřebu vitamínu C převážně v zimních a jarních měsících (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Průměrný obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce a ovocných produktech je uveden v Tabulce 1 a 2.

Tabulka č. 1 Obsah vitamínu C v potravinách (Hlúbik et Opltová, 2004)

<b>Potravina</b>	<b>Obsah vitamínu C mg/1000 g jedl. pod.</b>	<b>Potravina</b>	<b>Obsah vitamínu C mg/1000 g jedl. pod.</b>
Angrešt	244	Grapefruity	416
Broskve, blumy	36	Mandarinky	346
Jahody	618	Pomeranče	513
Jablka	48	Džemy, marmelády	50
Maliny	225	Kompoty	90
Rybíz červený, bílý	330	Jahody mrazené	466
Rybíz černý	1360	Švestky sušené	89
Ananas žlutomasý	206	Mošt jablečný	10
Banány	99	Sirupy	50
Citrony	443		

Tabulka č. 2 Obsah vitamínu C v ovoci (Kopec, 1998)

<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vitamínu C mg.kg</b>	<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vitamínu C mg.kg</b>
Jablka	48	Brusinky	121
Hrušky	28	Bezinky	270
Kdoule	100	Šípky	3500
Jeřabiny	600	Rakytník	1534
Aronie	44	Jahody	618
Mišpule	20	Hrozný	34
Broskve	102	Jedlé kaštiny	270
Nektarinky	370	Pomeranče	513
Meruňky	65	Mandarinky	346
Třešně	94	Citrony	443
Višně	52	Grapefruity	416
Mirabelky	68	Ananas	120
Švestky	114	Kiwi	570
Angrešt	244	Mango	400
Rybíz červený	330	Papája	600
Rybíz bílý	400	Banány	99
Rybíz černý	1600	Granátové jablko	61
Maliny	225	Datle čerstvé	140
Ostružiny	180	Fíky čerstvé	20
Borůvky	161	Fíky sušené	10

### 3.4 Skladování a zpracování vitamínu C

Ovoce a zelenina, které obsahují vitamin C jsou velice náchylné k nešetrnému zacházení během skladování a zpracování. Askorbová kyselina se při těchto procesech mění na kyselinu dehydroaskorbovou, která ztrácí svou biologickou aktivitu. Při nevhodné manipulaci může docházet k vysokým ztrátám vitamínu C a to dokonce i do 100 %. Zatímco průměrné ztráty při správném a šetrném zacházení dosahují okolo 30 % (Hlúbik et Opltová, 2004). Příčin těchto ztrát je více, mohou to být oxidační procesy, spontánní nebo katalyzované ionty kovů, ale i enzymaticky řízené oxidační pochody. Enzymatickému rozpadu jde např. předejít předvařením zeleniny. Během přípravy pokrmů lze zamezit velkým ztrátám vyloučením účinku kyslíku a kovových iontů, hlavně mědi a železa, dále zachovat nízkou teplotu a nízkou hodnotu pH (Referenční hodnoty, 2011).

### 3.4.1 Zpracování

Vitamin C je jedním z nejméně stálých vitaminů a k jeho ztrátám dochází při skladování, zpracování v kuchyni a průmyslovému zpracování. K nejvýznamnějším ztrátám dochází výluhem a oxidací (Dostálová, Pokud není přítomný vzdušný kyslík, ke ztrátám může dojít degradací katalyzovanou kyselinami. Ztráty se pohubují mezi 20 - 30 %. Ztrátami výluhem se rozumí mytí, blanširování (předváření), vaření a konzervování, kdy se v dalších fázích přípravy pokrmu výluh později neupotřebí. Mytí je nejšetrnější forma zpracování, poté následuje blanširování a vaření. Rozsah ztrát závisí na mnoha faktorech jako je teplota, množství vody, velikost povrchu materiálu, zralost, rozsah kontaminace těžkými kovy, přívod kyslíku a pH prostředí. V kyselém prostředí jsou ztráty pomalejší, např. stabilita askorbové kyseliny v ovoci je vyšší v zelenině, protože ovoce má nižší pH. Například ztráty askorbové kyseliny jsou v kyselém, předem blanširovaném ovoci (jahody, maliny) nižší, než v meruňkách, broskvích nebo hruškách (Tabulka 3). Nejšetrnější způsob zachování vitaminu C je použití vysokoteplotní krátkodobé sterilace (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Ovoce, které je ošetřeno oxidem siřičitým si více zachovává askorbovou kyselinu během technologického zpracování, ztráty jsou mnohem nižší. Oxid siřičitý zde reaguje s peroxidem vodíku, který vzniká oxidací askorbové kyseliny v přítomnosti těžkých kovů (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Vitamin C je nejstabilnějším při zmrazování a mrazírenském zpracování ovoce a zeleniny. Při teplotě -18 °C dochází k minimálním ztrátám. K významným ztrátám 30 – 50 % naopak může docházet při rozmrazování (Tabulka 4) (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Tabulka č. 3 Retence vitaminu C v kompotech a šťávách po sterilaci ve srovnání s čerstvým ovocem (Hlúbik et Opltová, 2004).

Ovoce	Retence vitaminu C po sterilaci
Broskve	23 - 25 %
Hrušky	50 %
Jahody	77 %
Maliny	78 - 98 %
Meruňky	60 %
Švestky	87 %
Višně	67 %



Tabulka č. 4 Ztráty vitamínu C v ovoci po rozmrazení (Hlúbik et Opltová, 2004).

	Doba skladování při - 18 °C (měsíce)	Průměrné ztráty obsahu vitamínu C v rozmrazeném ovoci (%)	
		bez cukru	s cukrem
Jahody	8	39-51	16-25
Maliny	6-7	27-40	
Rybíz černý	6-8	32-44	
Rybíz červený	8	30	20

Kompoty nejvíce ztrácejí vitamín C během skladování, které ovlivňuje doba a teplota skladování. Ztráty se pohybují v rozmezí 10 - 50 %. Naopak 60 - 80 % vitamínu C se zachovává v obohacených ovocných šťávách.

Průmyslové zpracování se samozřejmě snaží o zachování maximálního množství askorbové kyseliny v ovoci a zelenině. Mezi metody, které zamezí ztrátám, patří:

- Minimální kontakt potravin se vzduchem. Používá se odvodušnění za sníženého tlaku, výměna vzduchu za inertní atmosféru, působení glukosaoxidázy a katalázy, atd. (Velíšek et Hajšlová, 2009).
- Snížení přítomnosti iontů  $Fe^{3+}$  a  $Cu^{2+}$ . Snaha o potlačení přímého kontaktu s měděnými, bronzovými, mosaznými a korodujícími železnými součástmi technologického zařízení (Velíšek et Hajšlová, 2009).
- Vytváření nepříznivých podmínek pro vznik komplexů kovových iontů s askorbovou kyselinou. Takové podmínky vznikají snížením aktivity vody nebo pH (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### 3.5 Reakce kyseliny askorbové

Během oxidace askorbové kyseliny dochází ke vzniku kyseliny dehydroaskorbové a to působením mnoha enzymů (oxidoreduktáz). K oxidaci také dochází vzdušným kyslíkem nebo peroxidem vodíku (Velíšek et Hajšlová, 2009).

#### 3.5.1 Enzymová oxidace

Loupáním nebo krájením, kdy se narušují rostlinná pletiva, je oxidace katalyzována askorbát oxidázou (oxidoreduktáza), která oxiduje askorbovou kyselinu v přítomnosti

vzdušného kyslíku. Není to však jediný enzym, který způsobuje ztrátu vitamínu, mohou to být i peroxidázy. Reakce probíhají tak dlouho, dokud není askorbová kyselina zcela vyčerpána. Tímto procesem vzniká dehydroaskorbová kyselina. Ztráty vitamínu v ovoci a zelenině během přípravy je možné redukovat pomocí blanšírování, které způsobí inaktivaci enzymů, které oxidují askorbovou kyselinu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Z askorbové kyseliny může také vznikat šťavelová kyselina, threonová a vinná kyselina za přispění enzymu askorbát 2,3-dioxygenáza (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.2 Autooxidace a oxidace**

Nejvíce ztratit vitamínu C způsobuje oxidace vzdušným kyslíkem (autooxidace). Tyto reakce probíhají, pokud jsou přítomné i nepřítomné ionty přechodných kovů (Fe, Cu). Nejaktivnější jsou ionty trojmocného železa a dvojmocné mědi. Reakce také závisí na hodnotě pH prostředí. V kyselém prostředí je oxidace pomalejší, v neutrálním rychlejší a nejrychlejší v alkalickém prostředí (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.3 Redukce iontů kovů**

Reakce askorbové kyseliny s ionty kovů probíhá za vzniku komplexů. V určitých případech však může ionty kovů redukovat, především při nízkých hodnotách pH prostředí a je-li tam kyselina přítomna při nízkých koncentracích. Takové působení má pak za následek nežádoucí změny chutě, vůně a barvy potravin. Změny poté vedou k dalším reakcím iontů  $\text{Fe}^{2+}$  ( $\text{Cu}^+$ ) se vzdušným kyslíkem, které vedou až ke vzniku peroxidu vodíku. Peroxid vodíku může být dále oxidován  $\text{Fe}^{2+}$  ( $\text{Cu}^+$ ) za vzniku hydroxylových radikálů, které v konečném důsledku mohou za patologické procesy v potravinách (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.4 Reakce s volnými radikály**

Nejenom askorbová kyselina, ale i její deriváty a isomery mohou reagovat s volnými radikály. Volné radikály způsobují oxidaci lipidů a dalších oxylabilních složek potravin. Sloučeniny brání řetězové autooxidaci a účinně tak působí jako antioxidanty. Účinnější se kyselina askorbová stává pokud se používá v kombinaci s tokoferoly. V takových reakcích se tokoferoly navazují jako první s volnými radikály lipidů. Vzniklé radikály tokoferolů jsou poté redukovány zpět na tokoferoly askorbovou kyselinou (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.5 Degradace katalyzovaná kyselinami**

Kyselina askorbová se v silně kyselém prostředí dekarboxyluje a dehydratuje. Vzniká tak oxid uhličitý a furan-2-karbaldehyd. Významným produktem je 3-deoxy-L-xyloson, který hraje roli při reakcích neenzymového hnědnutí. Hlavní příčinou vzniku ztrát vitamínu C se považuje kyselá katalyzovaná degradace askorbové kyseliny v konzervářských výrobcích v nepřítomnosti vzdušného kyslíku. K této reakci dochází v kyselých potravinách tj. ovocných kompotech a džusech, ve kterých se pH pohybuje kolem 3,5. Vliv má především skladování při vyšších teplotách nebo při termických operacích (sušení). Při teplotě 50 °C ztrácejí ovocné džusy 70 – 95 % askorbové kyseliny během 12 týdnů skladování. Rychlost reakce je však asi desetkrát nižší než je rychlost autooxidace katalyzované kovovými ionty (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.6 Reakce s dalšími složkami potravin**

Ztráty vitamínu mohou být zapříčiněny i jinými reaktivními složkami potravin. Nejznámější je reakce s chinony, které vznikají při reakcích enzymového hnědnutí. K enzymovému hnědnutí ovoce a zeleniny dochází především tehdy, pokud je obsah askorbové kyseliny velmi nízký. Dále jsou to reakce s dusitany, hemovými barvivy v mase a masných výrobcích (Velíšek et Hajšlová, 2009).

## **3.6 Doporučený příjem vitamínu C**

Doporučený příjem je stanoven na 100 mg askorbové kyseliny na den, takové množství je dostačující k udržení 3 g jako maximální zásoby vitamínu C v lidském organismu. Nedostatek vitamínu C se projeví, až když se jeho celková zásoba organismu sníží pod 300 mg. Komprda (2012) uvádí, že udržení maximální hodnoty 3 g není nutné, stačí zásoba 1500 mg, která při metabolickém obratu 3 % denně stačí na jeden měsíc, než dojde k poklesu zásob pod 300 mg. Dále podle Komprdy (2012) stačí k udržení běžných metabolických potřeb denní příjem 50 mg. V lidském těle jsou zásoby uchovávány nerovnoměrně. Více zásob mají tkáně s vysokým metabolickým obratem. Zvýšený příjem vitamínu C se doporučuje při zvýšené fyzické zátěži, trvalém psychickém stresu, nadměrném používání drog a alkoholu a při některých nemocech a infekcích. Zvýšený příjem vitamínu C by měli mít také diabetici. Navýšit příjem a to až o 50 % by měli také kuřáci, v jejichž organismu dochází ke sníženému vstřebávání a zvýšenému metabolickému obratu (Hlúbik et Opltová, 2004). Doporučený příjem vitamínu C

pro kuřáky je  $150 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$  (Kudlová, 2009). Podle Svačiny (2008) jsou také rizikové skupiny s nízkou konzumací vitamínu C - ženy užívající hormonální antikoncepci a staří lidé.

Podle epidemiologických studií je spojován příjem vitamínu C v denní dávce 90 - 100 mg se sníženým rizikem vzniku a rozvoje kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny. Pravidelný příjem by neměl být zaměřen jen na projevy nedostatku vitamínu C, ale také na působení v prevenci rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, glaukomu a v neposlední řadě také na posílení imunitního systému. Pro stanovování doporučených denních dávek jsou vhodnější epidemiologické studie, které zkoumají přímo skutečný příjem vitamínu C v potravě. Naopak klinické studie ukazují informace o možnostech suplementace přípravky obsahující vitamín C (Hlúbik et Opltová, 2004).

Doporučený příjem vitamínu C se v různých státech liší. V USA je doporučená dávka (RDA) pro muže  $90 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$  a pro ženy  $75 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ . V Německu, Rakousku a Švýcarsku je RDA stanovena na  $100 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$  pro muže i ženy od 15 let. Stejně množství je platné i v ČR. Vyšší dávky by měly přijímat těhotné a kojící ženy, až do  $150 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ , naopak děti by měly mít příjem nižší ( $60 - 100 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ ). Maximální příjem kyseliny askorbové činí  $1800 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$  u dětí a  $2000 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$  u dospělých (Hlúbik et Opltová, 2004). Podle Komprdy (2012) činí maximální hranice příjmu  $1000 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}$ , vyšší dávky mohou poškodit ledviny. Při zvýšeném příjmu vitamínu C se absorpce organismem snižuje, proto hypervitaminóza nemůže nastat (Hlúbik et Opltová, 2004). Naopak Svačina (2008) uvádí, že by maximální denní dávka neměla být vyšší než 250 mg vitamínu C. Nadbytek je vylučován ledvinami. Pokud jsou ledviny poškozené nebo má člověk určité predispozice může nadměrné množství vitamínu C v organismu vést ke vzniku oxalátových kamenů. Vysoké dávky mohou způsobit průjem (Kudlová, 2009).

### **3.7 Hypovitaminóza**

Nedostatečný příjem vitamínu C ve stravě se projevuje únavou, sníženou výkonností, zvýšenou náchylností k infekčním onemocněním a pomalým hojením ran (Komprda, 2012). Deficience se nejčastěji projevuje u tzv. jarní únavy (Velíšek et Hajšlová, 2009). Nedostatečný příjem je indikován při sérové koncentraci nižší než  $37 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , pro hodnotu  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  a nižší jsou už pozorovány preklinické symptomy (Hlúbik et Opltová, 2004).

### 3.8 Avitaminóza

Absolutní nedostatek vitamínu C se nazývá skorbut neboli kurděje. Indikován je při sérové koncentraci nižší než  $10 \mu\text{mol.l}^{-1}$  (Hlúbik et Opltová, 2004). Skorbut provází poruchy tvorby kostí, nedostatečný růst a krvácivost vnitřních orgánů, kůže a sliznic (Komprda, 2012). U dětí se vyskytuje Moellerova-Barlowova nemoc. Projevuje se poruchou vývoje kostí a růstu, v pozdějším věku krvácením do kůže a sliznic. Tyto projevy avitaminózy jsou ve vyspělých zemích spíše vzácné (Kudlová, 2009). Pro prevenci kurdějí stačí přijmout denně velmi nízké množství vitamínu C a to 10 mg. Takové množství však není dostačující k udržení optimálního zdraví a ke snížení výskytu chronických onemocnění (Hlúbik et Opltová, 2004). Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je potřeba k prevenci avitaminózy denní dávka 45 mg (Kudlová, 2009).

### 3.9 Použití v potravinářství

Askorbová kyselina je díky svým vlastnostem (vitamin, antioxidant i chelatační činidlo) hojně používaná v potravinářství. Využívá se jako aditivum v konzervárenství, kvasné technologii, technologii masa, tuků a v cereální technologii. Jako antioxidant se používá ve vodě rozpustná sůl askorbové kyseliny neboli natrium – askorbát, v praxi známý jako askorbát sodný. Obdobně se využívá i lipofilní sloučenina 6-palmitoyl-L-askorbová kyselina (L-askorbyl-6-palmitát), která plní ještě další funkci a to takovou, že zabraňuje tvorbě nitrosaminů v nakládaném masu a v masných výrobcích. Do masných výrobků se také používají nepolární acetyly askorbové kyseliny odvozené od mastných aldehydů, které jsou stabilnější než askorbyl-palmitát (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Významné využití má askorbové kyseliny při zpracování ovoce a zeleniny. Přidává se k ovocným džusům, konzervovanému a mrazírensky skladovanému ovoci jako prevence nežádoucích změn aroma, které mohou být vyvolány oxidací při skladování a zpracování. Proto se využívá při výrobě hermeticky uzavřených obalů, kdy k odstranění kyslíku je nutný přídatek 3 – 7 mg askorbové kyseliny (podle pH a teploty na  $1 \text{ cm}^3$  přítomného vzduchu). Během loupaní, krájení a sušení ovoce, zeleniny a brambor se askorbová kyselina používá jako inhibitor reakcí enzymového hnědnutí, při kterých stačí jen malá koncentrace askorbové kyseliny, která se navíc kombinuje s citronovou kyselinou. Nejstabilnější je kyselina v kyselém prostředí, proto se často využívá namáčení po dobu 3 minut v roztoku, který obsahuje 1 – 3 % askorbové kyseliny a 0,1 – 0,3 % chloridu vápenatého, případně hydrogensířičitanu. Pokud se

nepoužije askorbová kyselina, je nutné obsah hydrogensířičitanů navýšit cca desetkrát (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.10 Syntetický a přirozený vitamin C v potravě**

Carr et Vissers (2013) popisují, že už od poloviny 30. let 20. století je řešena otázka rozdílu mezi syntetickým a přirozeně se vyskytujícím vitaminem C v potravě a zjistili, že žádný významný rozdíl mezi nimi není. Menší rozdíly byly shledány na studii se zvířaty, rozdíly však korelovaly s rozdílnými druhy zvířat. V humánní studii byl zjištěn minimální rozdíl ve fyziologickém dopadu.

### **3.11 Spotřeba ovoce v ČR**

V roce 2016 byla průměrná spotřeba ovoce  $84 \text{ kg.rok}^{-1}$  na osobu. Z tohoto množství byla spotřeba ovoce původem z mírného pásu  $49 \text{ kg/obyv./rok}$  a to zejména jablek a vinných hroznů a spotřeba jižního ovoce byla  $35 \text{ kg/obyv./rok}$ . Konzumovány byly především pomeranče, mandarinky a banány. Spotřeba ovoce v roce 2016 vzrostla oproti roku 2015, kdy byla průměrná spotřeba ovoce  $82,4 \text{ kg/obyv./rok}$ . Tento trend roste už od roku 2011 (Buchtová, 2017).

Průměrná spotřeba jablek byla za poslední 3 roky v České republice  $22,4 \text{ kg/obyv./rok}$ . Průměrná spotřeba rybízu byla za poslední 3 roky v České republice  $1,3 \text{ kg/obyv./rok}$ . Pomeranče a mandarinky jsou druhým nejvíce konzumovaným ovocem za poslední 3 roky. Průměrná spotřeba činí  $12,7 \text{ kg/obyv./rok}$ . Třetím nejvíce konzumovaným ovocem za poslední 3 roky jsou banány (Buchtová, 2017).

Podle studie Markowského et al. (2009) jsou dva hlavní zdravotní problémy - kardiovaskulární onemocnění a rakovina v moderní společnosti. Zvýšená konzumace ovoce a zeleniny může napomoci ke snížení právě rizika kardiovaskulárních onemocnění a některých typů rakoviny. V dnešní době lidé konzumují spíše ovocné šťávy než čerstvé ovoce a jablečné šťávy jsou v Evropě vysoce konzumovaným produktem. Na druhém místě jsou pomerančové šťávy. Někteří autoři např. Barth S. W. et al. (2005) předpokládají, že jablečná šťáva může snížit výskyt některých forem rakoviny. Tento efekt byl však dokázán pouze v případě kalných jablečných šťáv. Nejvíce produkováná jablečná šťáva se konzumuje čirá a přichází tak o cenné látky. Přichází proto o efekt, který může mít zdravotní přínos pro lidský organismus Markowského et al. (2009).

### 3.12 Ovocné šťávy

Šnurkovič et Sochorcová (2017) analyticky hodnotili 9 odrůdových jablečných šťáv. Hodnocen byl jednak celkový obsah polyfenolů, obsah titrovatelných kyselin a koncentrace vitamínu C. K analýze bylo použito 9 odrůd jablek – Bohemia, Desert, Golden Delicious, Idared, Prima, Rezista, Rubinola, Šampion a Topaz, které pocházely ze sadu Zahradnické fakulty v Lednici. Z plodů jednotlivých druhů byly vyrobeny šťávy, celkem od každé odrůdy 1 litr ovocné šťávy. Šťávy byly pasterovány při teplotě 85 °C po dobu 20 minut. Ihned po pasteraci byly provedeny analýzy. Vitamin C byl stanovován metodou HPLC. Nejvíce vitamínu C obsahovala odrůda Rubinola, ve které bylo zjištěno 63,9 mg.l<sup>-1</sup> vitamínu C. Nejméně vitamínu C bylo stanoveno ve šťávě z odrůdy Bohemia, obsah vitamínu C byl 13,6 mg.l<sup>-1</sup> a ve šťávě z odrůdy Desert, ve které byla koncentrace vitamínu C 17,8 mg.l<sup>-1</sup>.

Chen X et Sato M. (1995) uvádějí obsah vitamínu C ve 100% jablečné šťávě 59,4 mg.l<sup>-1</sup>, obsah vitamínu C v této šťávě nebyl na obalu uveden. Dále zkoumali jablečné nápoje, kde byl vitamin C záměrně přidán do šťávy. Nápoj číslo 1 deklaroval množství vitamínu C a to v množství 955 mg.l<sup>-1</sup>, výsledek měření byl stanoven na 903,5 mg.l<sup>-1</sup>. Nápoj číslo 2 deklaroval množství 2860 mg.l<sup>-1</sup>, ve šťávě bylo zjištěno 2799 mg.l<sup>-1</sup>. Další jablečný nápoj, který analyzovali obsahoval 86,3 mg.l<sup>-1</sup> vitamínu C.

Další studii na obsah vitamínu C v ovocných šťávách různých druhů provedli Gardner et kol. (2000). V jablečné šťávě zjistili obsah vitamínu C 39 mg.l<sup>-1</sup>.

Pisoschi et al. (2008) stanovovali koncentraci askorbové kyseliny ve šťávách z citrusových plodů. Analyzovali pomocí titrační metody DCIP. Vitamin C byl stanoven ve šťávách: Pomerančová šťáva z Řecka, která byla získána z čerstvě vymačkaných pomerančů obsahovala 30,48 mg/100 ml askorbové kyseliny. Dále v citronové šťávě byl vitamin C stanoven na 35,2 mg/100 ml. Cappy grapefruit, výrobcem Coca cola obsahovala 8,21 mg/100 ml, Prigat orange 14,96 mg/100 ml, Fruttia orange 21,12 mg/100 ml a Santal grapefruite 31,68 mg/100 ml askorbové kyseliny.

Elliott, W. H. A. (1939) analyzoval také pomocí titrační metody DCIP koncentraci askorbové kyseliny ve šťávě z černého rybízu. Šťáva byla vyrobena z čerstvého ovoce a vitamin C byl stanoven na 77 mg/100 ml. Studie uvádí, že je to více než 50 % u všech běžných šťáv z citrusových plodů.

Hájková K. a Beňová B. (2012) stanovovali vitamin C ve výrobcích z rakytníku, např. v ovocné pomazánce, rakytník – gel, rakytník v medu, rakytníkovém oleji, rakytníkovém sirupu a také ve 100% rakytníkových šťávě. Analýza byla provedena na kapalinovém chromatografu s elektrochemickým CoulArray detektorem. Ve 100% rakytníkové šťávě byl stanoven obsah vitamínu C  $44 \text{ mg.l}^{-1}$ , v rakytníkových sirupech pak byly stanoveny hodnoty  $120 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $60 \text{ mg.l}^{-1}$ .

### **3.13 Vybrané druhy ovoce**

#### **3.13.1 Jablka**

Jabloně jsou nejdůležitějším a také nejrozšířenějším ovocným druhem v České republice (Dlouhá et al., 1997). Letní odrůdy jablek dozrávají během července, ale nejvíce odrůd dozrává na podzim. Podzim je hlavní období pro sklizeň a jablka sklizená v tomto období se skladují do jara, některé až do příští sklizně. Jablka se pěstují především pro přímý konzum, ale jablka horší kvality se také dále zpracovávají. Jabloně jsou přizpůsobeny různým podnebným podmínkám a k jejich největším pozitivům patří zimovzdornost (Šapiro, 1988).

Podle odrůd se jablka dělí na letní, podzimní a zimní. Mezi letní odrůdy patří James Grieve, Discovery, Mantet, Melba Red, Průsvitné letní a Quinta. Podzimní odrůdy jsou Albrechtovo, Fantazia, Prima, Oldenburgovo červené a Wealthy Double Red. Do zimních odrůd patří Golden Delicious, Idared, Jonathan, Mac Intosh Red, Mac Spur, Spartan, Šampion a další (Šapiro, 1988).

Chemické složení jablek závisí na mnoha faktorech, mezi které patří: odrůda, oblast pěstování, věk stromu, počasí během vegetace, agrotechnika a mnoha dalších. Tyto všechny faktory poté ovlivňují výsledné nutriční složení a to včetně vitamínu C. Jablka však nepatří mezi nejbohatší zdroje vitamínu C (Šapiro, 1988). Podle Kopeckého (1998) jablka průměrně obsahují  $4,8 \text{ mg}/100 \text{ g}$ . Během zimních měsíců obsah askorbové kyseliny klesá a především se prudce snižuje při přezrávání jablek (Šapiro, 1988).

#### **3.13.2 Černý rybíz**

Plody černého rybízu jsou cennou surovinou pro potravinářský průmysl. Ceněny jsou především pro jeho specifickou chuť a vůni, proto se používají pro potravinářské výrobky vysoké kvality – šťávy, džemy, zavařeniny, vína, likéry. Často se využívá rychlé zmrazení bobulí s jejich pozdějším použitím pro kulinářské úpravy. Historie černého rybízu je poměrně



mladá, neznali ho ani Římané ani Řekové na rozdíl od řady jiných ovocných plodů. Ze starých záznamů je známo, že se černý rybíz pěstoval již ve 2. století v klášterních zahradách v Rusku. Dříve se považoval za léčivou rostlinu a je popisován v lékařských a bylinkářských knihách (Šapiro, 1988).

Nutriční složení bobulí je velice hodnotné. Jsou bohaté na vitaminy, minerální látky, organické kyseliny, cukry, pektiny a další látky. Plody jsou významným zdrojem především vitamínu C, který ale kolísá vlivem různých faktorů. Obsah askorbové kyseliny je závislý na odrůdě, podmínkách počasí během vegetace, věku rostliny, stupni zralosti plodů, způsobu agrotechniky, atd. (Šapiro, 1988). Podle Kopeckého (1998) černý rybíz obsahuje 160 mg/100 g vitamínu C.

Nejvyšší obsah vitamínu C mají zelené bobule, poté během dozrávání obsah vitamínu C klesá, nejvíce při přezrání. Negativní dopad na obsah vitamínu C má také chladné léto s častými srážkami, hlavně koncem června a začátkem července. Askorbová kyselina se vyskytuje také v listech, které jsou sklizené po odkvětu keřů. Takovéto listy obsahují do 400 mg/100 g vitamínu C, který opět velmi rychle klesá během tvorby a při dozrávání plodů. Po sklizni je v listech pouze 1/9 až 1/6 původního množství (Šapiro, 1988).

### **3.13.3 Rakytník řešetlákový**

Rakytníkové bobule rostou na keři Rakytníku řešetlákovém. Jinak je nazýván také jako citroník severu. Pro své léčivé účinky byl používán v Rusku, Číně i v Řecku. Původem je z Kavkazu, kde se až dodnes bohatě pěstuje. Bobule jsou červeno-oranžové a sklízí se hlavně v zimě, kdy se plody nechávají zmrznout a poté se setřásají na plachtu (Všolková, 2003). Podle Kopeckého (1998) obsah askorbové kyseliny je 153 mg/100 g. Množstvím vitamínu C se vyrovná např. černému rybízu. Eccleston et al. 2002 uvádějí obsah vitamínu C v rakytníkových šťávách 1540 mg.l<sup>-1</sup>.

## **3.14 Legislativa ovocných šťáv a koncentrátů**

Požadavky na nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů jsou definovány vyhláškou 335/1997 Sb. (Dostálová, 2014).

### **3.14.1 Ovocná a zeleninová šťáva**

Jedná se o šťávu, ve které nedošlo ke zkvašení. Je získaná z přiměřeného množství zralého, čerstvého nebo chlazeného ovoce nebo zeleniny. Může být použit jeden nebo více druhů ovoce či zeleniny (Dostálová, 2014).

### **3.14.2 Ovocná šťáva z citrusových plodů**

Šťáva, která je získaná z endokarpu vnitřní části citrusových plodů. Limetková šťáva může být získávána z celého plodu, pokud se použije vhodný výrobní postup (Dostálová, 2014).

### **3.14.3 Ovocná nebo zeleninová šťáva z koncentrované ovocné nebo zeleninové šťávy**

Tyto šťávy se nazývají také jako šťávy z koncentrátu. Šťávy jsou získané z koncentrované ovocné nebo zeleninové šťávy a opětovně doplněny podílem vody, která byla odstraněna při koncentraci šťávy. Obnovuje se i aroma pomocí těkavých látek, které byly zachyceny v průběhu koncentrace (Dostálová, 2014).

### **3.14.4 Koncentrovaná ovocná nebo zeleninová šťáva**

Výrobek je získaný z ovocné nebo zeleninové šťávy z jednoho nebo více druhů ovoce nebo zeleniny fyzikálním odstraněním specifického podílu obsahu vody. V konečném výrobku nesmí být snížení objemu menší než 50 % (Dostálová, 2014).

### **3.14.5 Nektar**

Jedná se o výrobek získaný přidávkem pitné vody nebo přírodních sladidel, sladidel, medu nebo jejich směsi. Tyto ingredience se přidávají k ovocné nebo zeleninové šťávě, ovocné nebo zeleninové šťávě z koncentrátu nebo koncentrované ovocné nebo zeleninové šťávě, atd. (Dostálová, 2014).

Každá skupina nealkoholických nápojů a koncentrátů má své jakostní požadavky. Pro nektary je určen minimální obsah šťávy, dřeně nebo jejich směsi. Např. nektar z černého rybízu musí obsahovat minimálně 25 %, rakytník 25 %, šípky 40 %, brusinky 30 % v konečném objemu výrobku. Jablka a citrusové plody vyjma citronů a limetek musí obsahovat 50 % v konečném objemu výrobku (Dostálová, 2014).

### 3.15 Metody

V současné době existuje mnoho způsobů, které jsou určeny pro stanovení askorbové kyseliny v potravinách.

Chromatografické procesy, především kapalinová chromatografie a kapilární elektroforéza patří mezi nejlepší techniky, kterými lze stanovit L- askorbovou kyselinu, dehydroaskorbovou a D isoaskorbovou kyselinu. Tyto techniky se používají s UV, fluorescencí nebo elektrochemickou detekcí a poskytují velice citlivé měření askorbové kyseliny. Kapalinová chromatografie, která se páruje s hmotnostní spektrometrií je méně používaná technika analýzy vitamínu C v porovnání s jinými ve vodě rozpustnými vitamíny (Eitenmiller et al., 2008).

### 3.16 Kapalinová chromatografie

V klasické kapalinové chromatografii se plní skleněná trubice (dole zakončená fritou a kohoutem) zrnitým sorbentem, který obsahuje částičky. Na horní vrstvu náplně se dávkuje malé množství vzorku a následně se přidá mobilní kapalná fáze – eluent. Vlivem gravitační síly mobilní fáze prostupuje kolonou, složky vzorků se do sebe separují a v rozdílných časech opouštějí spodní část kolony, kde dopadají na detektor a výsledky zaznamenává vyhodnocovací zařízení (Klouda, 2003).

Jelikož klasická kapalinová chromatografie nemá pro analýzu vitamínu C potřebnou účinnost, stala se základem pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC – High Performance Liquid Chromatography). Pro účinnou separaci je potřeba použít dostatečně malých zrníček sorbentu, která kladou prostupující kapalině značný odpor (nutno pracovat při vysokém tlaku) (Nováková et kol., 2013).

Pístová nebo membránová čerpadla vhání kapalinu do kolony o průtoku v rozsahu od jednoho  $\mu\text{l}$  do desítek ml za minutu s méně než 1% kolísáním průtoku při tlaku až 35 MPa. Při takovém tlaku nesmí materiál čerpadla uvolňovat do mobilní fáze žádné látky, stejně tak řídicí ventily, které regulují tok eluentu. Z těchto důvodů je čerpadlo vyrobeno z kvalitní oceli, keramiky, plastu a řídicí ventily jsou často zhotoveny z pryže nebo safíru (Klouda, 2003).

Pokud složení mobilní fáze zůstává nezměněno, jedná se takzvaně o izokratickou eluci. V opačném případě se během separace mění a jedná se o gradientovou eluci. Směšovací zařízení lze naprogramovat tak, aby v průběhu separace využívalo zásobníků s různými kapalinami a měnit tak výsledné složení mobilní fáze (Klouda, 2003).

Dávkování může být provedeno injekční stříkačkou nebo obtokovým dávkovacím kohoutem. Při dávkování injekční stříkačkou není možné se nevyhnout nevýhodám z hlediska těsnosti, udržení tlaku a zejména vnášení stop materiálu injekční stříkačky. Injekční dávkování se provádí za běžného tlaku při přerušení toku eluentu, přičemž může být dávkování ovládáno ručně nebo automaticky (Nováková et kol., 2013).

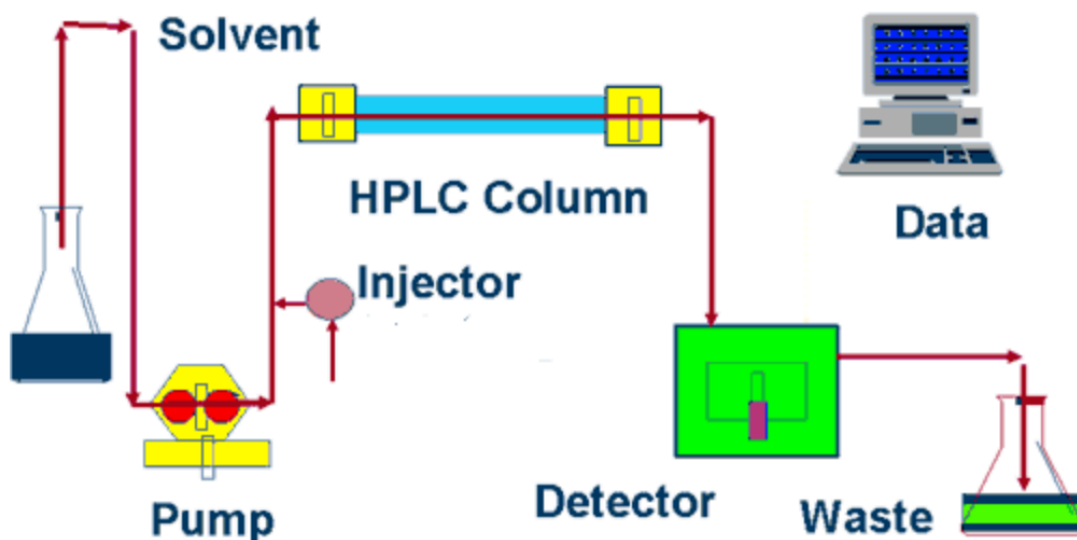
V současné době častěji používaným systémem dávkování je obtokový dávkovací kohout. Obsah dávkovací smyčky je 10 nebo 20  $\mu\text{l}$ . Použití slabého eluentu můžou být dávkovány větší vzorky (řádově stovky  $\mu\text{l}$ ). Za tohoto předpokladu se vzorek zachytí v hlavě kolony, zatímco eluent postupuje dále. Menší vzorky (zlomky  $\mu\text{l}$ ) jsou aplikovány v kolonách malých vnitřních rozměrů (micro - bore columns) pomocí speciálních mikro injektorů. Dávkovací ventily mají výhodu v přesnějším dávkování a nevyžadují zastavení toku mobilní fáze (Klouda, 2003).

Kolony se používají pouze náplňové. V kapalinové chromatografii existuje velké množství kolon různé délky, vnitřního průměru a náplně. Jsou převážně zhotoveny z nerezové oceli, jsou poměrně krátké (10, 15 nebo 25 cm), vnitřní průměr je 4,6 mm a vnější průměr 1/4 palce (2,54/4 cm). Běžný průtok eluentů je 1 – 2 ml za minutu. Krátké analytické kolony, délky 3 cm jsou vhodné pro rychlé separace. Kolony s velmi malým vnitřním průměrem mají vnitřní průměr 1 – 2 mm a délku 25 až 50 cm. Vyznačují se vysokou účinností, přičemž spotřebují málo rozpouštědla (10 – 100  $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Pro ochranu hlavní kolony se dají použít předkolony, které jsou umístěné mezi čerpadlo a dávkovací zařízení nebo ochranné kolony, umístěné mezi dávkovací zařízení a analytickou kolonu (Klouda, 2003).

Většina separací HPLC nevyžaduje termostátování a probíhá při laboratorní teplotě. Nové chromatografy umožňují zvýšení teploty, což výrazně zlepší některé separace. Programová změna teploty se však v HPLC nevyužívá (Klouda, 2003).

Od detektorů v HPLC se očekává, že budou selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fázi. Nejpoužívanějšími detektory jsou fotometrický, refraktometrický a fluorescenční (Klouda, 2003).

## HPLC System



Obrázek 5 Schéma HPLC (Understanding an HPLC system, 2018)

### 3.17 Stanovení vitamínu C metodou HPLC

Stanovení vitamínu C metodou HPLC je definováno evropskou normou EN 14130, pro jejíž výklad je i česká norma. Podstata zkoušky spočívá v extrahování vitamínu C ze vzorku roztokem kyseliny metafosforečné. K převedení kyseliny dehydro L(+) askorbové na kyselinu L(+) askorbovou je použit redukční roztok. Celkový obsah kyseliny L(+)askorbové je stanoven metodou HPLC s UV detekcí při 265 nm (ČSN EN 14130: Potraviny - Stanovení vitamínu C metodou HPLC, 2004).

Stanovení vitamínu C metodou HPLC podle české normy nebylo použito. Ke stanovení askorbové kyseliny v této diplomové práci byla použita jiná metoda, která umožňuje stanovení vitamínu rozpustných ve vodě, tedy nejenom vitamínu C, ale i vitamínu skupiny B. (Shuguang, 2011).

## **3.18 Jiné chemické metody stanovení askorbové kyseliny**

### **3.18.1 Oxidimetrická stanovení**

Tato metoda využívá oxidace, která může proběhnout po přidání různých oxidačních činidel k roztoku kyseliny askorbové. Jako oxidační činidla se například používají jod, ferrikyanid draselný, 2,6 – dichlorfenolindofenol, methylenová modř atd. Oxidimetrickou titrací kyseliny askorbové lze sledovat vizuálně, fotometricky, potenciometricky i polarometricky (Knobloch 1956). Díky nestálosti kyseliny askorbové na vzduchu, je nutno věnovat zvýšenou péči přípravě roztoku a extrakci z přirozeného materiálu. Normální oxidimetrické stanovení spočívá v přidání roztoku barviva k extraktu kyseliny askorbové v prostředí kyseliny metafosforečné nebo jiné vhodné kyseliny. Odbarvování lze sledovat vizuálně (při elektrometrické titraci je užito indikačních elektrod. Elektrometrických metod se používá velmi málo, jelikož jsou málo specifické a potenciály se pomalu ustalují. Naopak velmi často se používá fotometrického sledování oxidace kyseliny askorbové 2,6 – dichlorfenolindofenolem, přičemž stupeň odbarvení sledujeme měřením extinkce. Modifikace této metody, při kterých lze sledovat rychlost odbarvení, nám umožňují usuzovat přítomnost redukujících balastů (Eitenmiller et al. 2008).

### **3.18.2 Titrační stanovení 2,6 – dichlorfenolindofenolem (DCIP)**

Tato metoda používá pro stanovení extrakci askorbové kyseliny analyzovaného vzorku roztokem šťavelové kyseliny nebo roztokem kyseliny metafosforečné a octové. Poté následuje titrace barvivem až do objevení se růžového zabarvení (nezredukovaný přebytek barviva). Touto metodou se přímo stanovuje kyselina askorbová ve farmaceutických preparátech a po určité úpravě podle druhu materiálu i v potravinách (Eitenmiller et al. 2008).

### **3.18.3 Spektrofotometrické stanovení kyseliny askorbové**

Spektrofotometrická metoda patří mezi novější metody, byla vyvinuta v roce 2008. Patří mezi citlivé a jednoduché metody založené na aktivujícím efektu na oxidaci barviva Ponceau 4R za přítomnosti mědi a borátového pufru. Vlastní stanovení probíhá při 22 °C po dobu jedné minuty a stanovuje se tak spektrofotometrický produkt. Metoda byla použita na stanovení askorbové kyseliny na farmaceutických vzorcích (Grahovac et kol. 2008).

### **3.18.4 Elektrometrická titrace askorbové kyseliny**

Metoda používaná hlavně při stanovení obsahu askorbové kyseliny v zakalených nebo silně zbarvených roztocích, kde by se špatně používala visuální metoda nebo kolorimetrie. Stanovení se provádí v roztoku např. síranu hlinitého za přítomnosti elektrod (platinových, ...). Nevýhodou této metody je přítomnost interferujících látek, které způsobují pomalé ustalování potenciálu, takže konec titrace je nezřetelný (Eitenmiller et al. 2008).

### **3.18.5 Polarografická metoda**

Podstatou polarografické metody je oxidace askorbové kyseliny na rtuťové elektrodě a redukce chinoxalinového derivátu. Toto stanovení lze použít ve všech potravinách (Hálková et kol. (2001).

## **4 Materiál a metodika**

### **4.1 Vzorky ovocných šťáv**

Celkově proběhly 4 analýzy měření askorbové kyseliny. Vzorky na první a druhou analýzu byly poskytnuty od firmy Vitaminátor s.r.o., která sídlí v obci Sosnová. Firma vyrábí 100% přírodní šťávy, bez přidaného cukru, konzervantů a dalších látek. Zaměřuje se na ovocné, ale i na zeleninové v kombinaci s ovocnou složkou – jablkem. Vyrobene šťávy pochází z jejich sadů, kde pěstují ovoce v souladu se zásadami ekologického zemědělství, proto některé jejich výrobky mohou nést označení BIO. Hlavní produkcí jsou jablka, dále černý a červený rybíz, rakytník, maliny, slivoně, atd. Na výsadbě části sadů se podílí Zahradnická fakulta Mendelovy Univerzity v Lednici i Výzkumný ústav ovocnářství v Holovousech (Vitaminátor, 2016).

První analýza proběhla dne 13. 12. 2016. Na analýzu byly použity: 100% jablečná šťáva, 100% jablečná šťáva s hruškou (60 % jablko a 40 % hruška) a 100% jablečná šťáva s rakytníkem (90 % jablko a 10 % rakytník).

Druhá analýza proběhla dne 13. 6. 2017. Na analýzu byly použity: 100% jablečná šťáva, 100% jablečná šťáva s hruškou, 100% jablečná šťáva s rakytníkem, 100% jablečná šťáva s černým rybízem (80 % jablko a 20 % černý rybíz), 100% jablečná šťáva s červeným rybízem (80 % jablko a 20 % červený rybíz).

Třetí analýza, která proběhla dne 28. 2. 2018. Vzorky ovocných šťáv byly zakoupeny v běžných obchodních řetězcích se zaměřením na šťávy vyrobené z černého rybízu, jablečné

šťávy a šťávy vyrobené z několika různých druhů ovoce. Seznam vzorků je uveden v Tabulce 6 a 7. Některé výrobky měly uvedený obsah vitamínu C na obalu, v konkrétním množství nebo byla uvedena kyselina askorbová ve složení výrobku jako antioxidant. Takový výrobek však neměl uvedený obsah vitamínu C ve výživových hodnotách.



Obrázek 5 Šťávy z černého rybízu



Obrázek 6 Rakytčíková šťáva BIO

Poslední analýza proběhla dne 1. 3. 2018. Vzorky byly také zakoupeny v obchodních řetězcích se zaměřením na pomerančové šťávy. Seznam šťáv, které byly použity k měření jsou uvedeny v Tabulce 8. U většiny šťáv byl uveden obsah vitamínu C na obalu.



Obrázek 7 Šťávy z citrusových plodů a jahodová šťáva



Obrázek 8 UGO 100% šťávy



## 4.2 Vzorky pyré

Vzorky pyré byly analyzovány v paralelních opakováních, celkem ve třech měřeních. Pyré byly poskytnuty od firmy Vitaminátor s.r.o. Pyré jsou vyrobeny ze 100% ovoce a neobsahují žádné další přídatné látky.

První byly analyzovány vzorky Jablečného pyré a Jablečného pyré s rakytníkem. Po druhé byly opět analyzovány vzorky jako u prvního měření a Jablečné pyré s černým rybízem. Poslední analýza proběhla se vzorky jako u druhého měření, tzn. Jablečné pyré, Jablečné pyré s rakytníkem a Jablečné pyré s černým rybízem.



Obrázek 9 Jablečné pyré s černým rybízem BIO

## 4.3 Chemikálie

- Askorbová kyselina Ph. EUR. 7.0. Dr. Kulich Pharma s.r.o. ČR
- Dihydrát kyseliny šťavelové 0,5%  $(\text{COOH})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , Lachner, ČR
- Deionizovaná voda (odpor = 18,2 M $\Omega$ )

## 4.4 Přístroje

- Chromatografické zařízení Waters e2695 – Separation module (separační modul), Alliance (USA)
- Detektor diodového pole Waters 996 PDA (USA)
- Centrifuga 5810 R (Eppendorf, Německo)
- Analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)

- Přístroj pro přípravu destilované vody (vodivost 1,05  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) Goldman Water, (Česká republika)
- Přístroj pro přípravu superčisté vody, Millipore, (Francie)

#### 4.5 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Automatické pipety (100 - 1000  $\mu\text{l}$ )
- Injekční stříkačky Luer–slip plastic syringe, 3 ml, dodavatel Chromservis, země původu (SRN)
- PVDF mikrofiltry s porozitou 0,45  $\mu\text{m}$ , Chromservis, (Česká republika)
- HPLC vialka 12x32, (2 ml) – VT009M – 1232, Chromservis, (Česká republika)

#### 4.6 Příprava roztoků

Roztoky byly připraveny za použití deionizované vody.

Návody na přípravu roztoků:

- 0,5% kyselina šťavelová: 7 g kyseliny šťavelové smíchaná s deionizovanou vodou a doplní se do objemu 1 litru

#### 4.7 Příprava vzorků šťáv

Jelikož je askorbová kyselina velice labilní, pokud je vystavena vzdušnému kyslíku a dalším změnám, muselo se se vzorky pracovat velmi rychle, aby byl zachován co nejvyšší obsah vitamínu C ve vzorcích.

Do kádinky bylo odebráno 5 ml z každého balení ovocné šťávy pomocí automatické pipety. Poté bylo pipetováno 5 ml 0,5% kyseliny šťavelové a následně smícháno s 5 ml dané ovocné šťávy. Směsný vzorek byl promíchán a následně převeden pomocí injekční stříkačky přes mikrofiltr PVDF (0,45  $\mu\text{m}$ ) a převeden do 2 ml HPLC vialky, která byla vložena do chromatografu.

Některé šťávy nebyly dostatečně čiré pro okamžité odebrání do injekční stříkačky a přefiltrování. Naopak byly kalné a obsahovaly kousky ovoce nebo vlákninu. Jednalo se

především o šťávy, které mají kratší dobu trvanlivosti a byly určené k uchovávání v chladu. Takové vzorky se po smíchání s 0,5% kyselinou šťavelovou vnesly do centrifugačních zkumavek a poté byly odstředěny na centrifuze do 15 minut při rychlosti 10 000 rpm.

#### **4.8 Příprava vzorků pyré**

Postup u přípravky vzorků pyré byl velice podobný s přípravou vzorků ovocných šťáv, především v druhé části přípravy. Jednotlivé vzorky byly naváženy na analytické váze. Hmotnost vzorků se pohybovala kolem 15 g. Po odvážení se vzorky vložily do centrifugy a byly odstředěny při rychlosti 10 000 rpm za do 15 minut. Následně byl odebráno 5 ml supernatantu a smíchán ve stejném poměru s 0,5% kyselinou šťavelovou. Další postup se shoduje s přípravou vzorků ovocných šťáv.

#### **4.9 Příprava standardních roztoků**

Standards byly připraveny pomocí analytických vah, na kterých se navážilo 30 mg askorbové kyseliny. Po navážení byla askorbová kyselina přemístěna do odměrné baňky a poté se odměrná baňka o objemu 50 ml doplnila kyselinou šťavelovou. Následně byl z tohoto zásobního roztoku napipetováno postupně 1 ml, 5 ml, 10 ml a 12 ml do 50ml odměrných baněk, které po rysku byly opět doplněny šťavelovou kyselinou. Poslední vialka obsahovala zásobní roztok. Nakonec byly standardy pomocí injekční stříkačky převedeny do vialek z jednotlivých standardů a byla vytvořena kalibrace v rozsahu 12 – 600  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

#### **4.10 Chromatografické podmínky**

Stanovení askorbové kyseliny v ovocných šťávách a pyré bylo provedeno na kapalinovém chromatografu (HPLC) od firmy Waters.

- Analytická kolona: Kinetex 2,6 $\mu$  Polar C18 100 A (průměr 4,6 mm a délka 100 mm), katalogové číslo: 00D-4759-E0
- Složení mobilní fáze A: 0,4 ml triethylaminu, 15 ml octové kyseliny, 0,008M monohydrát hexasulfonátu sodného (3 g), 1985 ml H<sub>2</sub>O
- Složení mobilní fáze B: methanol (100 %)
- Průtok mobilní fáze: 0,5 ml.min<sup>-1</sup>
- Typ eluce: gradientová

- Teplota chromatografické kolony: 25 °C
- Objem analyzovaného vzorku: 5 µl
- Doba analýzy: 17 minut
- Podmínky detekce: PDA detektor diodového pole. Chromatografy byly vyhodnoceny při vlnové délce  $\lambda = 270$  nm.
- Tlak: 100 – 150 barů
- Schéma gradientové eluce je uvedeno v Tabulce 5

Tabulka č. 5 Podmínky gradientové eluce

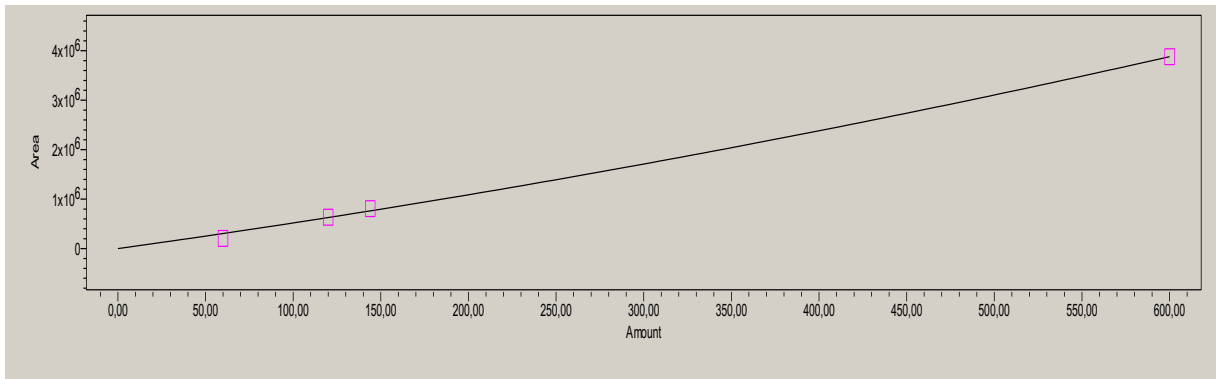
Čas [min]	Podíl A [%]	Podíl B [%]	Průtok [ml.min <sup>-1</sup> ]	Profil křivky
0	95	5	0,5	
9	53	47	0,5	6
9,15	2	98	0,5	1
12	2	98	0,5	6
12,1	95	5	0,5	11
17	95	5	0,5	6

Výpočet obsahu askorbové kyseliny v analyzovaném vzorku byl proveden z plochy píku pomocí softwaru EMPOWER 2. Koncentrace askorbové kyseliny v softwaru EMPOWER 2 jsou uvedeny v µg/ml<sup>-1</sup>. K převodu na koncentraci mg/100 ml byl použit následující vztah:

$$\frac{x \cdot 2 \cdot 100}{1000}$$

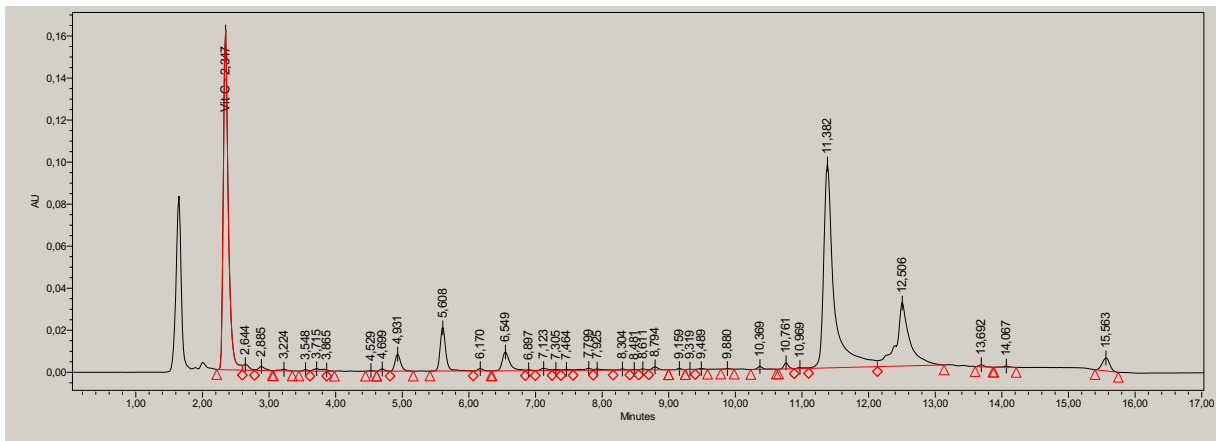
x ..... koncentrace vitamínu C v µg/ml<sup>-1</sup> zředěného vzorku

Obsah vitamínu C ve vzorcích byl vyhodnocen metodou kalibrační křivky znázorněné na Obr 10. Kalibrační křivka byla proměřena v rozmezí 12 – 600 µg.ml<sup>-1</sup> askorbové kyseliny. Mez detekce (LOD) byla vyhodnocena z kalibrační závislosti v programu Excel. Mez detekce byla stanovena na hodnotu 0,5 mg.l<sup>-1</sup>. Mez stanovitelnosti je rovna trojnásobku hodnoty meze detekce.

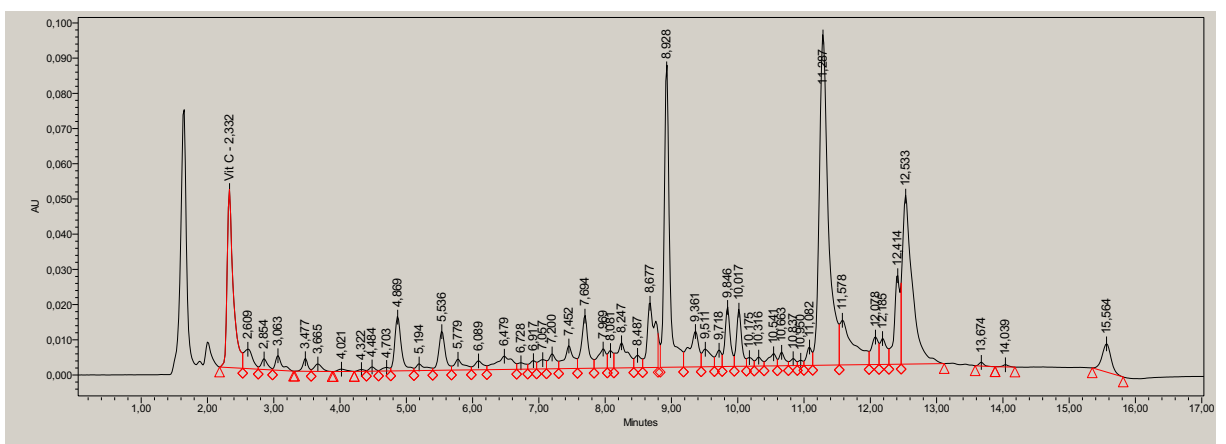


Obrázek 10 Kalibrační křivka vitaminu C  $y = 6,39.104x$   $R^2 = 0,9954$ ,  $R = 0,9977$

Chromatografy z analýzy jsou uvedené na Obr. 11 a 12.



Obrázek 11 Chromatogram – pomeranč Relax



Obrázek 12 Chromatogram Pyré s černým rybízem

## 5 Výsledky

### 5.1 Stanovení askorbové kyseliny v ovocných šťávách

Obsah askorbové kyseliny byl stanovován nejdříve ve vzorcích 100% ovocných šťáv od firmy Vitaminátor. První měření ukázalo, že všechny vzorky obsahují vitamin C pod mezí detekce. Mez detekce byla stanovena na  $< 0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Měření bylo proto zopakováno v druhém měření se stejnými vzorky, ale s jinou výrobní šarží. Výsledky měření byly opět pod mezí detekce. Původní záměr práce, bylo sledovat obsah vitamínu C ve šťávách v závislosti na době uskladnění. Tedy, jak se mění množství vitamínu C v čase v ovocných šťávách.

První dvě analýzy však ukázaly, že obsah vitamínu C je pod mezí detekce, proto se přistoupilo na rozšíření práce o další ovocné šťávy od jiných výrobců. Další analýzy byly rozšířeny o ovocné šťávy, džusy a nektary volně prodejně v různých obchodních řetězcích. Výběr konkrétních druhů šťáv souvisel s výběrem šťáv u prvních dvou měření. Bylo cílem zjistit, zdali jablečné šťávy od jiných výrobců obsahují vitamin C. Proto se v dalších analýzách měřily šťávy jablečné a šťávy jablečné s dalšími přidanými druhy ovoce. Sortiment vzorků byl rozšířen i o ovocné šťávy, kde se očekával vyšší výskyt vitamínu C než u jablečných šťáv. Proto byly analyzovány šťávy z černého rybízu, rakytníku a citrusových plodů.

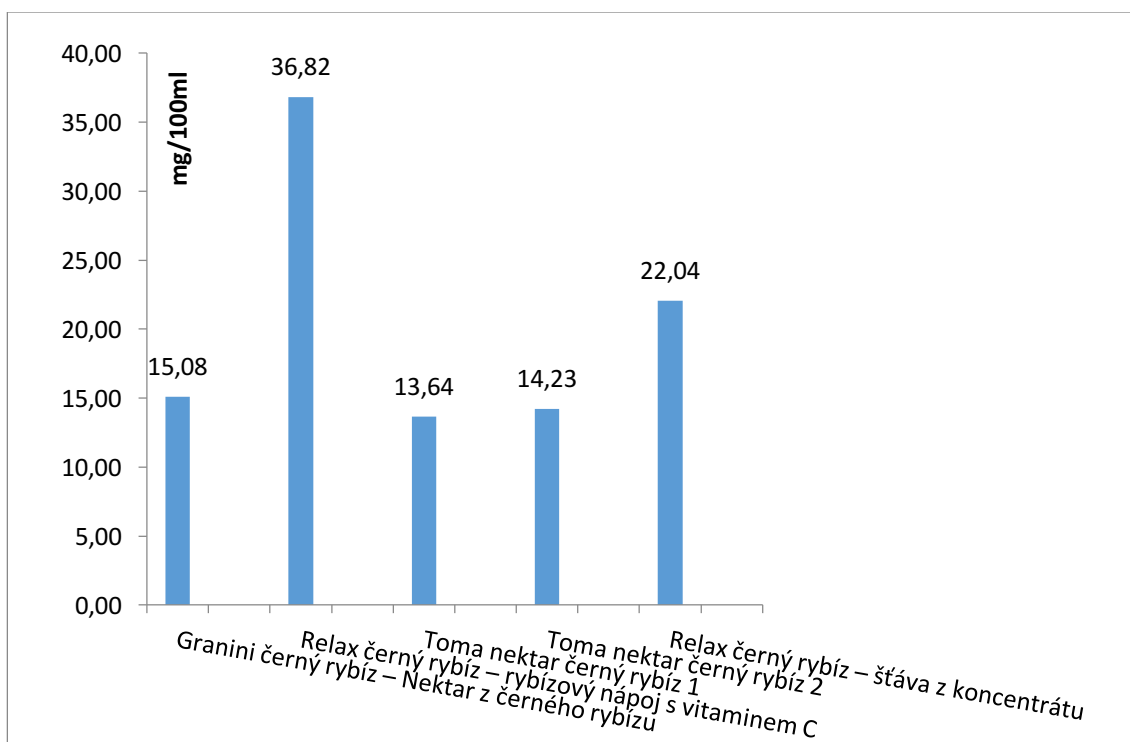
V Tabulce č. 6 jsou uvedené stanovené obsahy vitamínu C ve vzorcích ovocných šťáv, vyrobené z černého rybízu. V některých šťávách byl uveden obsah vitamínu C na obalu. Jednalo se o šťávy Relax černý rybíz a Toma nektar černý rybíz číslo 1 a 2. Toma nektar černý rybíz 1 a 2 se mezi sebou lišily ve výrobní šarži. Toma 2 měla o 4 měsíce delší dobu trvanlivosti. Nejvyšší obsah askorbové kyseliny byl stanoven ve vzorku Relax černý rybíz – rybízový nápoj s vitamínem C, a to  $36,8 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ . U tohoto vzorku byl uveden obsah vitamínu C na obalu v množství  $6 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ . Druhé nejvyšší množství vitamínu C bylo stanoveno ve vzorku též Relax černý rybíz – šťáva z koncentrátu s hodnotou  $22,04 \pm 0,04 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ .

Významný množství také obsahovala 100% rakytníková šťáva s výsledkem  $21,1 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  askorbové kyseliny. Nápoje, kde byl vitamin C pod mezí detekce byla UGO 100% jablečná šťáva a Kubík 100% jablečná šťáva.

Tabulka 6 Naměřené hodnoty askorbové kyseliny v šťávách z černého rybízu

Vzorek	Vitamin C			
	mg/100 ml	Průměr mg/100 ml	Směr. odchylka	Přidaný vitamin C mg/100 ml
Granini černý rybíz – Nektar z černého rybízu	14,92	15,08	0,163	-
	15,24			
Relax černý rybíz – rybízový nápoj s vitamínem C	36,64	36,82	0,183	6,000
	37,01			
Toma nektar černý rybíz 1	13,66	13,64	0,021	12,000
	13,62			
Toma nektar černý rybíz 2	14,19	14,23	0,039	12,000
	14,27			
Relax černý rybíz – šťáva z koncentrátu	21,99	22,04	0,045	-
	22,08			

Graf č. 1 Obsah vitamínu C ve šťávách černého rybízu



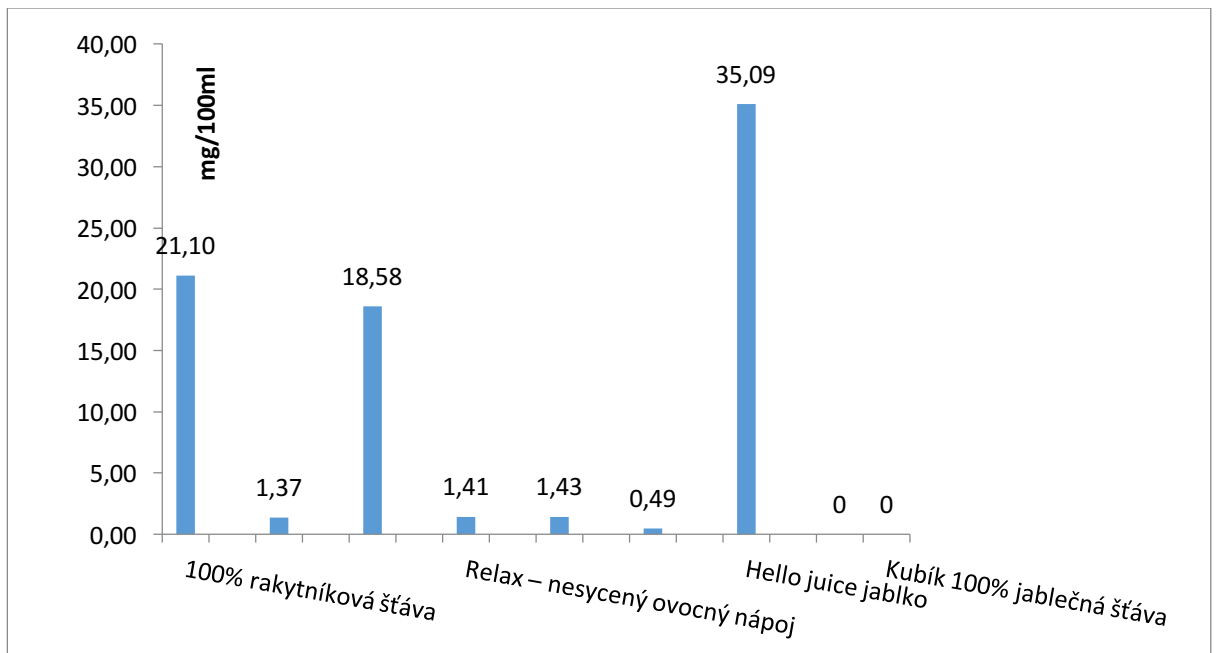
Tabulka č. 7 uvádí výsledky měření dalších ovocných šťáv. Nejvíce askorbové kyseliny bylo naměřeno ve vzorku Cappy great start, výsledek měření bylo 70,2 mg/100 ml. U tohoto nápoje byl vitamin C deklarován na obale v množství 32 mg/100 ml. Vyšší množství bylo naměřeno v Rauch – Happy day 100% pomerančové šťávě a to 55,9 mg/100 ml. Na obalu měl tento nápoj uvedeno, že obsahuje 32 mg/100 ml vitamínu C. Poslední nápoj, na kterém byl uveden vitamin C o obsahu 12 mg/100 ml byl Cappy multivitamin, změřený obsah byl stanoven na 22,67 mg/100 ml. Ostatní vzorky neměli uvedený obsah vitamínu C na obalu, nicméně zjištěný obsah askorbové kyseliny není zanedbatelný. Pure 100% juice orange obsahoval 17,75 mg/100 ml a Pfanner jahoda 18,58 mg/100 ml askorbové kyseliny.



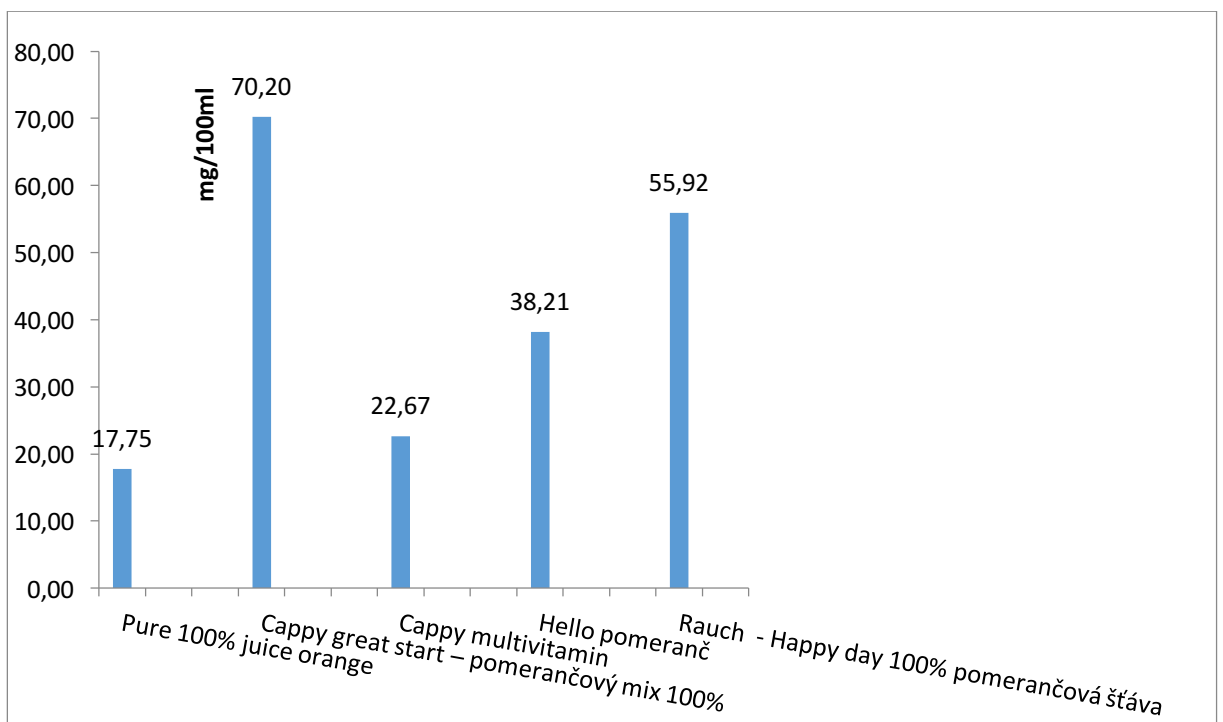
Tabulka č. 7 Naměřené hodnoty askorbové kyseliny

Vzorek	Vitamin C			
	mg/100 ml	Průměr mg/100 ml	Směr. odchylka	Přidaný vitamin C mg/100 ml
100% rakytníková šťáva	20,89	21,10	0,212	-
	21,31			
Rio Fresh - 100% šťáva z jablek a červené řepy	1,34	1,37	0,030	-
	1,40			
Pfanner jahoda	18,65	18,58	0,072	-
	18,51			
Relax – nesycený ovocný nápoj	1,32	1,41	0,092	-
	1,50			
Relax – jablko, aronie, višně, lesní jahoda	1,45	1,43	0,014	-
	1,42			
UGO – 100% šťáva pomeranč, mrkev, jablko, zázvor	0,49	0,49	0,007	-
	0,48			
Hello juice jablko	35,31	35,09	0,219	24
	34,87			
UGO - 100% jablečná šťáva	<MD	<MD	<MD	-
Kubík 100% jablečná šťáva	<MD	<MD	<MD	-

Graf č. 2 Obsah vitamínu C v ovocných šťávách



Graf č. 3 Obsah vitamínu C v pomerančových šťávách



Tabulka č. 8 Naměřené hodnoty askorbové kyseliny

Vzorek	Vitamin C			
	mg/100 ml	Průměr mg/100 ml	Směr. odchylka	Přidaný vitamin C mg/100 ml
Pure 100% juice orange	17,34	17,75	0,409	-
	18,16			
Cappy great start – pomerančový mix 100%	70,07	70,20	0,130	32
	70,33			
Cappy multivitamin	22,73	22,67	0,062	12
	22,61			
Hello pomeranč	36,26	38,21	1,948	24
	40,16			
Rauch - Happy day 100% pomerančová šťáva	56,23	55,92	0,314	32
	55,60			

## 5.2 Stanovení askorbové kyseliny v ovocných pyré

Stanovování obsahu askorbové kyseliny v ovocných pyré bylo celkem třikrát. První analýza byla prováděna na vzorcích Pyré 100% jablko a Pyré s rakytníkem. U obou vzorků byl stanoven obsah askorbové kyseliny pod mezí detekce, tzn.  $< 0,3\mu\text{g/ml}$ . Ve druhé analýze bylo měřeno opět Pyré s rakytníkem a 100% jablečné pyré, avšak s negativním výsledkem, opět pod mezí detekce. Proto byly vzorky rozšířeny o další variantu pyré. Jak uvádí Tabulka 8 vitamin C se stanovoval v Pyré s černým rybízem. Vzorek Pyré s černým rybízem 1 a Pyré s černým rybízem 2 jsou dvě různá balení.

Tabulka č. 9 Naměřené hodnoty askorbové kyseliny ve vzorcích pyré

Vzorek	Vitamin C		
	mg/100 g	Průměr mg/100 g	Směr. odchylka
Pyré s černým rybízem 1	9,46 8,78	9,12	0,34
Pyré s černým rybízem 2	14,18 13,91	14,05	0,13
Pyré s rakytníkem	<MD <MD	<MD <MD	*
Pyré s jablkem	<MD <MD	<MD <MD	*

\* Bylo 1 měření, ale obě měření byla pod mezí detekce

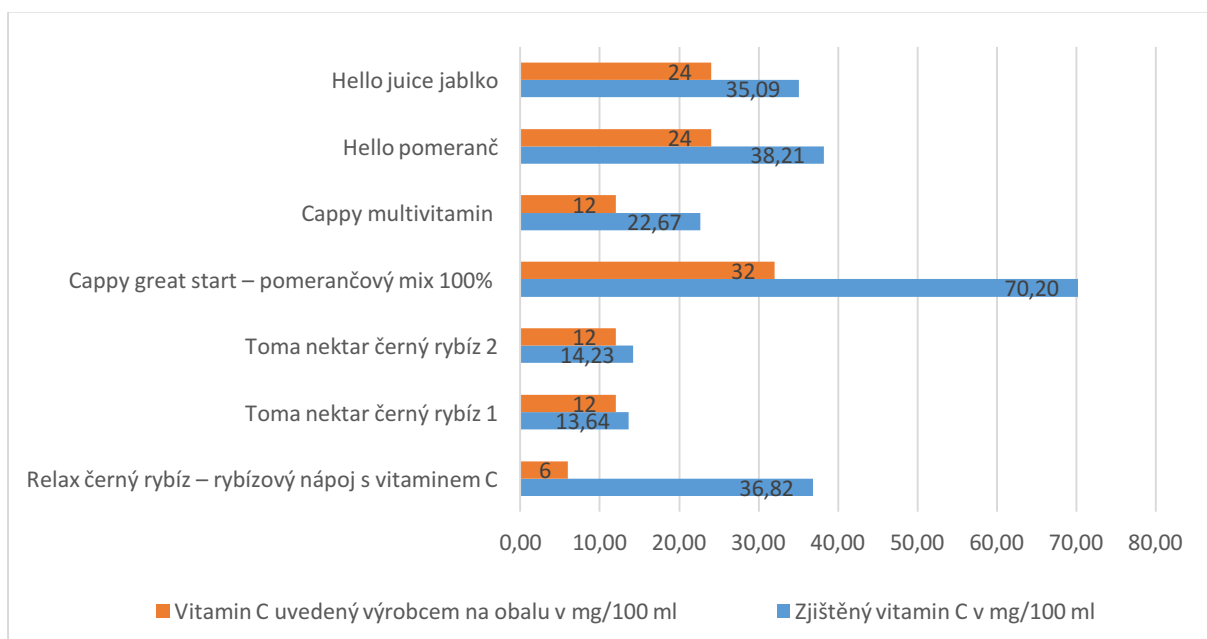
Tabulka 9 shrnuje třetí měření askorbové kyseliny v ovocných pyré. K měření byly opět použity stejné vzorky jako u prvního a druhého měření. Vitamin C byl stanoven u všech vzorků.

Tabulka č. 10 Naměřené hodnoty askorbové kyseliny ve vzorcích pyré

Vzorek	Vitamin C		
	mg/100 g	Průměr mg/100 g	Směr. odchylka
Pyré s černým rybízem 1	3,75 3,42	3,59	0,17
Pyré s černým rybízem 2	3,71 3,45	3,58	0,13
Pyré s rakytníkem	7,37	7,37	*
Pyré s jablkem	4,05	4,05	*

\* Směrodatná odchylka nelze určit u 1 měření

Graf č. 4 Porovnání vitamínu C s údajem uvedeným na obale a s analýzou



### 5.3 Statistické vyhodnocení

Následující statistické vyhodnocení probíhalo ve volně dostupném softwaru R. Zkoumané hypotézy a statistické závěry jsou na hladině chyby prvního druhu 5 %, jak bývá standardem.

Jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) potřebujeme otestovat, zda se v průměru liší obsah vitamínu C v jednotlivých skupinách šťáv podle příchutí. První skupina jsou šťávy z černého rybízu, druhá skupina jsou šťávy z citrusových plodů, v třetí skupině jsou šťávy s obsahem jablka, rakytníku či jahody a ve čtvrté skupině jsou pyré.

Jelikož v některých šťávách je úmyslně přidán vitamín C a toto přidané množství je uvedeno na obale, nejprve se před testováním udělala korekce dat – byly odečty hodnoty přidaného vitamínu C, aby mohly být šťávy spravedlivě srovnávány. Tabulka č. 11 uvádí srovnání průměrů obsahu vitamínu C v jednotlivých skupinách šťáv a pyré po odečtení přidaného vitamínu C.

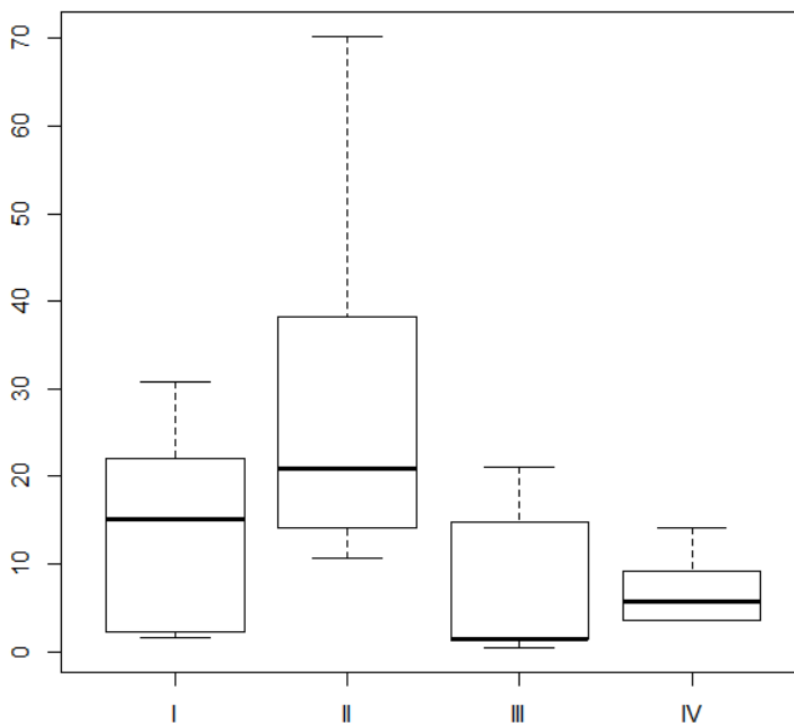
Tabulka č. 11 Průměr vitamínu C ve skupinách šťáv a pyré

Skupina	Průměr vitamínu C v mg/100 ml
Šťávy z černého rybízu	14,36
Šťávy z citrusových plodů	29,16
Šťávy z jablek, rakytníku a jahoda	7,92
Pyré	6,96

Obrázek č. 13 uvádí vykreslení hodnot vitamínu C pro jednotlivé skupiny podle boxplotů, díky nimž jsou viditelné rozdíly, které se mohou statisticky detekovat.

Obrázek 13 Boxplot koncentrace vitamínu C pro skupiny I, II, III, IV

**Boxplot koncentrace vitamínu C pro skupiny I, II, III, IV**



Pro použití metody ANOVA je potřeba, aby byly splněny následující předpoklady:

- Pozorování jsou nezávislá a získaná náhodně v každé skupině.
- Data v každé skupině jsou normálně rozdělená.

- Data v každé skupině mají stejný rozptyl (příčemž průměr pro každou skupinu může být odlišný).

První předpoklad je automaticky splněn. Srovnání rozptylů pro jednotlivé skupiny je uvedeno v Tabulce č. 12. Tabulka ukazuje, jak se mezi sebou rozptyly liší.

Tabulka č. 12 Srovnání rozptylů u jednotlivých skupin

Skupina	Rozptyly
Šťávy z černého rybízu	159,84
Šťávy z citrusových plodů	497,81
Šťávy z jablek, rakytníku a jahoda	80
Pyré	17,27

Vyhodnocení však nemůže být relevantní, protože je k dispozici velmi malé množství pozorování pro každý soubor. Při velkém počtu pozorování bývá normalita zaručená. Pro ověření normality dat v jednotlivých skupinách byl použit Shapiro - Wilkinsonův test, který je založen na šikmosti a špičatosti rozdělení. Do Tabulky š. 13 byly srovnány výsledky testových statistik Shapiro – Wilkinsového testu a příslušných hodnot p, pro každou skupinu. Nulová hypotéza tohoto testu je, že platí normalita, alternativní je, že neplatí normalita dat.

Tabulka č. 13 Výsledky Shapiro – Wilkinsového testu

Skupina	W statistika	p-hodnota
Šťávy z černého rybízu	0,91	0,49
Šťávy z citrusových plodů	0,83	0,12
Šťávy z jablek, rakytníku a jahoda	0,79	0,03
Pyré	0,85	0,16

Test ukázal, že třetí skupina je v p-hodnotě menší než 0,05, tudíž byla zamítnuta nulová hypotéza normality. Tedy nelze považovat skupinu ovocných šťáv s jablky, jahodami a rakytníkem za normálně rozdělenou.

Proto není vhodné v tomto případě použít ANOVU, jelikož nejsou splněny předpoklady normality a rozptylu. Vhodné je použít neparametrickou obdobu ANOVY – Kruskal Wallisův test.

Nulová hypotéza Kruskal Wallisova testu je, že průměr vitamínu C pro všechny 4 skupiny je stejný, přičemž alternativní hypotéza je, že existuje rozdíl mezi jednotlivými skupinami (Tabulka č. 14).

Tabulka č. 14 Kruskal – Wallisův test

Kruskal - Wallis test	p-hodnota
7,75	0,052

Dále se ověří, zdali jsou nějaké rozdíly mezi jednotlivými dvojicemi skupin – provede se mnohonásobné porovnávání. Jelikož se nemohla použít klasická ANOVA pro nesplnění předpokladů, praktikuje se použití Wilcoxonova testu. Nulová hypotéza je, že průměry jednotlivých dvojic skupin vitamínu C jsou stejné, naproti tomu je alternativní hypotéza, že tomu tak není. Výstup ze softwaru R je uveden v Tabulce č. 15.

Tabulka č. 15 P-hodnoty Wilcoxonova testu

	Šťávy z černého rybízu	Šťávy z citrusových plodů	Šťávy z jablek, rakytníku a jahoda
Šťávy z citrusových plodů	1,00	-	-
Šťávy z jablek, rakytníku a jahoda	0,89	0,31	-
Pyré	1,00	0,03	1,00



Jelikož je pro skupinu citrusových plodů dostatek pozorování a předpoklad normality nebyl zamítnut, může být tak srovnáno tvrzení s literaturou (Pisoschi et al., 2008), kde se uvádí, že v citrusových šťávách je koncentrace vitamínu C 14,94 mg/100 ml nebo 21,12 mg/100 ml, záleží na konkrétní šťávě, v které bylo množství analyzováno. Jednovýběrovým t testem se může srovnat, jestli výsledky vlastní práce souhlasí s hodnotami uváděné od Pisoschi et al. (2008).

Testovány byly obě hodnoty uváděné v literatuře od Pisoschi et al. (2008):

První t test (Tabulka č. 16):

- Nulová hypotéza t testu: průměr má být roven 14,96 mg/100 ml
- Alternativní hypotéza: průměr se liší od 14,96 mg/100 ml.

Tabulka č. 16 První t test

t statistika	p-hodnota	průměr vitamínu C ve skupině citrusových plodů v mg/100 ml
1,56	0,18	29,16

Druhý t test (Tabulka č. 17):

- Nulová hypotéza t testu: průměr má být roven 21,12 mg/100 ml
- Alternativní hypotéza: průměr se liší od 21,12 mg/100 ml.

Tabulka č. 17 Druhý t test

t statistika	p-hodnota	průměr vitamínu C ve skupině citrusových plodů v mg/100 ml
0,88	0,42	29,16

## Diskuze

Práce se zaměřuje na obsah vitamínu C v ovocných šťávách a pyré. Prvotním záměrem bylo zjistit koncentraci vitamínu C ve vybraných šťávách od výrobce Vitaminátor. Analyzovány byly 100% jablečné šťávy a 100% jablečné šťávy v kombinaci se čtyřmi druhy ovoce – hruška, červený rybíz, černý rybíz, rakytník, atd. Sledované šťávy měly být porovnávány, zdali se obsah askorbové kyseliny mění v závislosti na měsíci, kdy byla šťáva vyrobena a na době uskladnění. Analýzy byly provedeny dvě s výše uvedenými 100% ovocnými šťávami, ale nalezený vitamin C byl však pod mezí detekce. Mez detekce byla stanovena na 0,5 mg.l<sup>-1</sup>. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k rozšíření analýzy o další šťávy od různých výrobců, které lze zakoupit v obchodních řetězcích. Původní vzorek šťáv, který byl zaměřen na jablečné šťávy, byl rozšířen na šťávy, které byly vyrobeny z černého rybízu, pomerančů a rakytníku. U těchto šťáv se očekával vyšší výskyt vitamínu C. Jablečné šťávy od jiných výrobců byly též analyzovány.

Ze vzorků šťáv černého rybízu bylo nejvyšší množství askorbové kyseliny zjištěno ve šťávě Relax černý rybíz – rybízový nápoj s vitamínem C, který byl obohacen o vitamin C. Výrobce uvedl na obalu množství 6 mg/100 ml vitamínu C, stanovený obsah byl 36,8 ± 0,18 mg/100 ml. Podle Elliotta (1939) obsah vitamínu C ve šťávě čerstvě vymačkané z černého rybízu je 77 mg/100 ml. Vyšší obsah vitamínu C udávaný Elliotem může být dán čerstvostí ovoce. Důvodem může být také skutečnost, že šťáva neprošla procesem pasterace. Analyzované šťávy z černého rybízu byly pasterovány, nicméně i tak se v nich vitamin C vyskytoval v rozmezí od 13,6 – 36,8 mg/100 ml.

Analýza potvrdila, že ovocné šťávy, ve kterých byl vitamin C záměrně přidán a uvedený na etiketě obalu, obsahují uvedené množství. Měření bylo provedeno ve dvou vzorcích Toma černý rybíz o různých šaržích a dobou trvanlivosti. Ve vzorku číslo 1 bylo naměřeno 13,64 mg/100 ml a ve vzorku číslo 2 14,23 mg/100 ml. Zjištěné množství vitamínu C o 1,5 - 2,2 mg/100 ml vyšší než jaké bylo uvedené na obalu u tohoto vzorku a to 12 mg/100 ml. Vyšší obsah vitamínu C a to 15,08 mg/100 ml byl zjištěn u vzorku Granini černý rybíz, ačkoliv nebyl na obalu nápoje uveden. Více vitamínu C než bylo uvedeno na etiketě, obsahoval vzorek s nejvyšším zjištěným množstvím vitamínu C - Relax černý rybíz. Celkem o 30,8 mg/100 ml bylo vitamínu C více než jaké bylo uvedeno na etiketě, na které se deklarovalo 6 mg/100 ml. Tento výrobek měl celkově o 514 % vitamínu C více než bylo uvedeno na obale. Výsledky se shodovaly i u druhého měření, které bylo zaměřeno spíše na šťávy z citrusových plodů.

Všechny šťávy, ve kterých byl vitamin C uveden na obale obsahovaly dané množství vitaminu C a naopak jej převyšovaly skoro až dvojnásobně. Nejvíce vitaminu C obsahovala šťáva Cappy great start – pomerančový mix 100% s obsahem  $70,2 \pm 0,13$  mg/100 ml vitaminu C. Dále následovala šťáva Rauch – Happy day 100% pomerančová šťáva s obsahem  $55,9 \pm 0,31$  mg/100 ml, Hello pomeranč s obsahem  $38,2 \pm 1,95$  mg/100 ml a Cappy multivitamin se stanoveným obsahem  $22,67 \pm 0,06$  mg/100 ml. Na etiketě šťáv Cappy great start – pomerančový mix 100% a Rauch – Happy day 100% pomerančová šťáva byl uveden obsah vitaminu C 32 mg/100 ml. Hello pomeranč měl obsahovat 24 mg/100 ml a Cappy multivitamin 12 mg/100 ml. Jablečná šťáva Hello obsahovala vitaminu C  $35,09 \pm 0,22$  mg/100 ml. Jednalo se o jedinou jablečnou šťávu, ve které bylo zjištěno vyšší množství. Důvodem byl opět přidaný vitamin C a to 24 mg/100 ml. Nejvíce přidaného vitaminu C bylo v Cappy great start a to o celých 118 %.

Ostatní vzorky neměli uvedený obsah vitaminu C na obalu, nicméně zjištěný obsah askorbové kyseliny není zanedbatelný. Pure 100% juice orange obsahoval 17,75 mg/100 ml a Pfanner jahoda 18,58 mg/100 ml askorbové kyseliny.

Nejvíce vitaminu C obsahují pomerančové a černorybízové šťávy, naopak nejméně vitaminu C obsahují jablečné šťávy. Z výsledných koncentrací askorbové kyseliny u 100% jablečných šťáv nebo s přidavkem jiného druhu ovoce bylo zjištěno, že vitamin C se v jablečných šťávách vyskytuje minimálně nebo pod mezí detekce. Podle tvrzení Gardner et kol. (2000) obsahuje jablečná šťáva 3,9 mg/100 ml vitaminu C a podle Chen X et Sato M. (1995) uvedli obsah vitaminu C v jablečných šťávách 5,94 mg/100 ml. Dle Kopeckého (1998) jablka obsahují 4,8 mg/100 g vitaminu C. Lze tedy předpokládat, že studie výše uvedené, byly provedeny z čerstvě vymačkaných šťáv z jablek, jelikož jejich zjištěné výsledky o obsahu askorbové kyseliny se podobají hodnotě vitaminu C, který se vyskytuje v jablkách dle Kopeckého (1998).

Výsledky analýzy ukazují, že obsah vitaminu C v jablečných šťávách nemůže být detekován nebo se pohybuje v rozmezí 0,49 – 1,41 mg/100 ml. V tomto rozmezí se pohybují i UGO 100% ovocné šťávy, které nebyly ošetřeny procesem pasterace, ale paskalizace. Tento proces by měl být šetrnější k uchování vitaminů a dalších nutričních látek (Houška). Přesto však analýza ukázala, že je obsah vitaminu C zanedbatelný v jablečných šťávách i za použití procesu paskalizace. Na etiketě UGO šťávy byla uvedena hodnota, z které mohlo být vypočítáno, že je potřeba 100 g jablek na výrobu 83 ml jablečné šťávy. Zjištěný obsah vitaminu C je tedy ve srovnání s Gardner et kol. (2000) a Chen X et Sato M. (1995) velmi nízký.

Významný obsah vitamínu C byl zjištěn u 100% rakytníkové šťávy a to  $21,1 \pm 0,21$  mg/100 ml. Šťáva byla zpracována pasterací a je dostupná na e-shopu firmy Vitaminator. Rakytník řešetlákový patří k druhům ovoce, kde je vitamin C obsažen ve vysokém množství. Kopecký (1998) uvádí hodnotu 153 mg/100 g vitamínu C v bobulích rakytníku řešetlákovém. Hájková et Beňová (2012) stanovily obsah vitamínu C v rakytníkové šťávě na 44 mg.l<sup>-1</sup>, v rakytníkových sirupech hodnoty byly 120 mg.l<sup>-1</sup> a 60 mg.l<sup>-1</sup>. Rozdílný výsledek může být dán rozdílnou kvalitou produktu a pasterací.

Analýza zaměřená na obsah askorbové kyseliny ve šťávách jiných než jablečných, ukázala, že šťávy, které neobsahovaly záměrně přidané množství vitamínu C, obsahují mnohonásobně vyšší koncentraci vitamínu C než jablečné šťávy. Týkalo se to šťávy Pure 100% juice orange, která obsahovala  $17,75 \pm 0,41$  mg/100 ml, Pfanner jahoda  $18,58 \pm 0,72$  mg/100 ml askorbové kyseliny a Granini černý rybíz. Pisoschi et kol. (2008) stanovili obsah vitamínu C také v běžně dostupných pomerančových šťávách s výsledkem: čerstvě vymačkaná šťáva z pomerančů obsahovala 30,48 mg/100 ml, Prigat orange 14,96 mg/100 ml, Fruttia orange 21,12 mg/100 ml askorbové kyseliny. K výsledkům Pisoschiho et kol. (2008) je nejvíce podobná šťáva Pure 100% juice orange.

V analýze pyré bylo zjištěno, že nejvyšší obsah vitamínu C se vyskytuje v Pyré s černým rybízem, poté následuje Pyré s rakytníkem a nakonec Pyré s jablkem. Je však nutné říci, že u prvního a druhého měření byl vitamin C u všech druhů pyré pod mezí detekce, u třetího měření jen Pyré s rakytníkem a jablkem bylo pod mezí detekce a nejlépe mohla být vyhodnocena čtvrtá analýza.

Obsah vitamínu C v Pyré s černým rybízem se ve třetí analýze pohyboval v rozmezí 9 – 14 mg/100 g. Čtvrtá analýza však toto množství nepotvrdila, naopak koncentrace askorbové kyseliny byla v množství 3,58 mg/100 g. Rozdíl může být způsoben dobou uskladnění. V Pyré s černým rybízem, ve kterém byly zjištěny vyšší hodnoty než ve druhé analýze, bylo analyzováno v létě, kdy bylo pyré vyrobeno. Naopak poslední analýza proběhla v zimním období, kdy se jednalo o stejnou výrobu jako v létě.

Doporučená denní dávka vitamínu C je 100 mg.den<sup>-1</sup>. Takové množství by bylo splněno např. po vypití 300 ml výrobku Hello jablko, 150 ml Cappy great start nebo 200 ml Rauch pomerančové šťávy. Jedná se však o šťávy, do kterých byla askorbová kyselina záměrně přidána. U šťáv, ve kterých vitamin C není přidán, by člověk musel vypít minimálně 0,5 l, aby přijmul doporučené denní množství vitamínu C. Jelikož jsou ovocné šťávy spíše zásobárnou

jednoduchých sacharidů a z důvodu častějšího výskytu nadváhy a obezity v populaci je vhodnější ovocné šťávy konzumovat jen příležitostně. Z nutričního hlediska je však výhodnější, vybírat si šťávy s přidaným vitamínem C. Vhodnější je denní konzumace čerstvého ovoce a zeleniny, tak aby vitamin C byl pravidelně přijímán stravou.

Ke statistickému vyhodnocení byla použita jednofaktorová analýza ANOVA, která však k výsledkům měření nebyla vhodně zvolená metoda, proto se použila neparametrická anova – Kruskal Wallisův test a Wilcoxonův test.

Kruskal Wallisův test vyhodnotil, že P-hodnota je větší než 0,05, tedy nelze zamítnout nulovou hypotézu, že by průměry vitamínu C pro jednotlivé skupiny byly stejné, tzn. statisticky není zřejmá odlišnost, i když Boxplot naznačoval větší obsah vitamínu C u skupiny citrusových plodů. Stále se ale pracuje s hladinou chyby prvního druhu testování hypotéz 5 %. Kdyby se pracovalo s 10% hladinou, tak by hypotéza, že jsou stejné průměry pro všechny skupiny, byla zamítnuta. Další skutečností je, že se pracuje s daty, ze kterých bylo odečteno umělé přidání vitamínu C do šťáv, což je také náročné určit, jaká hodnota měla být ve skutečnosti odečtena, jelikož výrobce může přidávat do šťáv mnohem větší množství vitamínu C, než jaké je uvedené na obalu.

Tabulka č. 15 zpracovaná Wilcoxonovým testem ukázala, že jediná hodnota menší než 0,05 je v případě porovnání skupin 2 a 4, což znamená, že pouze mezi šťávami z citrusových plodů a pyré je průkazný rozdíl v obsahu vitamínu C. Statistickým testováním jsou pouze tyto dvě skupiny průkazně odlišné.

Pomocí jednovýběrového t testu bylo statisticky vyhodnoceno, zdali se výsledky o obsahu vitamínu C u citrusových šťáv liší ve srovnání s uváděnou literaturou. P-hodnota byla větší než 0,05, proto nebyla zamítnuta nulová hypotéza, že by se průměr významně lišil od obou zkoumaných hodnot, tzn. výsledky vlastní analýzy nejsou v rozporu s výsledky od Pisoschi et al. (2008).

## 6 Závěr

Bylo potvrzeno, že obsah vitamínu C v ovocných šťávách se liší a rozdílný obsah je dán druhem ovoce. Jablečné šťávy obsahují méně vitamínu C než šťávy z černého rybízu, citrusových plodů anebo také šťávy z rakytníku a jahod. Hypotéza, zdali vitamín C uvedený výrobcem na obalu ovocné šťávy odpovídá skutečnému množství vitamínu C ve šťávě byla také potvrzena. Vyskytuje se v nich nejenom uvedené množství, ale výskyt vitamínu C je v nich mnohem vyšší. Byla potvrzena hypotéza, že je rozdíl mezi ovocnými druhy pyré a jejich výskytem vitamínu C.

## Seznam použité literatury

Barth, S.W., Fähndrich, C., Bub, A., Dietrich, H., Watzl, B., Will, F., Briviba, K., Rechkemmer, G. Cloudy apple juice decreases DNA damage, hyperproliferation and aberrant crypt foci development in the distal colon of DMH-initiated rats, *Carcinogenesis*, 26, 8 (1). 2005, 1414–1421 [cit. 2018-03-29]. Dostupné z <<https://doi.org/10.1093/carcin/bgi082>>.

Buchtová, I. Situační a výhledová zpráva ovoce.: Odbor rostlinných komodit MZe Praha [online]. 2017 [cit.2018-03-28]. Dostupné z:  
<[http://eagri.cz/public/web/file/569075/SVZ\\_Ovoce\\_12\\_2017.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/569075/SVZ_Ovoce_12_2017.pdf)>.

Carr, C., Anitra a Margreet C. M. Vissers. Synthetic or Food-Derived Vitamin C—Are They Equally Bioavailable? [online]. 2013 [cit. 2018-03-29]. Dostupné z  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3847730/>>.

ČSN EN 14130. Potraviny - Stanovení vitamínu C metodou HPLC. 2004. Český normalizační institut. Praha.

Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids: a report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 2000. Washington, D.C.: National Academy Press, p 95-100 ISBN: 0309069351.

Dlouhá, J., Valíček, P., Richter, M. 1997. Ovoce. Krystal (Aventinum). Praha, 64 – 70 s. ISBN: 8071517682.

Dostálová, J., Kadlec, P. 2014. Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin. Key Publishing, Monografie (Key Publishing). Ostrava. 293-300 s. ISBN: 9788074182082.

Dostálová, J. 2008. Co se děje s potravinami při přípravě pokrmů. Stručné informace pro pacienty. Forsapí. Praha. 37 s. ISBN: 9788090382084.

Eccleston, C., Baoru, Y., Tahvonen, R., Kallio, H., Rimbach, G. H., Minihane, A. M. 2002. Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. *J Nutr Biochem*. 13. 346–354

Eitenmiller, R., Ye, L., Landen, W.O. 2008. Vitamin analysis for the health and food sciences. CRC Press, p. 231 - 274. ISBN: 0849397715.

Elliott, W. H. A. Vitamin C in Black-currant Juice. British Medical Journal, 1939; 2(4111), 830–831. [cit. 2018-04-4]. Dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2178115/?page=1>>.

Gardner PT, White TAC, McPhail DB, Duthie GG. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry. 68. 471–474

Grahovac, Z. M., Mitic, S. S. Pecev, T. G., Pecev, E. T., Pavlovi, A. N. 2008. Kinetic spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical samples by oxidation of Ponceau 4R by hydrogen peroxide. Journal of the chinese chemical society. p 137 - 142, ISSN: 000904536

Hájková, K., Beňová, B. 2012. Analýza významných bioaktivních látek v rakytníku technikou HPLC – coularray. Chemické listy. 106. 28 – 31.

Hájková, J., Rumíšková M., Rieglová, J. 2001. Analýza potravin. 2. vyd. Újezd u Brna: RNDr. 73 s. ISBN 8086494020.

Hlúbik, P., Opltová, L. 2004. Vitaminy. Grada. Praha. 139 – 149 s. ISBN: 8024703734.

Houška, M. Paskalizace. Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i. [cit. 2018-04-7]. Dostupné z <<http://www.paskalizace.cz>>.

Chen X, Sato M. High-performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid in soft drinks and apple juice using tris (2,2'-bipyridide) ruthenium (II) electrochemiluminescence. Analytical Sciences. 1995; 11 [cit. 2018-03-30]. Dostupné z <[http://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci1985/11/5/11\\_5\\_749/\\_pdf](http://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci1985/11/5/11_5_749/_pdf)>.

Klouda, P. 2003. Moderní analytické metody. Ostrava. Pavel Klouda. p. 25-27. ISBN: 8086369072.

Komprda, T. 2003. Základy výživy člověka. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, p. 113 - 125. ISBN: 9788071576556.



- Kopec, K. 1990. Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998. 49-59 s. ISBN: 8086153649.
- Knobloch, E. 1956. Fyzikálně chemické metody stanovení vitaminů. Nakladatelství Československé Akademie věd. Praha. 304 – 331 s.
- Kudlová, E. 2009. Hygiena výživy a nutriční epidemiologie. Karolinum. Praha. p 59. ISBN: 9788024617350.
- Markowski, Jarosław & BARON, A & Mieszczakowska-Frać, Monika. 2009. Chemical composition of French and Polish cloud apple juices. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*.52(6)[cit.2018-03-30]. Dostupné z <[http://www.researchgate.net/publication/242257455\\_Chemical\\_composition\\_of\\_French\\_and\\_Polish\\_cloud\\_apple\\_juices](http://www.researchgate.net/publication/242257455_Chemical_composition_of_French_and_Polish_cloud_apple_juices)>.
- Nováková, L., Douša M. 2013. Moderní HPLC separace v teorii a praxi II. Praha. 20 – 40 s. ISBN: 9788026042440.
- Pisoschi, A. M., Danet, A. F., & Kalinowski, S. 2008. Ascorbic Acid Determination in Commercial Fruit Juice Samples by Cyclic Voltammetry. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry*. 937651
- Referenční hodnoty pro příjem živin. 2011. Společnost pro výživu o.s. (SPV). Výživaservis s.r.o. 100 – 113s. ISBN: 9788025469873
- Shuguang L. Determination of Water – soluble Vitamins Using Reverse Phase C18 Strategies. 2011. Phenomenex. [cit. 2018-04-7]. Dostupné z <[www.phenomenex.com](http://www.phenomenex.com)>.
- Straten Van M., Josling P., Hons B. Sc.. Preventing the Common Cold With a Vitamin C Supplement: A Double-Blind, Placebo- Controlled Survey. *Advances in Therapy* 2002, 19, 151 – 159 [cit. 2018-04-4]. Dostupné z <<https://pdfs.semanticscholar.org/c20b/630778eb451f6c0fe09cecc0481196c49977.pdf>>
- Svačina, Š. 2008. Klinická dietologie. Grada Publishing, a.s. Praha. 36 s. ISBN: 9788024722566.
- Šapiro, D. K. 1988. Ovoce a zelenina ve výživě člověka. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 19 – 63 s. ISBN: 5786004317.

Šnurkovič, P., Sochorcová, N. 2017. Analytické hodnocení odrůdových šťáv z jablek. Výživa a potraviny. (5), 118-119 s.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. OSSIS. Tábor. 429-444 s. ISBN: 9788086659152.

Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2004, 2nd ed. Rome: FAO. p. 130 – 139 ISBN: 9241546123.

Vitaminátor. 2016. [cit. 2018-4-3]. Dostupné z < <https://www.vitaminator.cz> >

Všolková, G. Rakytník řešetlákový [online]. Rozhlas. 4. září 2003 [cit. 2018-4-3]. Dostupné z <[http://www.rozhlas.cz/ostrava/lekarna/\\_zprava/rakytnik-resetlakovy--86109](http://www.rozhlas.cz/ostrava/lekarna/_zprava/rakytnik-resetlakovy--86109)>.

Žamboch, J. 1996. Vitamíny. Grada. Praha. 59 -72 s. ISBN: 8071693227.