

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2019

Ha Thuy Cao



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA BRUSINKOVÉ ŠŤÁVY

BASIC CHEMICAL CHARACTERISTICS OF CRANBERRY JUICE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ha Thuy Cao

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1303/2017 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Ha Thuy Cao**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Základní chemická charakteristika brusinkové šťávy

Zadání bakalářské práce:

Literární část:

- 1) Stručný botanický popis brusnice brusinky (*Vaccinium vitis-idaea* L.)
- 2) Účinné látky obsažené v plodech brusnice
- 3) Využití plodů pro potravinářské účely
- 4) Metody stanovení fenolických látek

Experimentální část:

- 1) Stanovení základních chemických parametrů brusinkové šťávy
- 2) Zpracování a vyhodnocení získaných dat
- 3) Diskuse získaných výsledků

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Ha Thuy Cao
student(ka)

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Bakalářská práce pojednává o brusinkách (*Vaccinium vitis-idaea*, L.) a klikvách. Konkrétně se zabývá jejich plody – bobulemi, které byly využity na vybraná chemická stanovení. Konkrétně bylo zkoumáno 6 kultivarů brusinky a 3 kultivary klikvy. Ve spolupráci naší fakulty s Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousích, s. r. o., bylo dodáno 6 poddruhů brusnice brusinky a 3 poddruhy klikvy.

Bakalářská práce obsahuje teoretickou část, kde se nachází botanické zařazení brusinky a klikvy a také popis jejich vzhledu. Obecný popis charakteristických látek, které obsahují. Zejména jsou to vitamíny, přírodní barviva a antioxidační vlastnosti. Je zde uveden stručný výčet zpracování těchto bobulí nejen v potravinářském průmyslu. Dále obecné charakteristiky použitých metod pro analýzu a výpočty pro experimentální část.

Experimentální část je založena na konkrétních analýzách, jsou zde uvedeny postupy, výpočty, použité chemikálie a laboratorní vybavení na jednoduchý chemický rozbor šťáv z těchto bobulí. Stanovuje se tedy výtěžnost surové šťávy, která se pro brusinku pohybuje mezi 50–60 %, s výjimkou Runo bielawskie, který má 31,49 %, pro klikvu se hodnoty pohybují mezi 37–43 %. Obsah celkové sušiny sušením je pro brusinku vyšší než pro klikvu. Konkrétně brusinka má sušinu mezi 14,00–15,97 % a klikva mezi 11,14–3,11 %. Obsah cukerné sušiny, respektive index lomu, odečtená z refraktometru je pro brusinku mezi 11,58–16,08 % a pro klikvu mezi 10,00–11,17 %. Metodou podle Bertranda se určil obsah redukujících cukrů, kdy více cukrů bylo v brusince (8,81–12,92 %) a méně v klikvě (7,90–9,03 %) vztažená na původní navážku bobulek. Za pomoci pH-metru se určila hodnota pH, které se pohybovala kolem hodnoty 3, konkrétně brusinka 2,84–3,16 a klikva 2,91–2,95. Zároveň se vypočítala titrační kyselost, která vyšla pro brusinku v rozmezí 3,20–5,00 mmol.l⁻¹ a pro klikvu byl hodnota vyšší mezi 5,54–6,07 mmol.l⁻¹. Spektrofotometricky se stanovilo více fenolických látek v brusince (2187,11–3476,75 mg.l⁻¹) a anthokyanů je nejvíce v klikvě (54,91–65,29 mg.l⁻¹).

Naměřené a vypočítané výsledky jsou vyneseny do grafů. Nakonec je srovnání a pojednání o závěrech jednotlivých metod.

KLÍČOVÁ SLOVA

Brusinka, klikva, šťáva, výtěžnost, sušina, redukující cukry, metoda podle Bertranda, fenolické látky, anthokyany, pH, titrační kyselost, pH diferenciální metoda.

ABSTRACT

This bachelor thesis is about lingonberries and cranberries. It is mainly about berries which were used for chemical analysis. The berries are from the Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd. and they have delivered six cultivars of lingonberries and three cultivars of cranberries.

There is a research of general information about classification, botanical description, important chemical substances such as vitamins, natural colorants and products made in the industry. Furthermore there is description of chemical methods for basic analysis.

The next part of bachelor thesis is about how all these methods were applied to berry juice. What instruments and chemicals were used. First assessment was profit of juice which was about 50,00–60,00 %, but lingonberry Runo bielawskie has at least 31,49 % and cranberries have less profit too. Total solids were determined in the range of 11,40 % (Pilgrim) to 18,50 % (Runo bielawskie) and soluble solids are in range of 10,00 % (Pilgrim) to 16,08 % (Korál). Lingonberry contains more reducing sugars (8,81–12,92 %) than cranberry (7,90–9,03 %). Titratable acids are about 3,20–5,00 mmol.l⁻¹ for lingonberry and about 5,54–6,07 mmol.l⁻¹ for cranberry. The measurements show that pH of both berries are about 3. The most phenolic substances are found in range of 2187,11–3476,75 mg.l⁻¹. Berries content anthocyanins colorants in range of 54,91–65,29 mg.l⁻¹ and the most in cranberry.

All results are shown in charts and in the end there is a discussion and conclusion about methods and results.

KEY WORDS

Lingonberry, cranberry, juice, profit, total solids, soluble solids, reducing sugars, phenolic substances, pH, titratable acidity, anthocyanins.

CAO, Ha Thuy. *Základní chemická charakteristika brusinkové šťávy*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/103648>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

OBSAH

1	Úvod.....	3
2	Teoretická část	4
2.1	Čeleď vřesovcovité	4
2.1.1	Popis brusinky	5
2.1.2	Popis klikvy.....	8
2.1.3	Sklizeň americké brusinky	10
2.2	Účinné látky.....	11
2.2.1	Antioxidanty rostlinného původu.....	12
2.2.2	Vitamíny.....	13
2.2.3	Přírodní barviva.....	13
2.2.4	Minerální látky	15
2.2.5	Nutriční hodnoty	15
2.3	Využití klikvy a brusinky a výrobky z nich	17
2.4	Stanovení fenolických látek.....	19
2.5	Stanovení anthokyanových barviva	20
2.6	Další metody stanovení vybraných chemických parametrů šťávy	21
2.6.1	Stanovení výtěžnosti šťávy	21
2.6.2	Stanovení celkové sušiny	21
2.6.3	Refraktometrické stanovení cukerné sušiny.....	21
2.6.4	Stanovení pH.....	22
2.6.5	Stanovení titrační kyselosti.	23
2.6.6	Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda	23
3	Praktická část	25
3.1	Analyzované vzorky	25
3.2	Laboratorní vybavení.....	26
3.3	Příprava roztoků a vzorků.....	27
3.3.1	Příprava roztoků	27
3.3.2	Příprava vzorků	29
3.4	Postupy stanovení	29
3.4.1	Stanovení výtěžnosti šťávy	29
3.4.2	Stanovení sušiny sušením.....	29
3.4.3	Stanovení cukerné sušiny refraktometricky	30
3.4.4	Měření pH šťávy z bobulí, stanovení titrační kyselosti.....	30

3.4.5	Stanovení celkového obsahu fenolických látek	31
3.4.6	Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda	32
3.4.7	Stanovení anthokyanů pH-diferenciální metodou	32
3.5	Statistické vyhodnocení výsledků	33
4	Výsledky a diskuze	34
4.1	Stanovení výtěžnosti šťávy	34
4.2	Stanovení sušiny sušením	36
4.3	Stanovení cukerné sušiny refraktometricky	37
4.4	Měření pH	39
4.5	Stanovení titrační kyselosti	42
4.6	Stanovení celkových fenolických látek	44
4.7	Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda	46
4.8	Stanovení anthokyanů spektrofotometricky	49
5	Závěr	51
6	Použité zdroje	52
7	Přílohy	55

1 ÚVOD

Už staří Řekové znali plody brusinky (*Vaccinium vitis*), protože se o nich zmiňuje již Plinius Starší. Brusnice brusinka se vyskytuje v Evropě v severních částech až po Asii i Japonska a po Severní Ameriku. Dokonce ji lze nalézt i za polárním kruhem.

Brusinka je lehce zaměnitelná s klikvou, rostlinou z čeledi vřesovcovitých, rodu *Oxycoccus*. Rod klikva je řazena k rodu brusnice a jeho nejznámějšími zástupci jsou klikva bahenní (*Vaccinium oxycoccos* L.) nebo klikva velkoplodá (*Vaccinium macrocarpon*). Brusinka a klikva se liší hlavně svými plody a jejich sensorickými vlastnostmi. Brusinka je má menší a kulatější, oproti ní klikva má oválnější a tmavší plody. Chuťově jsou brusinky kyselejší než klikvy. Uvádí se, že brusinky mají kysele nahořklou chuť a některé odrůdy mohou být aromatické.

V současné době jsou vyzdvihovány jejich příznivé léčivé účinky, zejména na nemoci močových cest. Podle moderních výzkumů mají tyto plody antibakteriální schopnost díky proanthokyanidinům, které jsou v nich obsaženy. A tyto fenolické sloučeniny jsou také velmi dobrými antioxidanty.

Klikvy i brusinky se sbírají ve volné přírodě, ale mnohem efektivnější je jejich řízené pěstování na polích. Klikvy velkoplodé (*Vaccinium macrocarpon*), se úspěšně pěstují například na plantážích v New Jersey v USA. V České republice je možno koupit několik odrůd brusnice brusinky speciálně šlechtěných pro pěstování v klimatických podmínkách střední Evropy.

Tato bakalářská práce se zaměřuje právě na odrůdy brusnice brusinky a klikvy, které jsou vhodné pro malopěstitele v regionu střední Evropy. Tyto odrůdy byly pěstovány Výzkumným ústavem šlechtitelským a ovocnářským v Holovousích a jejich plody poskytl tento ústav pro účely bakalářské práce. Náplní práce bylo stanovit některé základní charakteristiky plodů vybraných odrůd.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Čeleď vřesovcovité

Tabulka 1 Vědecké zařazení čeledi [1]

Říše	Rostliny	<i>Plantae</i>
Podříše	Cévnaté rostliny	<i>Tracheobionata</i>
Oddělení	Krytosemenné rostliny	<i>Magnoliophyta</i>
Třída	Vyšší dvouděložné	<i>Rosopsida</i>
Řád	Vřesovcotvaré	<i>Ericales</i>
Čeleď	Vřesovcovité	<i>Ericaceae</i>

Tato čeleď je velmi různorodá, zahrnuje keře, polokeře, byliny i liány. K nejnámějším rostlinám patří rod brusnice a konkrétně vlochyně bahenní, borůvka, brusinka a klikva [1].

Listy

Listy mohou být jednoduché s primitivním cévkováním, střídavé, vstřícné nebo přeslenité, u některých rostlin mohou srůstat. Okraje mají celokrajné nebo zubaté.

Květ

Květy jsou jednotlivé úžlabní nebo skládají hroznovitá květenství. Jsou oboupohlavné, pravidelné, 4–5četné. Tyčinky jsou volné, v různém počtu 8 až 10, u některých jen 2 nebo 3. Prašníky jsou extrosní a mají různé výrůstky (drápkovité, štětinkovité a další) nebo přívěsky. Pestík je složen ze 4–5 plodolistů. Semeník je svrchní někdy i spodní

Plod

Plody jsou různorodé – tobolka, bobule nebo peckovice.

Výskyt

Vřesovcovité můžeme najít na různých místech. Často jsou to nevyživné půdy. Jsou to písčiny, kyselé půdy, výslunná místa a rašeliniště.

Rod brusnice (*Vaccinium*)

Tento rod obsahuje keře, keříky řidčeji stromy nebo popínavky a obsahuje až 450 různých druhů brusnice včetně borůvek. Listy jsou střídavé. Květy jsou jednotlivé, ve svazečcích nebo v hroznech, tvar mají zvonkovitý nebo baňkovitý. Barva květů je bílá, růžová až červená. Nároky na půdu jsou rozdílné. Plody jsou chutné bobule, některé rostliny dávají omamné až mírně jedovaté bobule. Rostou převážně v Severní Americe (severovýchod, jihovýchod), severní Evropě a v Severní Asii [2].

Tabulka 2 Některé druhy a poddruhy rodu brusnice [2]

Latinské jméno	Botanické jméno	Příklad poddruhu
<i>Vaccinium angustifolium</i>	brusnice úzkolistá	Top Hat
<i>V. corymbosum</i>	brusnice chocholičnatá	
<i>V. myrtillus</i>	borůvka černá	Leucocaprum
<i>V. uliginosum</i>	brusnice vlochyně, vlochyně bahenní	
<i>V. vitis-idaea</i>	brusnice brusinka	Nana, Coralle, Leucocaprum, Masovia, Red Pearl

Rod klikva (*Oxycoccus*)

Tato skupina zahrnuje malé keříčky, jejich malý kmen je tenký, chabý a poléhavý s krátkými větévkami. Listy jsou střídavé a kožovité. Květy jsou 4 čtné, v hroznech po 2–5 kusech a jsou oboupohlavné. Plody jsou červené. Prostředí, které jim vyhovuje je vlhké, rašelinné půdy, kyselé a uvítají slunce či polostín. Nejvíce rostou v oblasti Severní Ameriky, severní Evropy a severní Asie.

Tabulka 3 Některé druhy klikvy [2]

Latinské jméno	Botanické jméno	Příklad poddruhu
<i>Oxycoccus macrocarpus</i>	Klikva velkoplodá	Earl Black, Hamilton, Langlois, Pilgrim
<i>O. palustris</i>	Klikva bahenní	

Plody dvou keřů, které jsou analyzovány se liší hlavně v rodu – rod brusnice (*Vaccinium*) a klikva (*Oxycoccus*). Podle literatury se taxonomické zařazení obou druhů do rodů může lišit. Jako je tomu u klikvy, jedna literatura udává klikvu rodu *Oxycoccus* a jiná rodu *Vaccinium*, které značí synonymum [3].

2.1.1 Popis brusinky

Ve starší československé encyklopedii se najde brusinka *Vaccinium vitis-idaea* L., patřící do brusnicovitých (*Vacciniaceae*). Slovensky se nazývá brusnica pravá a její synonyma jsou – červené borievky, brusinky, brusnice atd. Anglický název je cowberry nebo lingonberry, německý preiselbeere, francouzský airelle rouge či italský myrtillo rosso [4].

Vzrůst

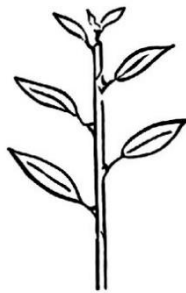
Brusinka se dělí na „divokou“ a Evropskou. Divoká brusinka je latinsky *Vaccinium vitis-idaea* Linnaeus var. *minus* (Lodd) Hultén a dorůstá velikosti kolem 18 cm jako malý keřík. Evropská brusinka, latinským názvem *Vaccinium Vitis-idaea* Linnaeus (Hultén), je také malý keřík, ale dorůstající až 40 cm [3].



Obrázek 1 *Kerík brusinky*

Listy

Listy jsou střídavé kožovité, stále tmavě zelené, lesklé na povrchu a na spodu mohou být tečkované a světle zelené. Na okraji jsou zavínuté a rostou na vysokém stonku, který je plazivý. Listy mají vejčitý tvar, velikosti 4–12 mm [2].



Obrázek 2 *Střídavé postavení listů*

Květy

Květy jsou čtyřčetné a zvonkovité, které vytvářejí převislé a husté koncové štrápce nebo hrozny po 3–8 kusech. Barvu mají bílou až růžovou a měří 5–8 mm. Květ obsahuje 8 nebo 10 tyčinek a spodní semeník.



Obrázek 3 Květy brusnice brusinky

Plody

Z květů se vyvinou plody, které jsou kulaté a červené bobule. V průměru mohou mít 5 až 8 mm.



Obrázek 4 Plody brusnice brusinky

Výskyt

Tento druh brusnice je málo náročný na živiny a vodu. Stačí suché, málo slunné, písčité půdy, zvládnou i vlhká až bažinatá místa s organickou půdou. Mohou se vyskytovat v horských oblastech a ideální jsou rašeliniště, která jsou kyselá s hodnotami pH mezi 4,5–6.

Původ růstu divokých brusinek je v mírných a písčitých lesích. V Americe je to Aljaška a Kanada, v Evropě je to spíše sever jako Švédsko, Finsko, Skandinávie a Rusko. V dnešní době roste už jak v Severní až Střední Americe, tak i v Evropě v oblasti Alp a Skandinávie a v Euroasii. Konkrétně například Mongolsko, Korea, Japonsko a Rusko [3;5].

Růst

Dle podmínek polohy výskytu a přísunu slunečního svitu, brusinky kvetou v období mezi květnem a červencem, kdy dozrávají i plody. Keříky mohou mít plody i dvakrát do roka, a to v říjnu. Plody jsou potom mnohem kvalitnější než v první půlce roku. Keříky se zralými plody mohou přežít teploty i pod bodem mrazu kolem -2 °C [3].

Pěstované odrůdy (kultivary)

Ida pochází ze Švédska, po dvou letech po vysazení kvete a dorůstá do výšky 13–18 cm. Její plody jsou velké (0,45 g) a tmavě červené.

Korál pochází z Holandska. Má střední až vysokou výnosnost a roste vzpřímeně do výšky 31–36 cm. Bobulky jsou menší, váží kolem 0,23 g a jsou bledé až středně červené. Existuje i Korál pocházející z Německa a má podobné vlastnosti jako Holandský. Jeho bobulky jsou jasně červené.

Linnae je nově kultivovaná rostlina ze Švédska (Belsgard Institute), u které dosud nebyla zhodnocena výnosnost. Dorůstá do výšky 13–23 cm a bobulky jsou středně velké a velmi tmavě červené. Plody zrají v listopadu.

Sanna pochází ze Švédska a její pěstování je chráněno patentem (číslo patentu VF 829.940525) a. Je to vzpřímená rostlina vysoká 15–23 cm a má lepší letní úrodu než zimní. Bobulky jsou středně velké až velké a tmavě červené barvy.

Red Pearl a **Sussi** se pěstují jako opylovače, které zajistí opylení odrůdy s vyšším výnosem. Sami opylovači mají malý výnos a průměrnou kvalitu plodů. Red Pearl je vyšší keřík (31–38 cm) a plodí jasně červené bobulky. Původem je z Holandska a dovezen do Ameriky v roce 1983. Sussi je také chráněna patentem na pěstování (číslo patentu VF 846.941220). Je to menší keřík (18–25 cm) a bobule, které rostou v říjnu jsou malé. Její země původu je Švédsko [3].

2.1.2 Popis klikvy

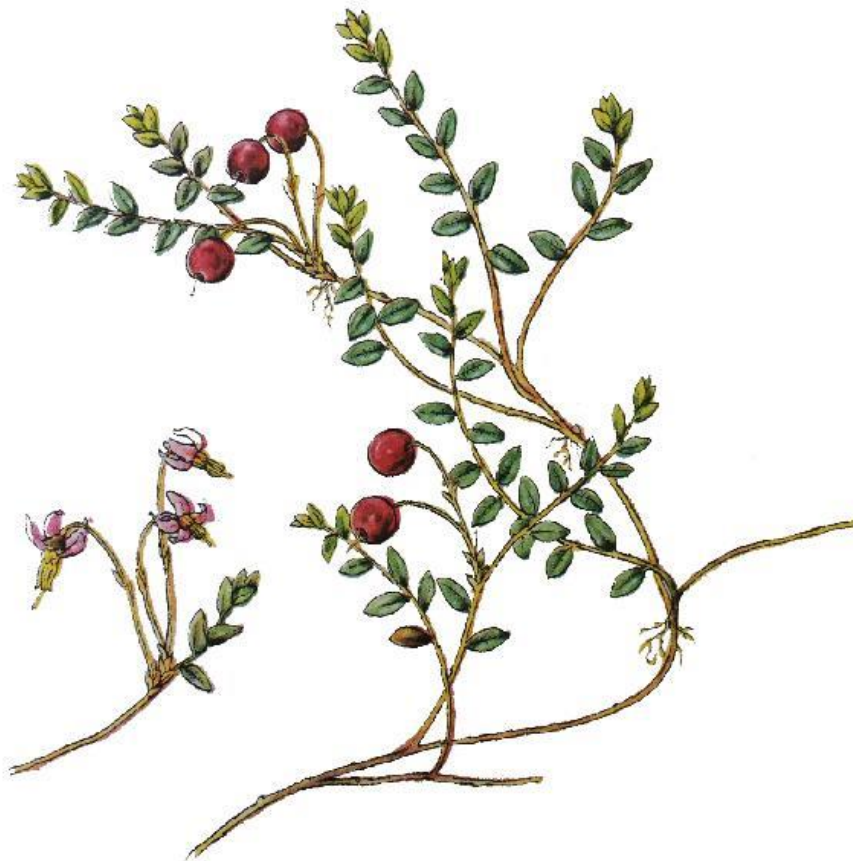
Encyklopedie [4] popisuje „klikvu žoravinu“ a zařazuje ji do brusnicovitých (*Vacciniaceae*). Latinský název této klikvy je *Oxycoccus quadripetalus* a má synonymum *Vaccinium oxycoccos*. Další lidové názvy jsou mechová brusnice či blatnice.

Vzrůst

Klikva je malý plazivý polokeř, který má poléhavé stonky a malinké větévky. Roste ve vlhké a na minerální chudé půdě.

Listy

Listy jsou střídavé jako u brusinky. Kožovité, mají krátkou stopku, celistvé okraje a jsou vejčitého tvaru. Na okraji jsou zavinuté.



Obrázek 5 *Keřík klikvy*

Květy

Má koncové květy na dlouhých stopkách a na stopkách jsou dva listy v polovině jejich délky. Květy jsou 4 nebo 5 čtné. Kalich je tupý, koruna má tvar talíře a má růžovou barvu. Koruna má květní lupínky, které mohou odstávat i obráceně. Obsahuje 8 nebo 10 tyčinek s červenými nitkami a žlutými prašníky s přívěsky. Má spodní semeník [2].



Obrázek 6 *Květy klikvy*

Plody

Plody jsou červené až tmavě červené bobule. Mají oválnější tvar než brusinky. Průměr bobulí klikvy se pohybuje mezi 10 až 15 mm. Mohou být tečkované. Při dozrávání se ukrývají v mechu.



Obrázek 7 *Plody klikvy*

Výskyt

Ideální prostředí je bez vápníku a velmi kyselé s horninami a s dostatečným množstvím vody v půdě. Nalézá se na vrchovištích, v mokřích a kyselých rašeliništích jak na loukách, tak i v lesích [5].

Růst

Klikvy kvetou a rostou ve stejném období jako brusinky.

Pěstované odrůdy (kultivary)

Pěstitelé se snaží o křížení jednotlivých odrůd za účelem dosažení vysoké výnosnosti s velkými bobulkami. Dalším důvodem křížení je získat plody s vysokým obsahem biologicky aktivních látek [32].

Stevens je kříženec McFarlin a Potters. Tento kultivar je významný svou kvalitou bobulí.

Pilgrim je také velmi výnosný. Je to kříženec Prolific a McFarlin.

Franklin je kříženec mezi Early Black a Howes.

2.1.3 Sklizeň americké brusinky

Populární americká (kanadská) brusinka vlastně není brusinka. Je to klikva. A proto by se neměla označovat brusinkou. Zajímavostí je její sklizeň. Ta probíhá v době zralosti od září do začátku listopadu. Existují dva postupy sklizně – suchá a mokrá.

Suchá sklizeň může být ruční sklizeň, která je samozřejmě nejšetrnější, co se týče kvality bobulí. Ale používají se i stroje, které mají rotující hrábě nebo hřebeny a ty očesávají bobule z keřů. Dopravním pásem se pak bobule hromadí v kontejneru, a nakonec se ručně přebírají.

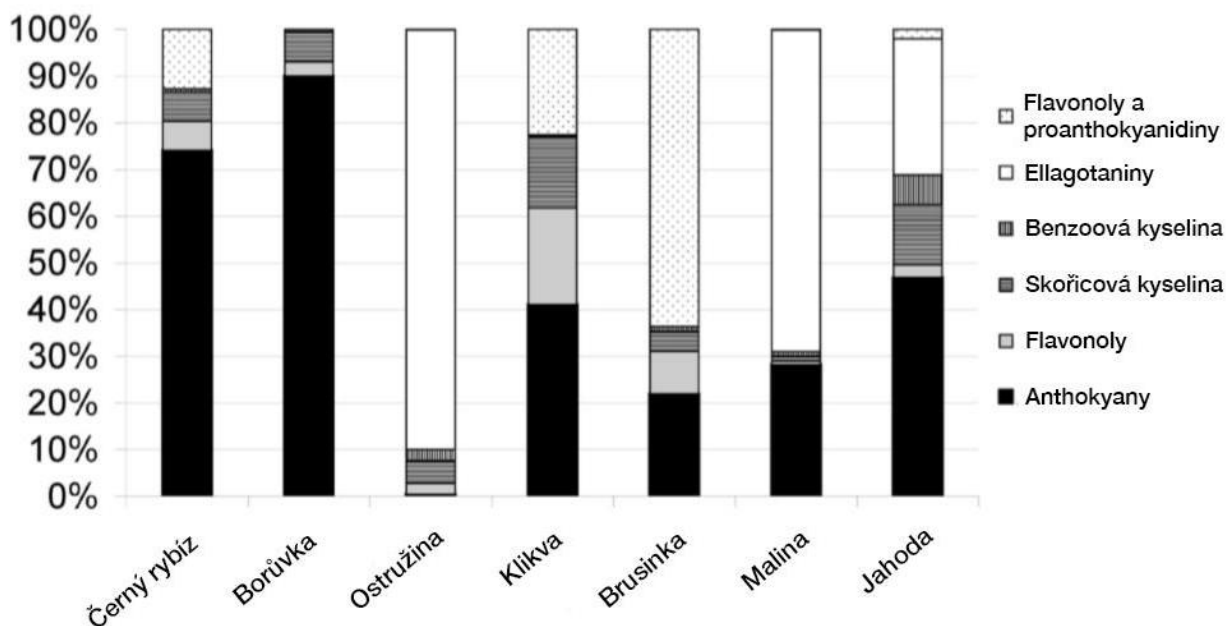
Mokrá sklizeň je zajímavější a využívá vzduchových komůrek uvnitř bobulí. Pole s keříky se zaplaví vodou, pak se shrabují vyplavené bobule na dopravní pásy, následně jsou dopraveny pásy do nákladních automobilů k dalšímu zpracování [6].



Obrázek 8 Mokrú sklizeň

2.2 Účinné látky

V listech brusinky brusnice jsou hlavní látkou glykosidy, konkrétně arbutin, acetylarbutin, hyperosid, třísloviny a organické kyseliny. Brusinky jsou vyzdvihovány jako dobrý zdroj flavonolových glykosidů, proanthokyanidinů a fenolových kyselin jako jsou například sinapová, kávová a kumarová. Plody obsahují tytéž látky, jen v jiném poměru. Plody navíc obsahují vitamín C, cukry a anthokyanová barviva. Uvádí se, že v plodech a listech klikvy jsou obsaženy látky podobné jako u ostatních brusnic [7].



Graf 1 Zastoupení fenolických látek u vybraného bobulovitého ovoce

Využití těchto účinných látek je například při konzervaci jídla a udržení jeho kvality. Antioxidační účinky se hlavně využívají jako prevence oxidace lipidů a proteinů. Jejich účinek závisí na rozdílných vlastnostech fenolických složek, včetně anthokyaninů, ellagotaninů a proanthokyanidinů. Nově se aplikují pro svůj antimikrobiální účinek fenolických látek na potraviny, které jsou snadno kontaminovány bakteriemi.

Podle některých studií je dalším významným efektem účinných látek v brusinkách a v klikvě léčba kardiovaskulárních chorob a rakoviny. Jedná se o zvýšené antioxidační aktivity plazmy a inhibice oxidace LDL (low density lipoprotein, ukazatel spojený s kardiovaskulárními chorobami) [8].

Další přínos pro zdraví je, že fenolické látky bobulí brusinek prokazují pozitivní vliv na některá onemocnění močových cest. Brusinkové proanthokyanidy snížily adhezi některých bakterií *E. coli* na močový trakt u zkoumané skupiny lidí, kteří pili šťávu z těchto bobulí. Což znamená, že se eliminují příznaky infekcí močových cest. Tento fakt nahrává marketingu pro doplňky stravy k prevenci těchto onemocnění [8].

Dle příkladů v grafu 1 se dá vyvodit, že v brusinkách lze najít z fenolických kyselin hydroxybenzoové kyseliny nebo ze skupiny flavonoidů flavonoly. Tato tabulka také porovnává výskyt fenolických látek v plodech dalšího drobného ovoce.

V amerických brusinkách, tedy v klikvě, se vyskytují 3-*O*-galaktosidy a 3-*O*-arabinosidy kyanidinu a peonidinu. Z flavonolů obsahují quercetin-3-*O*-galaktosid a další látky pro tělo prospěšné jsou epikatechin a proanthokyanidiny.

V evropských brusinkách převažují 3-*O*-glukosidy kyanidinu a peonidinu. Navíc obsahují polymerní proanthokyanidiny - flavonoly a fenolové kyseliny kávovou a kumarovou [9;33].

2.2.1 Antioxidanty rostlinného původu

Látky, které nepříznivě působí na organismus buď z vnějšího prostředí nebo v malé míře si tyto látky tělo vytvoří samo (například při velké tělesné zátěži) – jsou volné radikály, které oxidují a poškozují buňky a tím oslabují imunitní systém. Antioxidanty jsou látky, které chrání tělo proti těmto radikálům. Mezi rostlinné antioxidanty se řadí vitamíny (A, C a E), karotenoidy, flavonoidy, třísloviny, fenolické a polyfenolické sloučeniny a některé sloučeniny selenu a zinku.

Z chemického hlediska můžeme za antioxidant považovat každou látku, která zabrání reakci reaktivního metabolitu s jinou látkou. Antioxidanty se buď přidávají do potravin k prodloužení údržnosti či k ochraně potravin před oxidačními reakcemi, nebo se vyskytují přirozeně v potravinech a tím se dostávají do těla. Volnými radikály jsou nejčastěji reaktivní formy kyslíku. Příklady jsou uvedené v tabulce 4 [10].

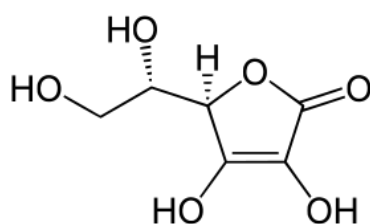
Tabulka 4 Příklady volných radikálů kyslíku (ROS)

Název	Vzorec
Superoxidový radikál	$\bullet\text{O}-\text{O}^-$
Hydroxylový radikál	$\bullet\text{O}-\text{H}$
Peroxylový radikál	$\text{R}-\text{O}-\text{O}\bullet$
Alkoxylový radikál	$\text{R}-\text{O}\bullet$
Hydroperoxylový radikál	$\text{H}-\text{O}-\text{O}\bullet$
Singletový kyslík	$\text{O}-\text{O}$
Peroxid vodíku	H_2O_2

2.2.2 Vitamíny

Vitamíny jsou organické látky potřebné k životu. Jsou velmi důležité pro chod celého lidského organismu, protože regulují metabolické pochody pomocí enzymů. Jelikož mají zanedbatelnou výživovou hodnotu, nemůžeme z nich získat energii. Předávkování vitamíny může uškodit stejně jako jejich absence. Vitamíny se rozdělují na rozpustné ve vodě – komplex vitamínů skupiny B a rozpustné v tucích – A, E, D, K.

Vitamín C je významným vitamínem v těle, Zajišťuje syntézu prekurzorů, transportní funkce nebo napomáhá k vytvoření pojivových tkání. Dalším využitím je jako antioxidant a přirozeným konzervačním účinkem či pro zlepšení sensorických vlastností potravinářského výrobku. Aktivitu vitamínu vykazují jen L-forma kyseliny askorbové (1,4-lakton L-threo-hex-2-enová kyselina). Živočichové by tento vitamín měli přijímat v potravě a rostliny si jej umí syntetizovat samy v souvislosti s fotosyntézou. Nedostatek vitamínu C způsobuje lidem kurděje (sorbit), hypovitaminóza způsobuje tzv. jarní únavu. Doporučená denní dávka vitamínu C je 60 až 100 mg a při rekonvalescenci nemoci i více [12].



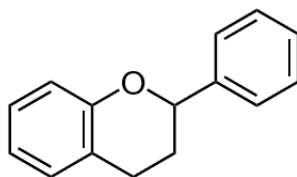
Vitamín C

Tabulka 5 Obsah vitamínů vztažených na 100 g klikvy a brusinky [16;17]

[mg]	Vit. C	Vit. B1	Vit. B2	Niacin	Vit. B6	Vit. E
Klikva	14,00	0,01	0,04	0,10	0,06	1,32
Brusinka	11,00	0,05	0,02	0,05	0,01	1,60
[µg]	Vit. B12	Biotin	Vit. A	Vit. K		
Klikva	-	-	3,00	5,00		
Brusinka	-	2,40	1,75	-		

2.2.3 Přírodní barviva

Za základní strukturu většiny flavonoidních barviv se dá považovat flavan. Nejobecnější rozdělení flavonoidů je na flavanoidy, isoflavonoidy a neoflavonoidy. Dle stupně oxidace řetězce se flavonoidy dále dělí na třídy katechiny, leukoanthokyanidy, flavanony, flavanonoly, flavony a anthokyanidiny [13].

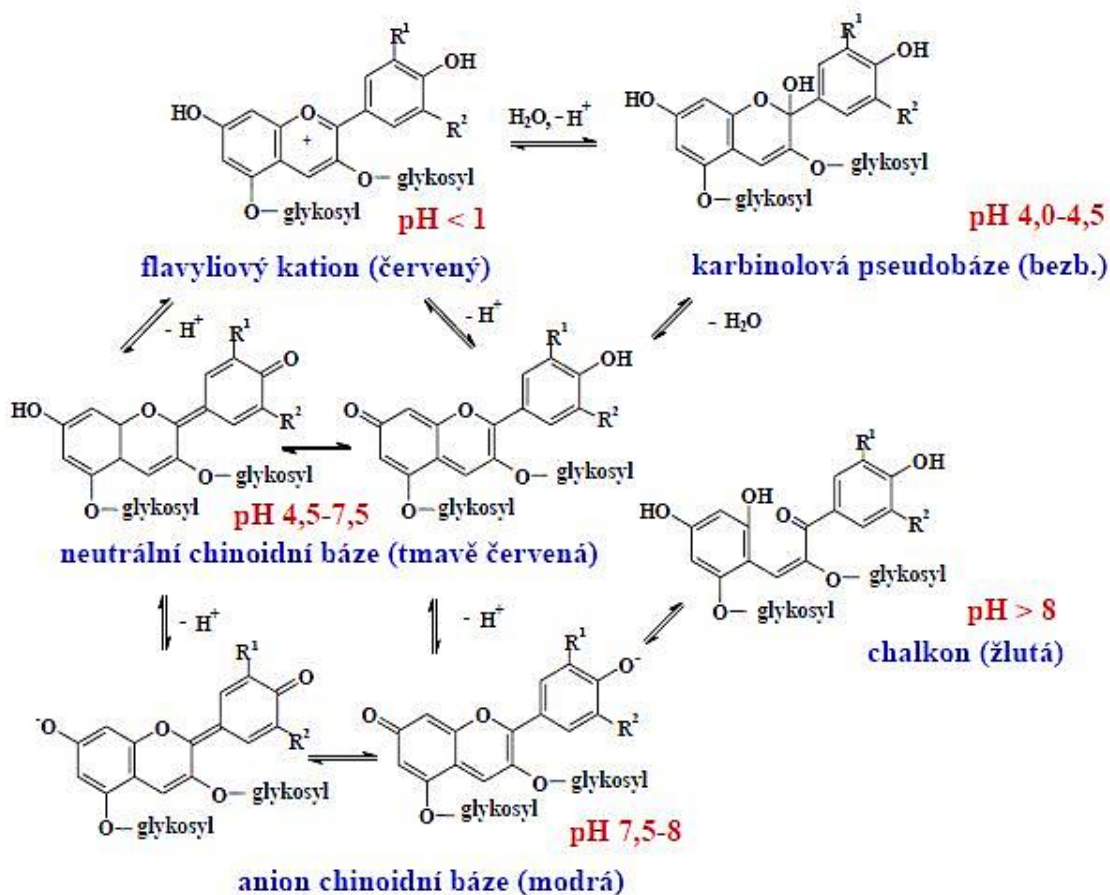


Flavan

Přírodní barviva mohou být syntetizována, vylučována nebo hromaděna v buňkách. Jsou přirozenou součástí potravin a některé barevné pigmenty jsou používány k dodatečnému barvení například nápojů. To jsou primární barviva. Barviva v potravinách jsou také ovlivněna skladováním či zpracováním potravin nebo těmito procesy vznikají. Příkladem je Maillardova reakce nebo enzymové hnědnutí. Takto vznikají sekundární barviva.

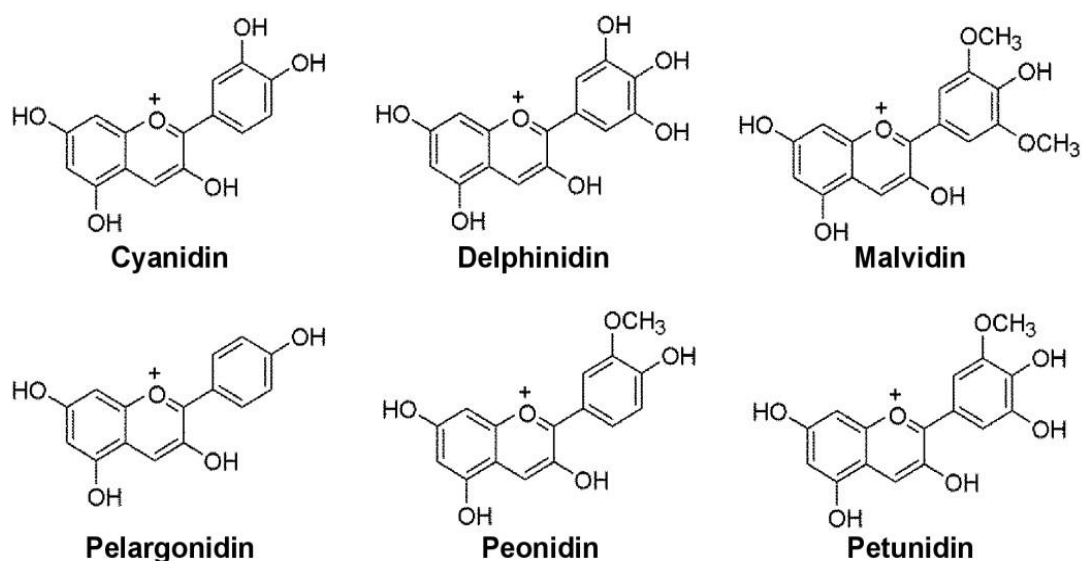
Rostlinná barviva anthokyaniny se vyskytují v široké škále rostlin. Skupina flavonoidů jsou ve vodě rozpustné sloučeniny. Ty jsou zodpovědné za červené až modrofialové zbarvení ovoce, zeleniny, květin a koření. Anthokyaniny jsou největší skupinou fenolických látek, která zahrnuje přes 9000 identifikovaných sloučenin. Z chemického hlediska jsou to heteroglykosidy, které mají dvě složky, barvenou tzv. aglykony, také nazývané anthokyanidiny, a cukernou.

Barevné spektrum anthokyaninů sahá od červené přes bezbarvou až k modré a žluté. Zároveň je barevné spektrum závislé na pH prostředí. Při nízkém pH do hodnoty 1,0 jsou to červené flavyliové soli. Mezi hodnotami 4,0-4,5 jsou bezbarvé karbinolové pseudobáze a se zvyšujícím se pH jsou opět zbarvené do červena až modra přibližně do rozmezí pH 7,5-8,0. Při dalším zvyšování pH modrá pomalu slábne a vzniká žlutý chalcon. Absorbance pro červené pigmenty při nízkém pH se měří při vlnových délkách mezi 510-520 nm. Poté se využívá změny struktury pigmentu při pH 4,5 a absorbanci při vlnové délce 700 nm. Nejvyšší absorbance červené barvy například pro pigment pelargonidin je 520 nm. Barevné přechody v závislosti na změně struktury jsou uvedeny na obrázku 9 [27].



Obrázek 9 Změny zbarvení anthokyaninů v závislosti na pH [36]

Následujících šest struktur na obrázku 10 tvoří základní aglykony (anthokynidiny) rozšířené v rostlinách.



Obrázek 10 Chemické struktury základních anthokyanidinů

2.2.4 Minerální látky

Minerální látky jsou nepostradatelnou součástí výživy nejen člověka, ale i rostlin a živočichů. Významné výživné složky živočichů, rostlin a člověka. Rozdělují se na makroelementy (Na, K, Ca, Mg, Cl, P a S), které bývají v potravinách zastoupeny ve stovkách až deseti tisících mg/kg. Mikroelementy (stopové prvky) jsou obsaženy v koncentracích desítek mg/kg a méně. Patří sem Al, Cu, F, Fe, Mn, Mo, Pb a Zn. Některé minerální látky mohou být senciální = nepostradatelné (Zn, Cu, Fe,...), neesenciální (Sb, Si, Al,...) a toxické (Pb, Hg, Cd,..) [26].

Tabulka 6 Obsah minerálních látek vztahený na 100 g klikvy a brusinky [16;17]

Obsah [mg]	Vápník	Železo	Hořčík	Fosfor	Draslík	Sodík	Zinek
Klikva	8,00	0,23	6,00	11,00	80,00	2,00	0,09
Brusinka	20,00	0,40	9,00	16,00	89,00	2,00	0,18

2.2.5 Nutriční hodnoty

V tabulce 8 jsou shrnuté výživové údaje na 100 g syrové nijak neupravené bobulky klikvy. V druhém sloupci jsou uvedeny údaje na 100 g brusinky.

Tabulka 7 *Nutriční hodnoty pro klikvu a brusinku [16;17]*

Složka	Obsah		Jednotka
	Klikva	Brusinka	
Voda	87,32	86,30	g
Energetická hodnota	46,00	52,58	kcal
Bílkoviny	0,46	0,80	g
Celkové tuky	0,13	1,20	g
Nasycené tuky	0,01	0,00	g
Uhlovodíky	11,97	11,50	g
Vláknina	3,60	3,70	g
Celkové cukry	4,27	8,70	g
Vápník	8,00	20,00	mg
Fosfor	11,00	16,00	mg
Hořčík	6,00	9,00	mg
Draslík	80,00	89,00	mg
Sodík	2,00	2,00	mg
Železo	0,23	0,40	mg
Zinek	0,09	0,18	mg
Vitamin C	14,00	11,00	mg

2.3 Využití klikvy a brusinky a výrobky z nich

Využití

Jelikož brusinky a klikvy mají značný obsah kyseliny benzoové a mají přirozeně nízkou hodnotu pH, není třeba je technologicky příliš konzervovat. Takže zpracování je velice snadné pro obě. Výrobky z nich jsou vesměs stejné. Od marmelád, šťáv, sušených plodů až po doplňky stravy jako prevenci proti zánětům močových cest. V Americe se více zpracovává klikva a v Evropě (hlavně severní) spíše brusinka. Proto některé výrobky jsou mnohdy pojmenované obecně jako brusinka, ale je ve skutečnosti zpracována klikva, a to může být matoucí. Využívají se bobulky i listy.

Ovocné pomazánky

Marmelády a džemy se dají shrnout pod název ovocné pomazánky. Touto technologickou úpravou dochází ke zvýšení sušiny odpařením vody a přidáním cukru a zároveň k přirozené konzervaci. Domácí ovocná pomazánka se připravuje s pomocí cukru, šťávy z citronu nebo pomeranče, přidáním vody a povařením. Směs celá zhoustne a může se uchovat do sklenic s uzávěrem a skladovat v chladu pro pozdější konzumaci [19].



Obrázek 11 *Džem z brusinky (vpravo, džem z klikvy (vlevo))*

Pokrm

Jako příloha se využívá sladko-kyselá marmeláda nebo džem. Hlavně ke zvěřině, u nás ke svíčkové a severské země ke známým masovým kuličkám. Naši slovenští sousedé dochucují takto oštěpky. A sladké dezerty nejsou výjimkou, mohou to být různé obdoby koláčů, přelivy k lívancům či dochucení dortů jako kyselkavý element.



Obrázek 12 *Užití džemu ke slaným a sladkým pokrmům*

Sušené plody klikvy a brusinky

Sušení je dalším způsobem odnětí vody z potraviny a způsob konzervace, kdy vznikne prostředí s 10 až 20 % vlhkosti, a to je nepřírozené pro mikroorganismy. S trendem fitness jídelniček a zdravého životního stylu, je v oblibě konzumace například jáhlových nebo pohankových kaší. Sušené brusinky a klikvy jako dochucovadlo nesmí chybět [20].

Šťávy, sirupy, nápoje

Stejně jako z většiny plodů, i z těchto se dá vylisovat šťáva. Snahou je získat co nejvíce přirozené šťávy, která se pak dále zpracovává na šťavní koncentráty pro výrobu nápojů a sirupů. Výrobky se většinou prezentují v obchodech zaměřených na zdravý životní styl nebo v lékárnách. Většinou jsou v bio kvalitě a jako 100% šťáva nebo nápoj s jinými příchutěmi. Na obalech 100% šťávy bývá i doporučené dávkování. Brusinkové nápoje se pak dají vyrobit z koncentrátu nebo sirupu [20].

Prevence onemocnění močových cest

K prevenci těchto onemocnění se doporučují tobolky s hlavní složkou z brusinek a klikvy. V bylinných čajích je to obdobné. Užívání při nemoci napomáhají k uzdravení. Kromě toho, jsou účinky těchto bobulí vyzdvihovány i jako prevence proti zažívacím potížím, mají protinádorový účinek a jsou prevencí zubního kazu [8].

Kosmetika

Výtažky z brusinky a klikvy najdeme i v kosmetice. Je to hlavně extrakt, který působí blahodárně na pokožku, napomáhá hojení a podporuje vznik nových kožních buněk. Produkty jsou různé zklidňující masti a séra na podrážděnou pokožku, různé obličejové masky, mýdla, zubní pasty nebo pomády na rty. Tyto kosmetické výrobky se vyznačují hlavně nálepkami, že jsou bio, organické, vhodné pro vegany, bez lepků, netestované na zvířatech či bez palmového oleje.



Obrázek 13 *Užití extraktu z brusinky nebo klikvy v kosmetických výrobcích*

2.4 Stanovení fenolických látek

Rostlinné fenoly jsou charakterizovány aromatickými jádry nebo heterocyklickými jádry spojenými či kondenzovanými alifatickým řetězcem, obsahuje hydroxylové nebo methoxylové skupiny – to jsou polyfenoly. Vyskytují se ve formě glykosidů a nejčastějšími cukry jsou glukóza, arabinóza, galaktóza a další.

Metoda, která se vybere pro stanovení fenolických látek záleží na tom, jestli se stanovují veškeré látky nebo konkrétní skupina látek. Určení množství a složení fenolických složek v rostlinných materiálech závisí na chemické povaze, extrakční metodě a vybraném extrakčním činidle, a na velikosti částic ve vzorku. Toto množství závisí také na době a podmínkách skladování a na použitých standardech. Výsledky ovlivňují i interferující látky jako jsou vosky, tuky, terpeny nebo chlorofyly.

Stanovení může být skupinové – titrační metodou, třeba manganometrické stanovení tříslavin, které je neselektivní a stanovuje se nejčastěji v nápojích. Spektrofotometrické metody, založené na reakci s Fe^{3+} , vanilinem nebo *p*-dimethylaminocinnamaldehydem. Stanovení pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie, kdy se musí vzorek připravit. Detektory jsou spektrofotometrické, fluorimetrická nebo hmotnostní spektrometrie.

Stanovení celkového obsahu fenolických látek je založeno na oxidačně redukčních vlastnostech, kdy fenolické látky jsou redukčními činidly. Nejčastěji používané metody jsou podle Folin-Ciocalteua, podle Price a Bultera a metoda s použitím aminoantipyrinu [15;24].

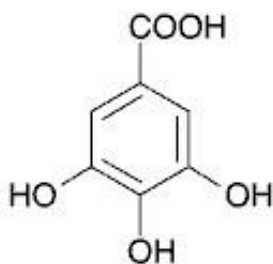
Metoda podle Folin-Ciocalteua

Metoda používá speciálního činidla Folin-Ciocalteua, které je připraveno z wolframu sodného, molybdenanu sodného, síranu lithného, koncentrované kyseliny chlorovodíkové, kyseliny fosforečné a je zředěn vodou. Přítomné fenolické sloučeniny ve vzorku oxidují komplex fosfowolframát-fosfomolybdenát za vzniku modrých produktů. Množství těchto produktů je přímo úměrné množství fenolických látek. Toto činidlo reaguje se rozmanitým spektrem sloučenin, také má široký absorpční pík a lze použít větší rozmezí vlnových délek. Nejčastější hodnoty vlnových délek jsou 700 nm, 760 nm a 765 nm. Kalibrační křivka se sestaví pomocí kyseliny gallové a výsledná koncentrace fenolických látek se pak vyjadřuje jako ekvivalent této kyseliny.

Měření schopnosti látek absorbovat elektromagnetické záření v UV-VIS spektrofotometrii využívá rozmezí vlnových délek mezi 380–760 nm. Absorbance je přímo úměrná koncentraci látky, která je schopna absorbovat a řídí se Lambert-Beerovým zákonem [34].

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l \quad l$$

kde A je absorbance [–], ε_{λ} je molární absorpční koeficient pro danou vlnovou délku [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$], c je látková koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] a l je tloušťka květy (absorbující vrstvy) [cm].



kyselina gallová



Obrázek 14 Spektrofotometr značky Helios užívaný v laboratoři

2.5 Stanovení anthokyanových barviva

Barva ovoce a zeleniny záleží na různém zastoupení pigmentů a výslednou barvu ovlivňují i přítomnost dalších barviv jiných skupin. Postupným zráním plodu se anthokyany mohou měnit, jako například u vinné révy, kdy při zrání dochází k enzymovému hnědnutí a vznikne stabilnější červená barva, která je méně citlivá na změnu pH.

Důležitou vlastností anthokyanů v technologickém procesu je barva a její stabilita. To bývá nejčastěji při nízkém pH, většinou čerstvého ovoce a zeleniny. Ovlivnění sytosti barvy, může být způsobeno přítomností iontu železa nebo mědi, který oxiduje přirozeně přítomnou kyselinu askorbovou v potravine a ta následně oxiduje anthokyany. Příkladem takové ztráty barvy mohou být jahody v konzervách. Další faktory mohou být přítomnost některých enzymů, pH prostředí, teplota a působení záření.

Stanovení těchto barviv může být spektrofotometricky. Nejdříve se provádí extrakce za pomoci činidel a následně se upraví pH [14;15].

pH diferenciální metoda

Metoda je založená na transformacích struktury anthokyanů v závislosti na pH. Tato metoda je považovaná za jednoduchou, rychlou a přesnou. Pro určení množství anthokyanů se využívá změny absorbance při dvou odlišných pH, a to $\text{pH} = 1,0$ a $\text{pH} = 4,5$. Dochází tedy ke strukturním změnám, kdy při nižším pH převažují oxoniové formy a při vyšším pH převažují hemiketalové formy, které jsou bezbarvé.

Samotné měření probíhá pro obě pH při vlnové délce 520 nm, kdy je absorpce maximální a při vlnové délce 700 nm, jako korekce měření v důsledku zákalu. Hodnoty absorbancí při druhé vlnové délce jsou odečítány od prvních. Obsah anthokyanů vypočítá z naměřených absorbancí, s pomocí molekulové hmotnosti převažujícího pigmentu a molárního absorpčního koeficientu majoritního anthokyanu. Výsledek vyjádřen jako koncentrace monomerního pigmentu [35].

2.6 Další metody stanovení vybraných chemických parametrů šťávy

2.6.1 Stanovení výtěžnosti šťávy

Šťáva je kapalina, která vytéká z ovoce při mechanickém rozrušení rostlinných buněk za pomoci tlaku. V průmyslu se používají velké lisy, nejčastěji šnekový a doma se dají použít různé odšťavňovače, které pracují na podobném principu jako průmyslové stroje. Množství šťávy může být ovlivněno zralostí ovoce, množství lisovaného ovoce, jak moc velký tlak je použit a po jakou dobu, na druhu použitého zařízení.

Výtěžnost šťávy je množství (objem) získané šťávy ze zváženého množství vzorku. Tato hodnota se většinou vztahuje na 100 g vzorku. Při lisování je třeba brát v úvahu hustotu šťávy a počítat s tím, že část šťávy ulpí na stěnách lisovače [19].

2.6.2 Stanovení celkové sušiny

Tímto stanovením se rozumí odstranění vody z potraviny pomocí sušení. Všechny potraviny obsahují vodu v různém množství a toto množství určuje trvanlivost výrobků. Po odstranění vody zůstane sušina. Sušina znamená souhrn všech organických a anorganických složek obsažených v potravinech.

Analytické sušení konstantní hmotnosti probíhá v sušárně při teplotě 105 °C horkým vzduchem po dobu několik hodin. Odstraňuje se vodní pára z potraviny. Předem zvážený vzorek a vhodná nádoba se společně suší. Po sušení se zváží a opět se suší, než je úbytek hmotnosti neměnný [21].



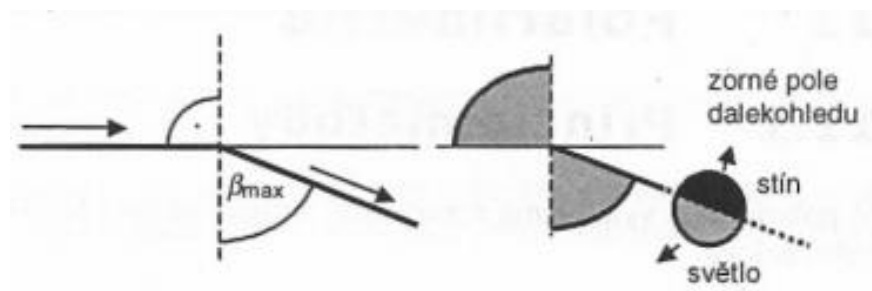
Obrázek 15 Elektrická sušárna v laboratoři

Je to nejpoužívanější metoda na stanovení vody v potravinářských produktech. Nedoporučuje se pro materiály s vysokým obsahem monosacharidů. Materiály, u nichž nelze dosáhnout konstantní hmotnosti, se suší buď do konstantního úbytku, nebo se k dané navážce a teplotě předpisuje i doba sušení [21].

2.6.3 Refraktometrické stanovení cukerné sušiny

Rozpustnou sušinou je především rozpustná vláknina a případně další látky rozpustné ve vodě, které mění index lomu roztoku. Lom (refrakce) je jev, kdy dopadne paprsek světla na rozhraní dvou fází. Jelikož rychlost světla v různých fázích je různá, výsledkem poměru těchto rychlostí je index lomu a řídí se Snellovým zákonem. Měření indexu lomu se dělá pomocí refraktometru.

Cukry jsou sloučeniny, které mají asymetrický uhlík neboli chirální uhlík. Tento uhlík způsobí pootočení počáteční roviny o mezní úhel a tím zjistíme index lomu. Refraktometry jsou již nastaveny na hodnoty indexu lomu. Hodnota mezního úhlu se odečítá v dalekohledu, kde jde vidět rozhraní mezi stínem a světlem. Toto rozhraní se nastaví pomocí otočného šroubu přesně do průsečíku obou vláken nitkového kříže. Index lomu závisí na koncentraci cukru a na teplotě. Na stupnici se dá odečíst i hmotnostní procenta sacharózy. Na tomto principu pracuje Abbeho refraktometr, který se v laboratoři používá nejčastěji [22].



Obrázek 16 Měření mezního úhlu lomu



Obrázek 17 Abbeho refraktometr

2.6.4 Stanovení pH

Stanovení hodnoty pH je důležitá charakteristika pro průběh reakcí zejména biochemických. V potravinách je důležitá přítomnost organických kyselin, které ovlivní sensorické vlastnosti. Příkladem může být kyselina vinná, citrónová nebo jablečná [28].

Podle přesnosti pH zvolíme metodu měření. Pro orientační stanovení stačí pH papírky, pro přesné hodnoty se používají pH metry. Nejčastější metodou stanovení pH metry je potenciometrické stanovení.

Kyselost (hodnoty pod 7) či zásaditost (hodnoty nad 7) vodných roztoků charakterizuje koncentrace hydroxoniových iontů. Výpočet pH je záporný dekadický logaritmus aktivity těchto iontů, resp. jejich koncentrace. Koncentrace iontů se rovná aktivitě jen v případě velmi zředěných roztoků.

Potenciometrie je založena na měření elektromotorického napětí článku, který je složen ze srovnávací a pracovní elektrody. Při tomto měření se nejčastěji používá kombinovaná skleněná elektroda. Je složena ze skleněné trubičky, která je zakončená baničkou (membrána). Uvnitř je standardní roztok, nejčastěji $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl, v němž je ponořena srovnávací argenticchloridová elektroda. Elektroda, která může mít různé tvary, je připojena k pH metru. Ten je třeba před měřením kalibrovat na sadu pufrů o určitém pH [23].

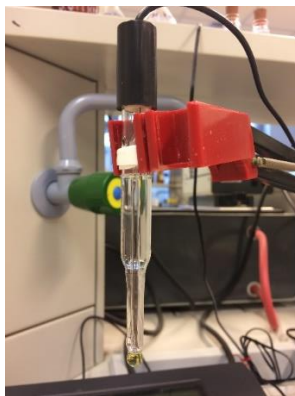


Obrázek 18 Stolní pH-metr s magnetickou míchačkou

2.6.5 Stanovení titrační kyselosti.

V analyzovaném vzorku se stanovuje obsah minerálních a organických kyselin metodou titrační kyselosti. Pro stanovení se využívá potenciometrie, především u barevných vzorků. Odměrným roztokem pro neutralizaci kyselin je hydroxid sodný o přesně známé koncentraci a bod ekvivalence u ovoce a zeleniny činí $\text{pH} = 8,1$. Ze spotřebovaného hydroxidu sodného se vypočítá tato titrační kyselost. Vlastní stanovení probíhá s pH metrem, magnetickou míchačkou a za postupného přikapávání hydroxidu sodného do zředěného analyzovaného vzorku [21].

Dominantní kyselinou pro klikvu je kyselina citrónová a kyselina jablečná. Vzhledem k podobným vlastnostem brusinky a klikvy můžeme titrační kyselost stanovit stejně, a to na kyselinu citrónovou [29].



Obrázek 19 Použitá kombinovaná skleněná elektroda

2.6.6 Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda

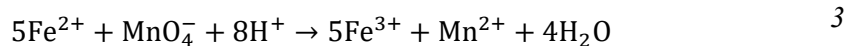
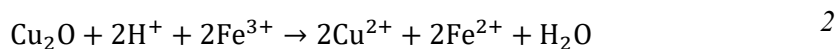
Metoda patří pod chemické metody založené na nestechiometrických reakcích. Obecně je metoda založena na oxidaci redukujících cukrů s měďnatými ionty a obvykle za varu. Nejčastější činidlo je Fehlingovo činidlo (Fehlingovo činidlo I = CuSO_4 , Fehlingovo činidlo II = vinan sodno-draselný + NaOH) nebo Luffův roztok (CuSO_4 + kyselina citronová + Na_2CO_3). Současně probíhá i řada jiných reakcí, jako třeba izomerace nebo štěpení cukrů. Provádí-li se reakce za přesně daných podmínek – je dán objem roztoku, přidaného činidla, vzorku, doba varu, atd., proběhne reakce do určitého stupně, kdy se reaktanty přemění na

produkty. Tento stupeň je závislý na množství cukrů ve vzorku. Různé cukry mají různou rychlost reakce a různé vedlejší produkty.

Množství konkrétního cukru se stanoví buď z vyloučeného oxidu měďného, to jsou metody dle Ofnera, Bertranda, komplexometrická s chelatonem 3 nebo vážková. Nebo ze zbytkového množství redukujících cukrů, to je metoda Luffa-Schoorla.

Metoda podle Bertranda

Princip metody je založen na reakci redukujících cukrů s Fehlingovým činidlem. Z Fehlingova činidla vyredukovaný oxid měďný reaguje s roztokem síranu železitého v kyselém prostředí za vzniku ekvivalentního množství síranu železnatého. Manganometricky se titruje síran železitý. Výpočet obsahu redukujících cukrů se vypočítá ze spotřeby manganistanu draselného, který odpovídá určitému množství redukujících cukrů. Chemické reakce probíhají dle rovnic 2 a 3 [21]:



3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Analyzované vzorky

Pro praktickou část mi byly dodány 3 odrůdy klikvy a 6 odrůd brusinky, které byly vypěstované v Pěstitelském ústavu v Holovousech. Některé vzorky byly sklizeny dvakrát s jiným datem, proto pro jednodušší práci byly tyto dva vzorky brány jako jeden. To se týká odrůd, které jsou uvedeny v tabulce níže. Vzorky jsou uchovány v plastových obalech a zamražené. Hmotnost každé odrůdy v obalu je přibližně 40–60 g bobulek. Pro další práci mají odrůdy klikvy a brusinky své pořadové číslo.

Tabulka 8 *Seznam odrůd*

Číslo	Klikva (odrůda)	Datum sklizně
1	Pillgrim	18. 9 .2017
2	McFarlin	18. 9. 2017
3	Stevens	18. 9. 2017

	Brusinka (odrůda)	Datum sklizně
4	Sussi	7. 8. 2017
5	Sanna	7. 8. 2017
6	Linnea	7. 8. 2017
7	Runo Bielawskie	7. 8. 2017 a 12. 9. 2017
8	Ida	7. 8. 2017 a 12. 9. 2017
9	Korál	7. 8 .2017 a 12. 9. 2017

3.2 Laboratorní vybavení

Pomůcky:

- Hliníkové vysoušecí misky
- Exsikátor
- Gáza, buničitá vata
- Filtrační papíry
- Erlenmayerovy baňky
- Zkumavky
- Filtrační kelímek S4
- Křemenné kyvety
- Dělené pipety
- Běžné laboratorní sklo Simax
- Odsávací baňka
- Nálevky

Přístroje:

- Analytické váhy (Pioneer, Ohaus, USA)
- Předvážky (Ohaus, USA)
- Sušárna (Memmert, Německo)
- Chladnička, mraznička (Liebherr, Německo)
- pH metr (Hanna instruments, USA)
- Vodní vývěva
- Refraktometr (Zeiss, Německo)
- Spektrofotometr (Helios, Spectronic unicam,)

Chemikálie:

- Fenolftalein (Lach-Ner, s. r. o., Česká republika)
- Dihydrát kyseliny šťavelové p. a. (Lach-Ner, s. r. o., Česká republika)
- Manganistan draselný (Mach chemikálie, s. r. o., Česká republika)
- Kyselina chlorovodíková koncentrovaná (Lach-Ner, s. r. o., Česká republika)
- Kyselina gallová (Lachema, Česká republika)
- Folin-Cicaultovo činidlo (Lach-Ner, s. r. o., Česká republika)
- Ethanol (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)
- Kalibrační pufr pro pH metr (XS Instruments, Itálie)
- Kyselina sírová p. a. 96% (Penta, Česká republika)
- Vinan sodno-draselný (Penta, Česká republika)
- Síran železitý (Penta, Česká republika)
- Fehlingovo činidlo I a II (Lachema, Česká republika)
- Octan sodný (Lachema, Česká republika)
- Chlorid draselný (Lachema, Česká republika)
- Hydroxid sodný (Penta, Česká republika)
- Ethanol
- Destilovaná voda

3.3 Příprava roztoků a vzorků

3.3.1 Příprava roztoků

Příprava roztoku hydroxidu sodného o koncentraci $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

Z rovnice byla vypočítána navážka potřebná k dosažení této koncentrace. Přesně navážené množství NaOH s přesností na miligramy, se kvantitativně převedlo do odměrné baňky o objemu 1 l a nechal se zcela rozpustit.

$$m_{\text{NaOH}} = c \cdot M \cdot V, \quad 4$$

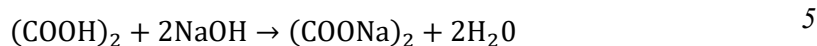
kde m_{NaOH} je přibližná navážka hydroxidu sodného [g], c je výsledná koncentrace $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$, M je molární hmotnost hydroxidu sodného $39,997 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, V je objem připravovaného roztoku 1 l. Přesná koncentrace hydroxidu se vyjádří ze stejného vzorce a dosadí se skutečná navážka.

Příprava roztoku kyseliny šťavelové o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$

Pro výpočet navážky se použije vzorec 3. Přesná navážka dihydrátu kyseliny šťavelové se kvantitativně převede do odměrné baňky o objemu 100 ml. Pro kyselinu jsou hodnoty následující: $m_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}}$ je navážka kyseliny šťavelové [g], c je výsledná koncentrace $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$, M je molární hmotnost kyseliny šťavelové $126,07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, V je objem připravovaného roztoku 0,1 l. Přesná koncentrace kyseliny se vyjádří také ze vzorce 4 a dosadí se skutečná navážka.

Standardizace hydroxidu sodného na kyselinu šťavelovou

Standardizace probíhá dle následující reakce:



Z této rovnice vyplývá stechiometrie:

$$2n((\text{COOH})_2) = n(\text{NaOH}) \quad 6$$

a titrační faktor pro NaOH $f_t = 2$. Z postupů práce (viz dále) vyplývá faktor zředění této titrace:

$$F = \frac{V_{o.baňky}}{V_{pipet.}} \quad 7$$

kde $V_{o.baňky}$ je objem odměrné baňky a $V_{pipet.}$ je pipetovaný objem kyseliny šťavelové, obojí mají jednotku [ml].

Obecný vzorec pro výpočet koncentrace vyplývá z rovnosti látkového množství

$$n_{ss} = n_{OR} \cdot f_t \cdot F, \quad 8$$

kde n_{ss} je látkové množství pro NaOH a n_{OR} látkové množství titračního činidla, obojí v molech. Po dosazení a vyjádření vzorce pro výpočet koncentrace NaOH se dostane vzorec

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{c_{\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4} \cdot V_{\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4} \cdot f_t \cdot F}{\bar{V}_{\text{NaOH}}} \quad 9$$

kde \bar{V}_{NaOH} je průměrná spotřeba NaOH na titraci.

Standardizace manganistanu draselného 0,02 mol·l⁻¹

Na standardizaci se využije 0,05 mol·l⁻¹ roztok kyseliny šťavelové, z které se pipetuje 10 ml do titrační baňky. Přidá se 1 ml odměrného roztoku manganistanu a 5 ml kyseliny sírové. Titrační baňka se zahřeje na 60 °C do odbarvení roztoku a následně se ihned titruje odměrným roztokem manganistanu do slabě růžového zbarvení. Titrace se provede tři krát a z průměrné hodnoty se vypočítá přesná koncentrace roztoku. Z rovnice následující rovnice vychází stechiometrie standardizace manganistanu:



Ze stechiometrie vyplývá látkové množství

$$2n((\text{COOH})_2) = 5n_{\text{MnO}_4^-} \quad 11$$

kde titrační faktor pro manganistan je $f_t = \frac{2}{5}$. Faktor zředění je stejný jako při standardizaci hydroxidu sodného. Pomocí výše uvedených veličin se vypočítá přesná koncentrace manganistanu:

$$c_{\text{MnO}_4^-} = \frac{c_{\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4} \cdot V_{\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4} \cdot f_t \cdot F}{\bar{V}_{\text{MnO}_4^-}} \quad 12$$

kde $\bar{V}_{\text{MnO}_4^-}$ je průměrná hodnota spotřeby manganistanu na titraci

Příprava síranu železitého

Na předvážkách se navážilo 100 g síranu železitého a odměřilo se 218 ml koncentrované kyseliny sírové. Následně se vše kvantitativně rozpustilo ve 2 litrech destilované vody za stálého míchání a chlazení.

Příprava Fehlingova roztoku II

Na předvážkách se navážilo 346,08 g vinanu sodno-draselného a 150,05 g hydroxidu sodného. Kvantitativně se převedou do 1000ml odměrné baňky a doplní se destilovanou vodou po rysku.

Uhličitan sodný 7,5%

Na předvážkách se zvážilo 7,5 g uhličitanu sodného a kvantitativně se převedl do 100ml odměrné baňky a doplnilo se 92,5 ml destilované vody.

Acetátový pufr o pH 4,5

Naváží se 27,2 g octanu sodného, který se rozpustí ve 480ml destilované vody a vznikne roztok o koncentraci 0,4 mol·l⁻¹. Roztok se následně upraví přidáním kyseliny chlorovodíkové na pH=4,5.

Chloridový pufr o pH 1,0

Navážka 0,9 g chloridu draselného se rozpustí ve 480ml destilované vody. Přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové se roztok o koncentraci 0,4 mol·l⁻¹ upraví na hodnotu pH=1.

3.3.2 Příprava vzorků

Příprava surové šťávy z plodů

Plody brusinky a klikvy byly vyndány z mrazničky. Navážily se vzorky každého druhu a nechaly se samovolně rozmrazit. Potom se ručně bobulky rozmačkají s pomocí nastříhané gázy. Šťáva se vymačká do kádinky, tj. vznikne surová šťáva pro jednotlivá stanovení.

Neprováděla se homogenizace a extrakce šťávy z důvodu nedostatečného množství analyzovaného materiálu. Proto se vzal zvlášť vzorek bobulí pro jednotlivá stanovení.



Obrázek 20 Vymačkaná šťáva z bobulí přes gázu

3.4 Postupy stanovení

3.4.1 Stanovení výtěžnosti šťávy

Na analytických váhách bylo přibližně 6 g klikvy a 4 g brusinek. Plody byly umístěny do gázy a vymačkány do kádinky. Objem šťávy se měřil pomocí 10ml odměrného válce.

Výtěžnost se přepočítala a je definována jako množství šťávy ve ml na navážku v g plodů dle vztahu:

$$x = \frac{V_n}{m_n} \cdot 100 \quad 13$$

kde V_n je objem vymačkané šťávy [ml] a m_n je navážka bobulí [g].

3.4.2 Stanovení sušiny sušením

Předsušily se hliníkové misky, které se označily dle odrůdy 1 – 9 a pro každý druh se dělaly 3 paralelní stanovení a, b a c. Dohromady bylo 27 suchých misek s víčkem, které se zvažily naprázdno na analytických vahách v gramech na čtyři desetinná místa.

Do misek se navážilo 3-5 kusů zmražených bobulek a misky se vložily do vyhřáté sušárny. Po prvním sušení se uzavřené misky vložily do exsikátoru, aby vychladly a následně se zvažily. Sušení a vážení proběhlo 3krát v přibližně stejném intervalu, až do chvíle, kdy se hmotnost neměnila.

Obsah sušiny w_z se vypočítá dle následující rovnice 14:

$$w_z = \frac{m_z}{m_n} \cdot 100\% \quad 14$$

kde m_z je hmotnost vzorku po vysušení [g], m_n je hmotnost vzorku před vysušením [g]. Obsah sušiny byl vyjádřen v hmotnostních procentech na 2 desetinná místa.

Hmotnost vzorku (bobulí) m_z po sušení se vypočítá dle rovnice 15:

$$m_z = m_{celk} - m_{miska} \quad 15$$

kde m_{celk} je hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g], m_{miska} je hmotnost suché prázdné misky [g].

Výpočet vlhkosti w_v v hmotnostních procentech se vypočítal odečtením hmotnostních procent sušiny od celku (100 %)

$$w_v = 100 - w_z \quad 16$$

3.4.3 Stanovení cukerné sušiny refraktometricky

Refraktometrem se zjistí pozměněný index lomu, který je ovlivněn rozpuštěnými látkami v roztoku. Vymačkaná šťáva nebyla nijak upravena.

Připravil se refraktometr, tak že se šetrně se omyly hranoly refraktometru vodou a ethanolem. Nejdříve se refraktometr kalibroval na vodu, která se kápla mezi hranoly. Hodnota indexu lomu vody je 1,333. Přibližná teplota byla mezi 20,9 °C a 21,6 °C.

Samotné vzorky se nanášely na povrch hranolu pomocí tyčinky a ze stupnice se odečítaly hodnoty indexu lomu a procenta cukerné sušiny. Měřily se 3 paralelní stanovení a-c pro každou odrůdu, z kterých se následně vypočítal průměr a směrodatná odchylka.

3.4.4 Měření pH šťávy z bobulí, stanovení titrační kyselosti

Měření pH a titrační kyselosti souvisí s obsahem přítomných minerálních a organických kyselin. Bylo naváženo přibližně 4 g klikvy a 6 g brusinek a z bobulí byla vymačkána šťáva. Její objem byl zjištěn odměrným válcem a pak se kvantitativně převedla zpět do kádinky destilovanou vodou o objemu 20 ml.

Pro standardizaci odměrného roztoku hydroxidu sodného se připravil roztok kyseliny šťavelové o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ve 100ml odměrné baňce. Vypočítala se navážka pro dihydát podle vzorce 4, která se zvažila přesně na 4 desetinná místa. Skutečná hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové je $m_{C_2H_2O_4} = 0,6355 \text{ g}$ a její přesná koncentrace roztoku $0,05041 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Navážka se kvantitativně se převedla do baňky a doplnila se destilovanou vodou. Pro titraci bylo pipetováno 10 ml roztoku kyseliny šťavelové, přidalo se pár kapek fenolftaleinu a roztok byl titrován hydroxidem sodným do prvního růžového zbarvení. Spotřeba hydroxidu sodného na standardizaci byla 10,1, 10,0 a 9,9 ml. Podle vzorce 4 se vypočítala přesná koncentrace hydroxidu, která je $c_{NaOH} = 0,1008 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Stanovení pH i titrační kyselosti ve šťávě pro každou odrůdu provedeno dvakrát. Na první měření se odebralo 10 ml zředěného vzorku a druhé měření probíhalo ve zbylém objemu. Nejdříve se do kádinky, která byla na míchačce ponořila kombinovaná pH elektroda pro změření počátečního pH šťávy, poté se byretou přikapával standardizovaný roztok NaOH do

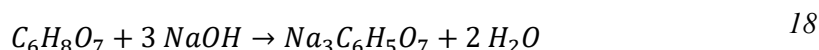
hodnoty přibližně pH = 8,1. Přikapávání se zastavilo a odečetl se spotřebovaný objem roztoku.

Z odečteného objemu hydroxidu se vypočítala koncentrace H⁺ iontů, charakterizující titrační kyselost (rovnice 17), která má jednotky mmol·l⁻¹.

$$c(\text{H}^+) = \frac{1000 \cdot c_{\text{NaOH}} \cdot V'}{V} \quad 17$$

kde c_{NaOH} je přesná koncentrace standardizovaného roztoku hydroxidu sodného [mol·l⁻¹], V' je objem hydroxidu, který se přikapal do hodnoty pH = 8,1 [ml] a V objem měřeného vzorku [ml].

Poté se titrační kyselost přepočítala na převažující kyselinu v ovoci, a to na kyselinu citrónovou, která má jednotky mg·l⁻¹ a rovnice reakce probíhá dle 18:



$$m_{\text{citr}} = \frac{c(\text{H}^+) \cdot M}{3} \quad 19$$

kde M je molární hmotnost kyseliny citrónové 192,1 g·mol⁻¹. Pro přepočet kyseliny citrónové v celkové navážce bobulí se užije vzorec 20:

$$x = \frac{m_{\text{citr}}}{m_{\text{navážka}}} \quad 20$$

kde m_{citr} je zjištěný obsah kyseliny citrónové v mg a $m_{\text{navážka}}$ je původní navážka bobulí v g. Popřípadě se přepočítal obsah kyseliny citrónové na 100 g bobulí.

3.4.5 Stanovení celkového obsahu fenolických látek

Nejdříve byla sestavena kalibrační křivka kyseliny gallové. Řada kalibračních roztoků se připravila do odměrných baněk o objemu 50 ml a koncentracích 100, 200, 300, 400, 500 mg·l⁻¹ kyseliny gallové. Navážka pro jednotlivé koncentrace přepočítaná na g se vypočítala z rovnice 211 a podle skutečné navážky se vypočítala přesná koncentrace kyseliny v kalibračním roztoku.

$$m_{\text{navážka}} = c \cdot V \quad 21$$

kde c je koncentrace kyseliny gallové, který představuje jeden bod kalibrační křivky [$\cdot 10^{-3}$ g·l⁻¹], V je objem odměrné baňky [ml].

Roztok se zamíchal a nechal se stát 5 minut. Poté se přidal 1 ml nasyceného roztoku uhličitánu sodného a opět se zamíchal. Po 15 minutách se ihned měřila absorbance na UV-VIS spektrofotometru při $\lambda = 750$ nm oproti slepému vzorku. Slepý vzorek byl stejného složení a postupu, jen místo kyseliny gallové se přidala destilovaná voda.

Vzorky šťáv bobulek jednotlivých odrůd byly následně přefiltrovány. Každý vzorek se zředil 10x do předem označené zkumavky. Příprava reakční směsi byla stejná jako u kyseliny gallové, jen místo kyseliny gallové se přidával zředěný vzorek. Všechny vzorky byly měřeny 3krát a celkově pro 9 vzorků bylo naměřeno 27 absorbancí.

Koncentrace fenolických látek v jednotlivých vzorcích byla vypočítána z kalibrační křivky kyseliny gallové. Obsah fenolických látek ve vzorcích byl přepočítán na mg v g počáteční navážce bobulí, resp. na navážku 100 g bobulí podle následujícího vzorce 22:

$$x_{fenol} = \frac{c_{fenol}}{m_{navážka}} \quad 22$$

3.4.6 Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda

Pro standardizaci manganistanu draselného se připravil $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztok kyseliny šťavelové dle výše uvedených postupů. Skutečná navážka kyseliny šťavelové byla $m_{C_2H_2O_4} = 0,6377 \text{ g}$ a její vypočítaná koncentrace $c_{C_2H_2O_4} = 0,0506 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Ze spotřeby NaOH, která byla 9,2, 9,1 a 9,0 ml se zjistila přesná koncentrace $0,02 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku manganistanu draselného. Ta výpočtem podle vzorce 12 vyšla $c_{MnO_4^-} = 0,0222 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Na předvázkách se od každé odrůdy navážilo 3–4 g bobulí a příprava šťávy byla stejná jako předešlé, jen se nefiltrovala. Označily se 100ml odměrné baňky 1 až 9 a do každé se navážilo 1 ml šťávy s přesností na 1 mg. Baňka se doplnila destilovanou vodou a promíchala se.

Připravila se směs Fehlingových roztoků 1 a 2 do Erlenmeyerovy baňky, od každého roztoku se pipetovalo 20 ml a zahřeje se na $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně se přidalo 10 ml zředěného vzorku a směs se přivela k varu a udržuje se 2 minuty. Okamžitě se baňka schladila proudem studené vody, aby vznikla sraženina oxidu měďného. Následně se filtrovalo přes fritu a promývalo se horkou vodou. Po promytí se vyměnila filtrační baňka a sraženina se na fritě rozpouštěla postupně s 30-50 ml roztoku síranu železitého. Odsávací baňka s filtrátem se ihned titrovala odměrným roztokem manganistanu draselného do slabě růžového zbarvení.

Každý z devíti vzorků se stanovil 3krát. Z průměrné spotřeby odměrného roztoku se přímou úměrou stanoví obsah redukujících cukrů v mg. Dle literatury se spotřeba 1 ml manganistanu draselného ($0,02 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) rovná 3,315 mg redukujících cukrů [21].

3.4.7 Stanovení anthokyanů pH-diferenciální metodou

Principem metody je reverzní změna struktury anthokyanů způsobené různou hodnotou pH. To zapříčiní jiné zbarvení a absorbanci. Maximum absorpčního spektra anthokyanů je mezi 510 – 520 nm.

Na předvázkách se zvažilo mezi 10–11 g bobulí každého druhu. Následně se přes gázu ručně vymačkala šťáva do kádinek a zfiltrovala se přes filtrační papír. Do první sady zkumavek pro pH = 4,5 se pipetovalo 0,5 ml nezředěného vzorku, který se doplnil 2,5 ml acetátového pufru.

Do druhé sady pro pH = 1 se pipetovalo stejné množství vzorku a také 2,5 ml chloridového pufru. Pro druhou sadu se vzorky ředily. Klikvy (číslo odrůdy 1 – 3) se zředily 1:2 a brusinky (číslo odrůdy 4–9) se zředily 1:1 pomocí pufru.

U obou sad se nejdříve měřila absorbance při vlnové délce 510 nm (konkrétně pro kyanidin–3–galaktosid) a u každého vzorku se měřila absorbance 3x. Poté se měřila absorbance při 700 nm po obě hodnoty pH. Pro obě vlnové délky se jako blank se použil příslušný pufr.

V průběhu přípravy vzorku na měření se kontrolovalo pomocí pH metru a skleněnou elektrodou stálost hodnoty pH.

Výsledná absorbance se vypočítala dle vzorce 23 a pomocí ní se vypočítal celkový obsah anthokyanů dle vzorce 24 a vyjde v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=4,5} \quad 23$$

$$c = \frac{1000 \cdot A \cdot M}{\varepsilon \cdot l} \quad 24$$

kde A je vypočtená celková absorbance [–], $A_{510,700}$ je absorbance roztoku při 510 nm, resp. 700 nm [–], M je molekulová hmotnost pro kyanidin-3-glukoid $449,2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, V je objem vzorku [ml], ε je extinkční koeficient kyanidinu-3-galaktosidu $26900 \text{ dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, l je délka kyvety 1 cm.

3.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Pro vlastní zpracování výsledků jsou vzorky, které měly paralelní stanovení, ze kterých byla vypočítána průměrná hodnota v programu MS Excel pomocí funkce „průměr“. Směrodatná odchylka se vypočítala zadáním funkce „smodch.výběr.s“ a odchylka rozšířena pro interval spolehlivosti 95 % s pomocí funkce „confidence.t“. Pro přehlednost jsou průměrné hodnoty výsledků vyneseny jako sloupcové diagramy a nejistoty měřený vyneseny jako chybové úsečky.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

První stanovení bylo určit orientačně výtěžnost surové šťávy ručním vymačkáním. Takto vymačkaná šťáva sloužila ke všem provedeným chemickým analýzám, kromě sušení.

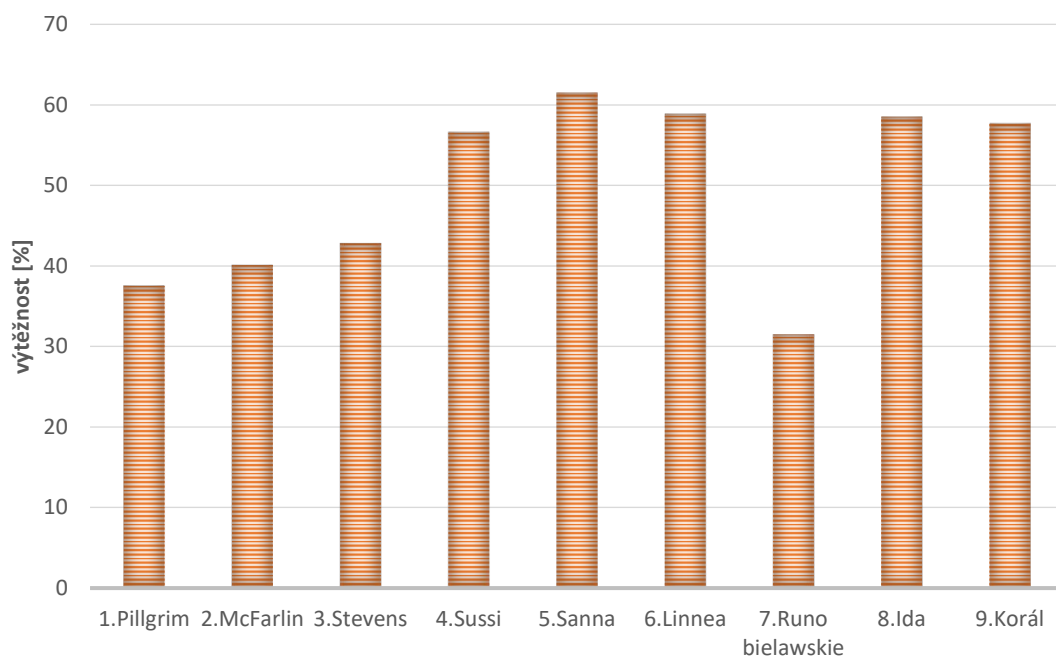
Sušina se stanovila sušením a rozpustná – cukerná sušina se stanovila refraktometricky ze šťávy. Potenciometricky se měřilo pH a stanovení titrační kyselosti, která se přepočítala na kyselinu citrónovou. Pro stanovení redukujících cukrů byla vybrána metoda podle Bertranda. Zfiltrovaná šťáva se použila na měření fenolických látek jako ekvivalent kyseliny gallové a na měření absorbance anthokyanů při různém pH. V diskuzích jsou okomentované výsledné hodnoty naměřených dat, případné porovnání s daty, které uvádí literatury s podobným stanovením.

4.1 Stanovení výtěžnosti šťávy

Výtěžnost šťávy vychází z jednoho stanovení podle návodu z kapitoly 3.4.1. Bobulky se vymačkaly v rukavicích přes gázu po vytažení z mrazničky. Šťáva se nijak dále nefiltrovala ani neupravovala. Následující tabulka 10 uvádí výsledné hodnoty, které jsou dále znázorněny v grafu 2.

Tabulka 9 *Výsledné hodnoty*

	Výtěžnost x [%]
1. Pillgrim	37,54
2. McFarlin	40,09
3. Stevens	42,81
4. Sussi	61,50
5. Sanna	56,61
6. Linnea	58,87
7. Runo bielawskie	31,49
8. Ida	58,53
9. Korál	57,67



Graf 2 Výťažnost surové šťávy

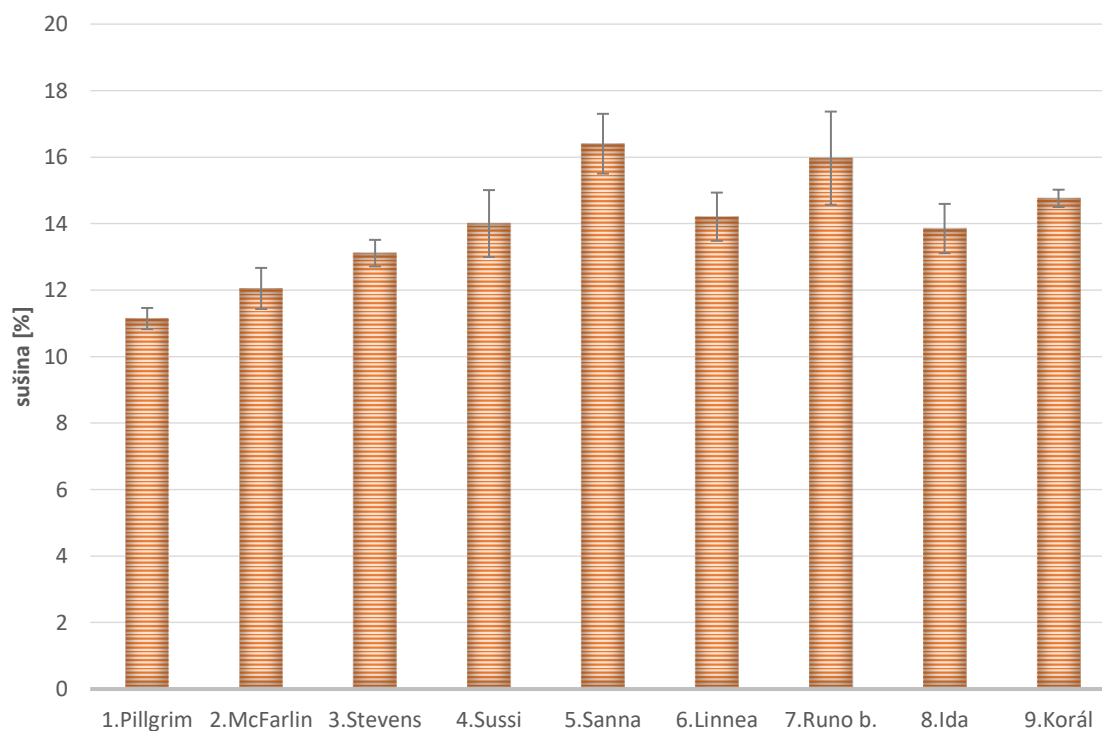
Z výsledků se dá shrnout, že výtěžnost u klikvy je do 50-ti procent a u brusinky ji mají nad 50 % s výjimkou odrůdy Runo bielawskie. Brusinky s nejvyššími hodnotami výtěžnosti – Sussi, Sanna, Linnea, Ida a Korál jsou vhodné na výrobu šťáv a nápojů.

4.2 Stanovení sušiny sušením

Sušení probíhalo podle kapitoly 3.4.2, stanovení byla celkem 3 a pro každý druh se stanovovaly 3 paralelní stanovení. V tabulce 11 a v grafu 3 jsou uvedeny výsledné hodnoty množství sušiny.

Tabulka 10 Výsledné hodnoty

	Wsušina [%]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	11,14	0,41
2. McFarlin	12,05	0,80
3. Stevens	13,11	0,52
4. Sussi	14,00	1,31
5. Sanna	16,40	1,17
6. Linnea	14,21	0,94
7. Runo b.	15,97	1,80
8. Ida	13,85	0,96
9. Korál	14,76	0,34



Graf 3 Sušina stanovená sušením

Obsah sušiny klikvy je si přibližně stejná. Brusinky mají obsah sušiny různý. Odrůda Runo bielawskie má sušiny nejvíc. Jeho největší podíl sušiny může souviset s nízkou výtěžností šťávy.

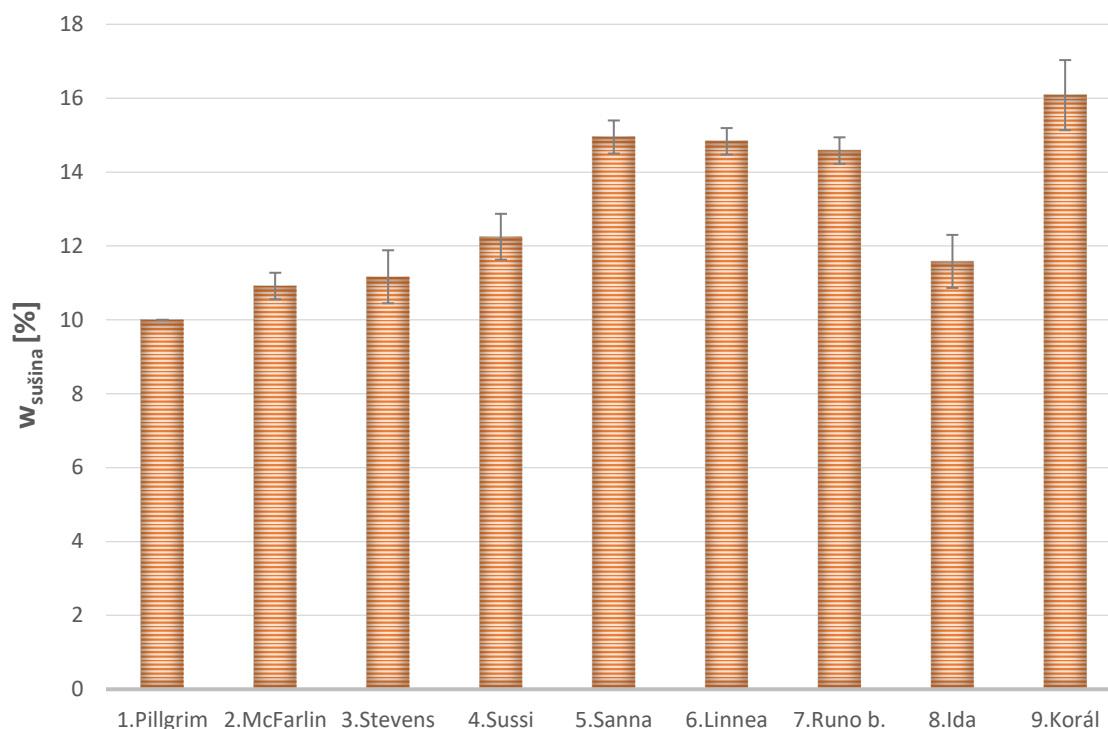
V rešerši [32] zabývající se klikvou se uvádí, že obsahují velké množství vody a sušina se pohybuje v rozmezí 8–15 %, což se mé naměřené hodnoty do tohoto rozmezí vejdu. Pro brusinky literární údaje chybí.

4.3 Stanovení cukerné sušiny refraktometricky

Podle postupu uvedeném v kapitole 3.4.3 se stanovila refraktometrická sušina, ta je uvedena v hmotnostních procentech sacharózy, která se odečetla na stupnici v okuláru refraktometru. Každý vzorek byl měřen 3krát a z nich se vypočítal průměr a směrodatná odchylka.

Tabulka 11 *Výsledné hodnoty*

	w_{sušina} [%]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	10,00	0,00
2. McFarlin	10,92	0,14
3. Stevens	11,17	0,29
4. Sussi	12,25	0,25
5. Sanna	14,95	0,18
6. Linnea	14,83	0,14
7. Runo b.	14,58	0,14
8. Ida	11,58	0,29
9. Korál	16,08	0,38



Graf 4 Sušina stanovená refraktometricky

Z naměřených dat vyplývá, že rozpustné sušiny v klikvě je obdobné množství a méně než u většiny odrůd brusinky. Nejvíce cukerné sušiny má Korál, který je vhodný pro potravinářské zpracování, kde se nemusí přidávat tolik cukru. Pro vysoký obsah sušiny se může využít na výrobu sušeného ovoce, a navíc má i relativně vysokou výtěžnost šťávy.

Pro srovnání s literaturou je uveden obrázek 22, kdy například Sussi má 13,73 % sušiny v pyré a mnou naměřená sušina je 12,25 %, podobné hodnoty jsem naměřila i u Sanna a Korálu. Hodnoty u Linnaea a Ida se mi liší více od zmíněné literatury.

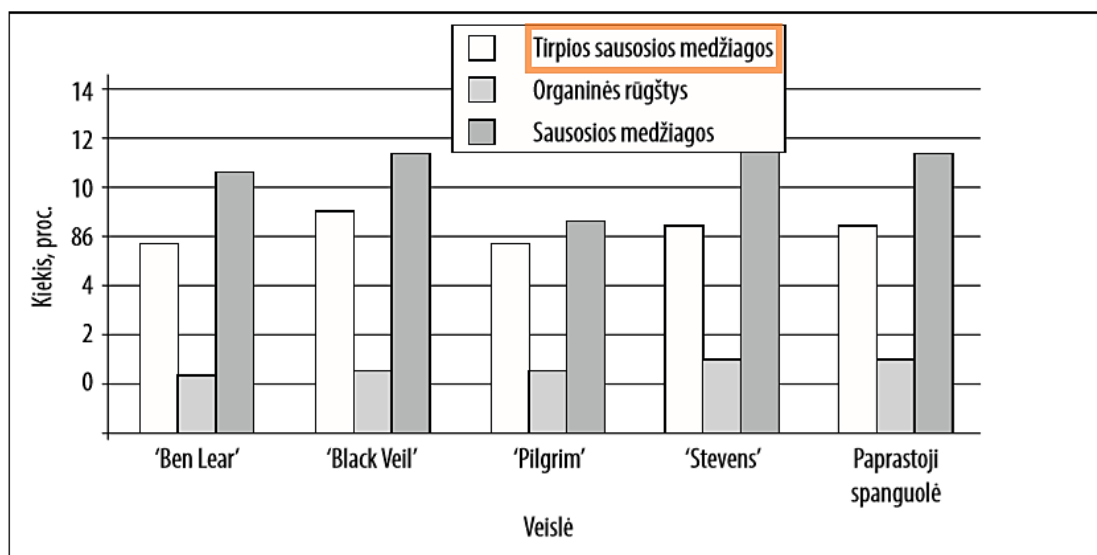
Obrázek 23 z literatury pro klikvu, má trochu posunutou stupnici a není zde uvedena metoda měření. Ale dle textu by se měla pohybovat mezi 8,33 - 8,53 % sušiny u všech uvedených druhů klikvy. Pro srovnání byla pro odrůdu Pilgrim nalezena hodnota o něco vyšší rozpustnou sušinu než v uvedené literatuře.

Table 3. Brix, pH and titratable acidity for purees made from the frozen fruit of 10 lingonberry genotypes grown in Corvallis, Ore. in 2003.

	Brix ^z	pH	Titratable acidity ^z		Anthocyanins ^z (mg/100 g)
8723-10	19.19 a	3.33 ab	1.44	cd	27.22 e
87102-3	17.98 a-c	3.10 c	2.10	ab	35.34 cd
8724-49	16.28 b-d	3.24 bc	1.50	cd	32.62 d
Ida	15.39 de	3.22 bc	1.43	cd	44.45 a
Koralle	16.09 dc	3.24 bc	1.19	d	29.27 e
Linnea	18.29 ab	3.34 ab	1.41	cd	40.80 b
Red Pearl	17.66 a-c	3.39 a	1.58	c	12.26 g
Sanna	15.09 de	3.20 bc	1.61	c	34.85 cd
Splendor	17.91 a-c	3.15 c	2.30	a	23.52 f
Sussi	13.73 e	3.16 c	1.92	b	37.09 c

^z °Brix (percent soluble solids) at 20°C; titratable acidity= g citric acid/100 g fruit; anthocyanin expressed as cyanadin-3-glucoside.

Obrázek 21 Zastoupení rozpustné sušiny v brusince [30]



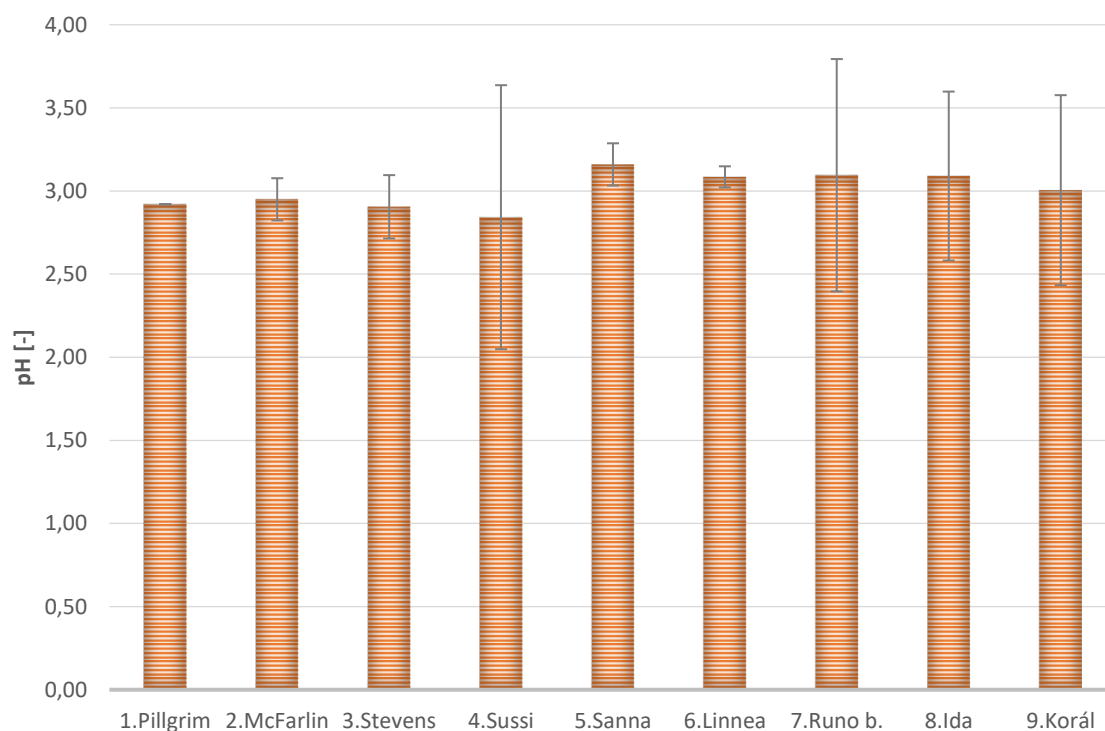
Obrázek 22 Zastoupení rozpustné sušiny (vyznačená) v klikvě [31]

4.4 Měření pH

Hodnoty pH se měřily 2x ve zředěném vzorku šťávy. Postupovalo se podle kapitoly 3.4.4. Celkový objem zředěného vzorku se pohyboval v rozmezí 20 až 23 ml a první měření pH bylo v 10 ml a druhé ve zbytku objemu. Následující tabulka 13 a graf 5 uvádějí výsledné hodnoty pH šťáv studovaných odrůd.

Tabulka 12 Výsledné hodnoty pH

	pH	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	2,92	0,00
2. McFarlin	2,95	0,01
3. Stevens	2,91	0,02
4. Sussi	2,84	0,09
5. Sanna	3,16	0,01
6. Linnea	3,09	0,01
7. Runo b.	3,10	0,08
8. Ida	3,09	0,06
9. Korál	3,01	0,06



Graf 5 Hodnoty pH pro studované šťávy

Naměřená hodnota pH pro brusinku a klikvu se pohybuje kolem hodnoty 3. To vypovídá i o jejich stanovištích růstu a potřebných živinách, které přijímají. Nízké pH lze brát i jako vhodný parametr při zpracování těchto bobulí do výrobků. Není třeba nadbytečných konzervačních látek, protože většina škodlivých mikroorganismů nepřežívají tak nízké pH.

V obrázku 19 z literatury [30] se pH pro brusinku pohybuje mezi 3,1 a 3,4 a pro klikvu na obrázku 20 v průměru je pH 4,34. Příčinou rozdílů pH může být v předběžném zpracování obou plodů. Pro brusinku bylo pH měřeno v pyré, u klikvy po rozmačkání. Další možností může být, že dodané bobulky odrůd klikvy nebyly dostatečně zralé. Proto naměřené hodnoty pH jsou nižší než na obrázku 25.

Table 3. Brix, pH and titratable acidity for purees made from the frozen fruit of 10 lingonberry genotypes grown in Corvallis, Ore. in 2003.

	Brix ^z	pH	Titratable acidity ^z	Anthocyanins ^z (mg/100 g)
8723-10	19.19 a	3.33 ab	1.44 cd	27.22 e
87102-3	17.98 a-c	3.10 c	2.10 ab	35.34 cd
8724-49	16.28 b-d	3.24 bc	1.50 cd	32.62 d
Ida	15.39 de	3.22 bc	1.43 cd	44.45 a
Koralle	16.09 dc	3.24 bc	1.19 d	29.27 e
Linnea	18.29 ab	3.34 ab	1.41 cd	40.80 b
Red Pearl	17.66 a-c	3.39 a	1.58 c	12.26 g
Sanna	15.09 de	3.20 bc	1.61 c	34.85 cd
Splendor	17.91 a-c	3.15 c	2.30 a	23.52 f
Sussi	13.73 e	3.16 c	1.92 b	37.09 c

^z °Brix (percent soluble solids) at 20°C; titratable acidity= g citric acid/100 g fruit; anthocyanin expressed as cyanadin-3-glucoside.

Obrázek 23 Hodnoty pH pro brusinky [30]

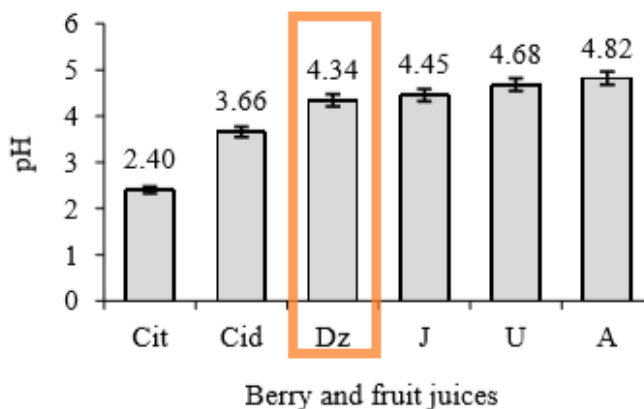


Figure. 3. The pH of berry and fruit juices
 U–black currants juice, J–red currants juice, Cit–lemon juice, Cid–quinice juice, Dz–cranberries juice, A–apple juice

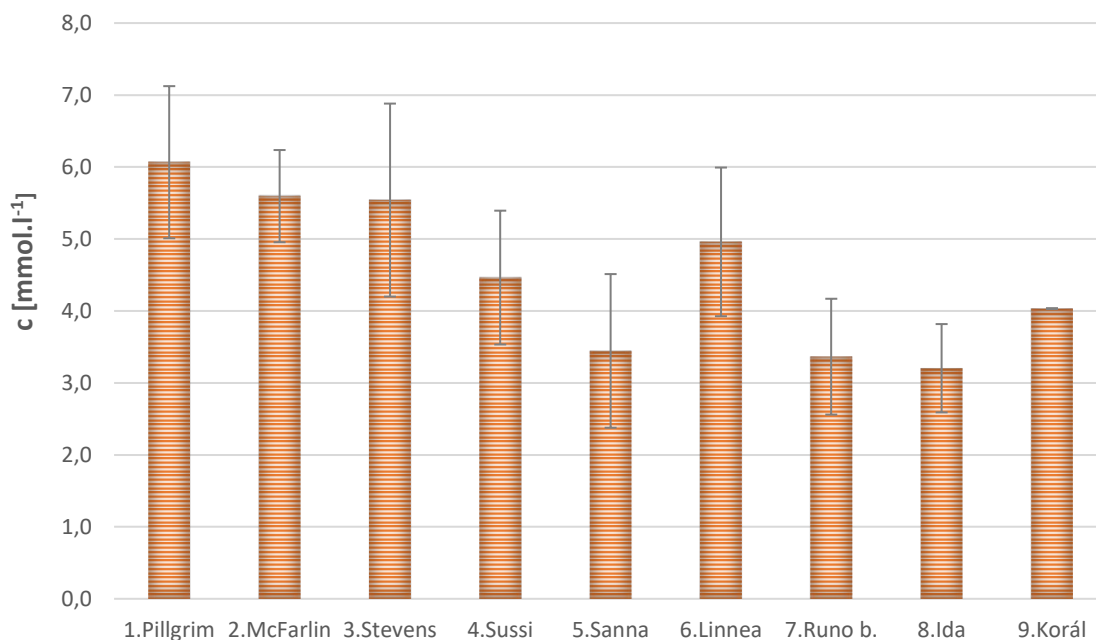
Obrázek 24 Hodnoty pH pro klikvu [29]

4.5 Stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost byla měřena podle postupu v kapitole 3.4.4 a vyjadřuje obsah volných, titrovatelných kyselin ve vzorku.

Tabulka 13 Výsledné hodnoty pro titrační kyselost

	c_{H^+} [mmol.l ⁻¹]	Směrodatná odchylka	x_{citr} [mg na 100 g navážky]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	6,07	0,12	1,55	0,03
2. McFarlin	5,60	0,07	1,38	0,02
3. Stevens	5,54	0,15	1,24	0,03
4. Sussi	4,46	0,10	2,39	0,06
5. Sanna	3,44	0,12	1,85	0,06
6. Linnea	4,96	0,11	2,87	0,07
7. Runo b.	3,36	0,09	1,90	0,05
8. Ida	3,20	0,07	1,83	0,04
9. Korál	4,03	0,00	2,06	0,00



Graf 6 Stanovení titrační kyselosti výpočtem

Z výsledku vyplývá, že v klikvě je více titrovatelných kyselin než v brusince. Pro srovnání s literaturou je titrační kyselost přepočítána na převažující kyselinu (citrónovou) v miligramech na navážku bobulí v gramech, hodnoty jsou uvedené v tabulce 13.

Na obrázku 25 jsou uvedeny kyseliny citrónové v gramech na 100 g vzorku brusinky. Nalezené hodnoty například pro Sanna je 1,85 g na 100 g, ta je nepatrně vyšší než podle literatury. Pro další zmíněné kultivary vyšly hodnoty značně vyšší (Sussi 2,39 g/100g, Linnea 2,87 g/100g, Ida 1,83 g/100 g a Korál 2,06 g/100g).

Pro klikvu na obrázku 26 je titrační kyselost stanovena na 2,7 mmol.l⁻¹. Nalezená hodnota se pohybovala mezi 5-6 mmol.l⁻¹.

Table 3. Brix, pH and titratable acidity for purees made from the frozen fruit of 10 lingonberry genotypes grown in Corvallis, Ore. in 2003.

	Brix ^z	pH	Titratable acidity ^z	Anthocyanins ^z (mg/100 g)
8723-10	19.19 a	3.33 ab	1.44 cd	27.22 e
87102-3	17.98 a-c	3.10 c	2.10 ab	35.34 cd
8724-49	16.28 b-d	3.24 bc	1.50 cd	32.62 d
Ida	15.39 de	3.22 bc	1.43 cd	44.45 a
Koralle	16.09 dc	3.24 bc	1.19 d	29.27 e
Linnea	18.29 ab	3.34 ab	1.41 cd	40.80 b
Red Pearl	17.66 a-c	3.39 a	1.58 c	12.26 g
Sanna	15.09 de	3.20 bc	1.61 c	34.85 cd
Splendor	17.91 a-c	3.15 c	2.30 a	23.52 f
Sussi	13.73 e	3.16 c	1.92 b	37.09 c

^z°Brix (percent soluble solids) at 20°C; titratable acidity= g citric acid/100 g fruit; anthocyanin expressed as cyanadin-3-glucoside.

Obrázek 25 Titrační kyselost pro brusinku [30]

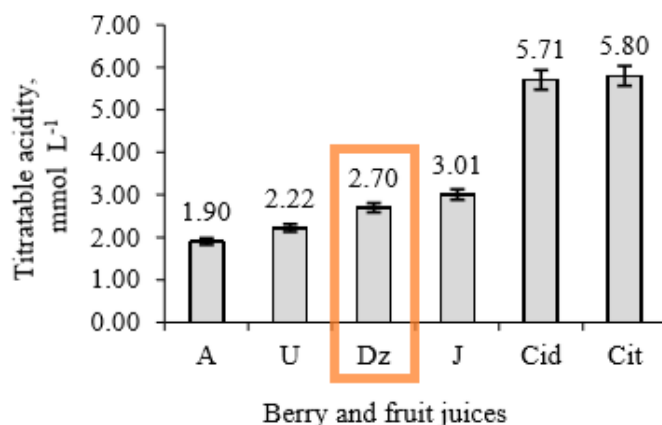


Figure 4. The titratable acidity of berry and fruit juices

U – black currants juice, J – red currants juice, Cit – lemon juice, Cid – quinice juice, Dz – cranberries juice, A – apple juice

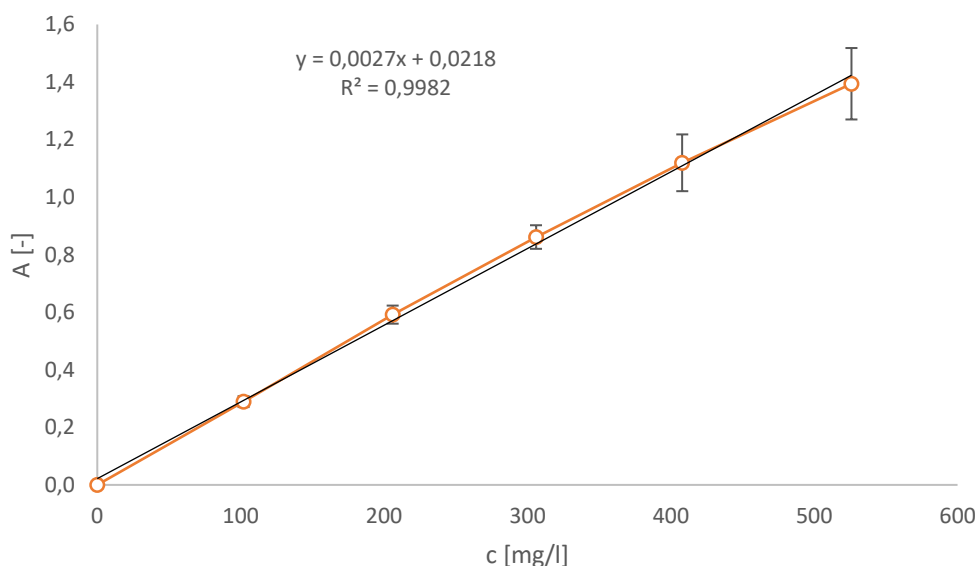
Obrázek 26 Titrační kyselost pro šťávu z klikvy [29]

4.6 Stanovení celkových fenolických látek

Nejdříve bylo nutno sestavit kalibrační křivku kyseliny gallové. Postup práce probíhal podle kapitoly 3.4.5. Body 400 a 500 bylo nutno před měřením zředit 1:1, kvůli překročení lineárního rozsahu přístroje. Po vynesení kalibračních bodů do grafu a proložení přímkové závislosti byla získána následující rovnice 25 a graf 7.

$$A = 0,0024 \cdot c + 0,0218$$

25

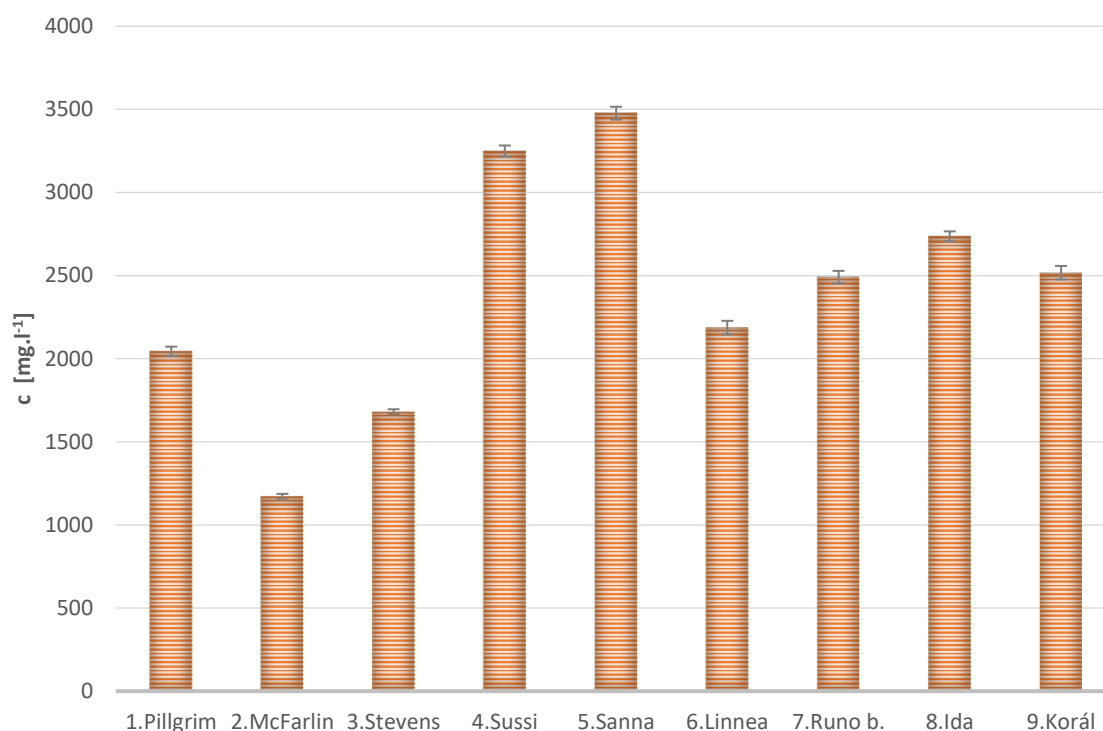


Graf 7 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Poté byl stanovován celkový obsah fenolických látek ve vzorcích šťáv studovaných odrůd. Postup měření byl stejný jako v případě kalibrační závislosti kyseliny gallové, tj. podle kapitoly 3.4.5. Každý vzorek šťávy byl analyzován 3krát, z naměřených hodnot byl spočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka. Výsledné hodnoty uvádí tabulka 14 a Graf 8.

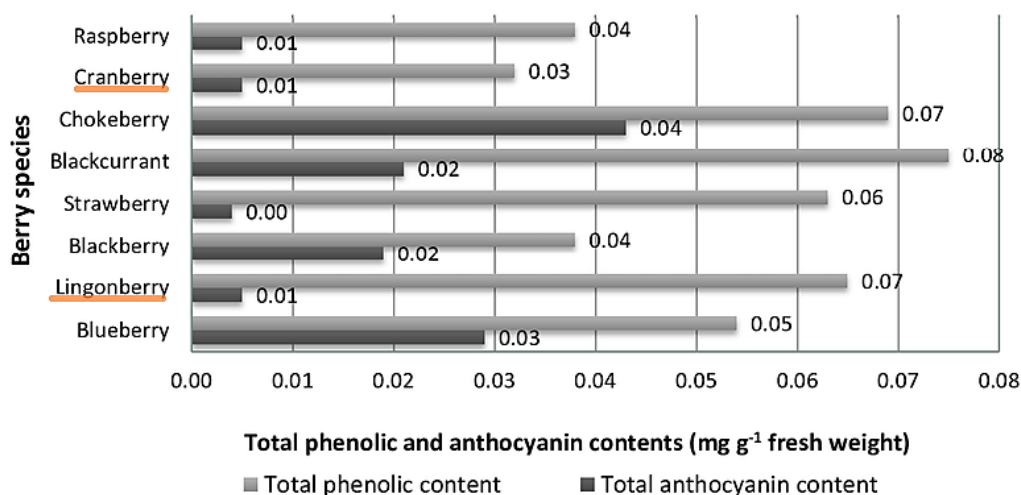
Tabulka 14 Obsah celkových fenolů ve vzorcích šťáv

	c [mg.l ⁻¹]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	2044,51	11,26
2. McFarlin	1172,66	5,73
3. Stevens	1681,76	5,73
4. Sussi	3249,10	13,53
5. Sanna	3476,75	15,62
6. Linnea	2187,11	16,36
7. Runo b.	2491,07	15,01
8. Ida	2736,24	12,06
9. Korál	2517,34	16,36



Graf 8 Celková koncentrace fenolických látek ve šťávách brusinky a klikvy

Naměřené hodnoty ukazují více fenolických látek v brusinkách a to hlavně v odrůdách Sanna a Sussi. Dle obrázku 27 je v brusinkách obsaženo 0,07 mg na navážku 1 g bobulí a v klikvě 0,03 mg na navážku 1 g bobulí.



Obrázek 27 Obsah fenolických látek v brusinkách (lingonberry) a v klikvě (cranberry) [9]

Mnohé studie se zabývají stanovením obsahu fenolických látek v brusinkách a v klikvě. Publikovány jsou rozdílné hodnoty, např. od 100,4 mg/100 g až po 374,7 mg/100 g [33].

4.7 Stanovení redukujících cukrů dle Bertranda

Podle postupu stanovení uvedeného v kapitole 3.4.6 byly analyzovány vzorky šťáv z 9 odrůd brusinek a klikvy. Každý vzorek byl stanovován 3krát, byl spočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

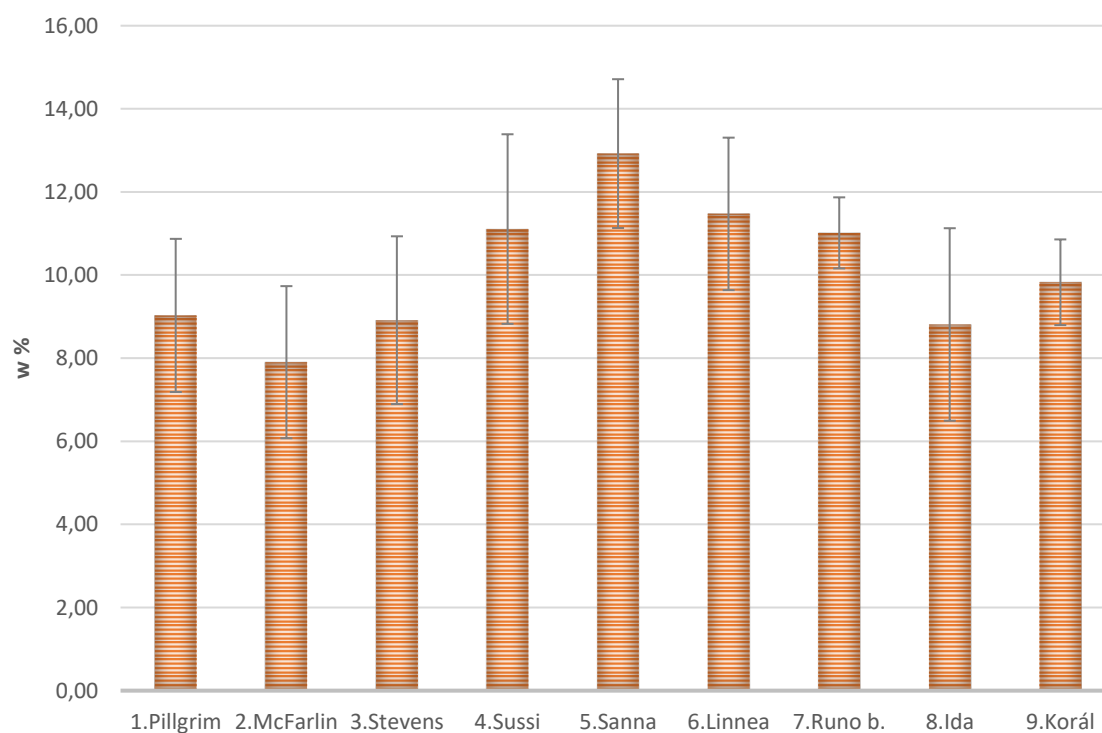
Přepočet redukujících cukrů dle literatury má pro koncentraci 0,02 mol.l⁻¹ manganistanu odpovídat 3,315 mg cukru v objemu 1 ml. Pomocí přímé úměry se vypočítá obsah cukrů na vlastní koncentraci manganistanu:

$$x = \frac{0,0222 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot 3,315 \text{ mg}}{0,02 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}} = 3,6871 \text{ mg}$$

V tabulce 15 a grafu 9 jsou uvedené hodnoty hmotnostních procent.

Tabulka 15 Výsledné hodnoty pro redukující sacharidy

	w [%]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	9,03	0,74
2. McFarlin	7,90	0,74
3. Stevens	8,91	0,81
4. Sussi	11,11	0,92
5. Sanna	12,92	0,72
6. Linnea	11,47	0,74
7. Runo b.	11,01	0,34
8. Ida	8,81	0,93
9. Korál	9,83	0,42



Graf 9 Celkový obsah redukujících cukrů stanovených podle Bertranda

V klikvě je méně redukujících cukrů než v brusinkách. Z literatury je na obrázku 28 uvedena hodnota pro odrůdu Pilgrim 4,94 % a pro Stevens 5,00 %. Naměřené experimentální hodnoty jsou skoro 2x vyšší.

Table 3 Sugar amounts in the berries of various large and small cranberry cultivars

Cultivar	Total sugars, %	Reducing sugars, %	Sucrose, %
Vaccinium macrocarpon			
Bergman	6.46	5.34	1.12
Stevens	5.23	5.00	0.23
Ben Lear	8.04	5.27	2.77
Black Veil	5.23	5.14	0.09
Pilgrim	5.47	4.94	0.53
Lemunyon	4.57	4.46	0.11
Vaccinium oxycoccos			
Soontagana	6.83	5.47	1.36
Virussare	7.92	5.27	2.65
Maima	6.75	6.52	0.23

Obrázek 28 Redukující cukry pro klikvu [32]

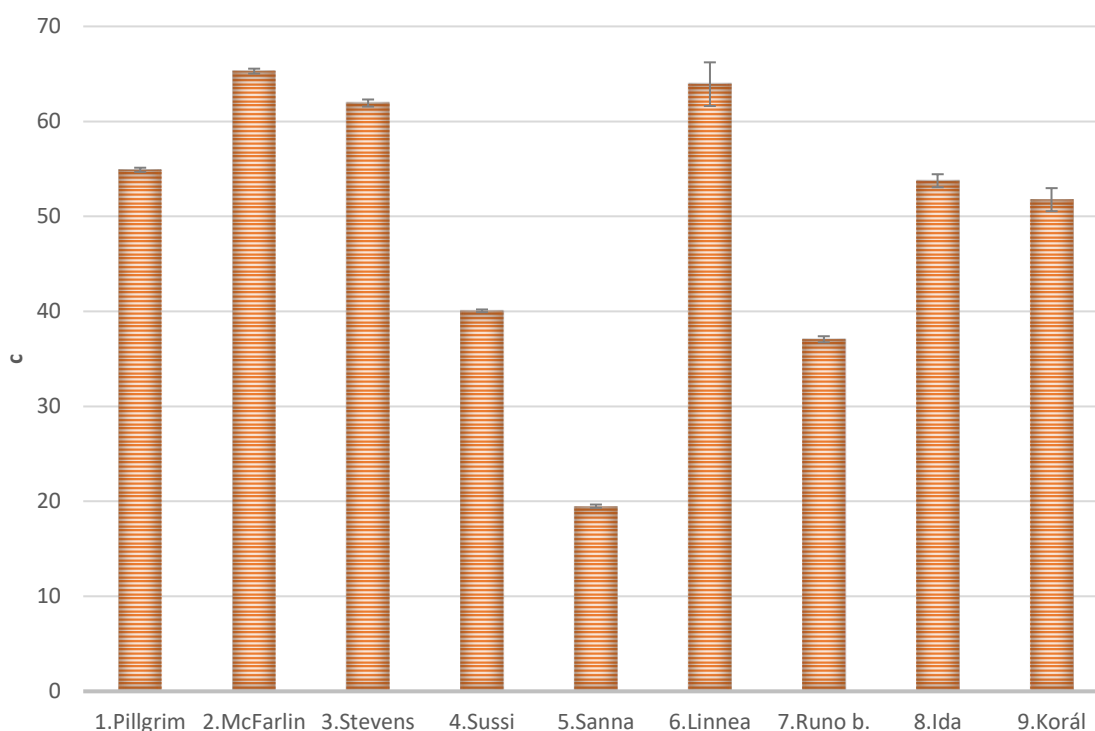
4.8 Stanovení anthokyanů spektrofotometricky

Podle postupu stanovení uvedeného v kapitole 3.4.7 byly analyzovány vzorky šťáv 9 odrůd brusinek a klikvy. Každý vzorek byl stanovován 3krát, byl spočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka. Obsah celkových anthokyanů byl přepočten na majoritní anthokyan, a to na kyanidin-3-glukosid

Pro měření při $\text{pH} = 1$ se vzorky klikvy ředily 2x a vzorky brusinky 3x. V tabulce výsledných hodnot a grafu jsou uvedeny hodnoty pro nezředěné vzorky.

Tabulka 16 Výsledné hodnoty celkových anthokyanů

	c [mg/l]	Směrodatná odchylka	x [mg na 100 g navážky]	Směrodatná odchylka
1. Pillgrim	54,91	0,09	43,08	0,07
2. McFarlin	65,29	0,10	55,57	0,09
3. Stevens	61,94	0,15	53,50	0,13
4. Sussi	40,06	0,06	33,97	0,05
5. Sanna	19,49	0,07	16,59	0,06
6. Linnea	63,92	0,93	56,25	0,81
7. Runo b.	37,07	0,13	34,40	0,12
8. Ida	53,75	0,28	50,57	0,26
9. Korál	51,76	0,49	43,17	0,41



Graf 10 Graf obsahu anthokyanů

V klikvě je více anthokyanů, než ve většině analyzovaných brusinek. Blíží se jim nejvíce Linnea. Porovnání nalezených hodnot koncentrací s hodnotami na obrázku 29 vyplývá, že odrůda Sussi, Linnea, Ida mají podobné výsledky. Nalezená hodnota pro Sanna byla menší než v na obrázku 29 a Korál měl zase větší hodnoty. Pro klikvu se může pro srovnání použít obrázek 27, který udává 0,01 mg/1g anthokyanových barviv.

Stejně jako u celkových fenolických látek, tak i v případě celkových anthokyanů uvádí literatura velmi rozdílné výsledky, např. 12,4 až 207,3 mg/100 g. Do tohoto rozmezí nalezené hodnoty náleží [33].

Table 3. Brix, pH and titratable acidity for purees made from the frozen fruit of 10 lingonberry genotypes grown in Corvallis, Ore. in 2003.

	Brix ^z	pH	Titratable acidity ^z	Anthocyanins ^z (mg/100 g)
8723-10	19.19 a	3.33 ab	1.44 cd	27.22 e
87102-3	17.98 a-c	3.10 c	2.10 ab	35.34 cd
8724-49	16.28 b-d	3.24 bc	1.50 cd	32.62 d
Ida	15.39 de	3.22 bc	1.43 cd	44.45 a
Koralle	16.09 dc	3.24 bc	1.19 d	29.27 e
Linnea	18.29 ab	3.34 ab	1.41 cd	40.80 b
Red Pearl	17.66 a-c	3.39 a	1.58 c	12.26 g
Sanna	15.09 de	3.20 bc	1.61 c	34.85 cd
Splendor	17.91 a-c	3.15 c	2.30 a	23.52 f
Sussi	13.73 e	3.16 c	1.92 b	37.09 c

^z°Brix (percent soluble solids) at 20°C; titratable acidity= g citric acid/100 g fruit; anthocyanin expressed as cyanadin-3-glucoside.

Obrázek 29 Obsah anthokyanů pro brusinku [32]

5 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo uvést botanický popis brusinky a klikvy, charakterizovat důležité účinné látky a uvést přehled vybraných metod základní chemické analýzy, včetně postupů stanovení fenolických látek a celkových anthokyanů. V experimentální části pak stanovit vybrané chemické parametry brusinkové a klikvové šťávy. Analyzovanými vzorky byla surová šťáva, která se ručně vymáčkala z bobulek a podle sepsaných postupů byly provedeny chemické analýzy.

Výtěžnost surové šťávy, byla stanovena jednou z důvodu menšího počtu bobulek, pro další měření se pak šťáva filtrovala nebo se navážila jen potřebná hmotnost pro dané měření. Pro klikvu se pohybovala v rozmezí 37–43 % a pro brusinku 30–62 %.

Sušina sušením byla stanovena pro klikvu v intervalu 11,14 % (Pilgrim) až 13,11 % (Stevens). Nejvíce sušiny měla brusinka Sanna 16,40 % a nejméně Ida 13,85 %.

Na refraktometru byly odečteny hodnoty cukerné sušiny pro klikvu v rozmezí 10,00–11,17 % a pro brusinku je rozmezí větší, tedy 11,58–16,08 %.

Při měření pH se zjistilo, že její hodnota se pohybuje kolem hodnoty 3. Nejvíce měla Sanna s $\text{pH} = 3,16$ a nejméně Sussi $\text{pH} = 2,84$. Pro zjištění titrační kyselosti se použily stejné vzorky jako pro měření pH šťávy. Vzorky byly doplněny 20 ml destilované vody a výsledný objem byl rozdělen na 2 měření (10 ml a zbytek). Nejvíce titrovatelných kyselin měla klikva McFarlin s obsahem $6,07 \text{ mmol.l}^{-1}$, a nejméně měla brusinka Idas obsahem $3,20 \text{ mmol.l}^{-1}$.

Celkové fenolické látky se stanovily z kalibrační křivky kyseliny gallové a to v hodnotách mezi $1172,66 \text{ mg}$ (McFarlin) až $3476,75 \text{ mg}$ (Sanna) na litr vzorku. Pro spektrofotometrické měření absorbance bylo třeba mít zfiltrované vzorky, které se následně 10x zředily.

Metodou podle Bertranda se vypočítaly redukující formy cukrů. Pro klikvu se pohybovaly hodnoty mezi 7,00-9,1 % a pro brusinku 9,00-13,00 %.

Spektrofotometrem se také stanovila přítomnost anthokyanu kyanidinu-3-galaktosidu. Vzorky se před měřením zředily 3x (klikva) a 2x (brusinka). Nejméně anthokyanů obsahovala brusinka Sussi a to $37,07 \text{ mg.l}^{-1}$. A nejvíce měla klikva McFarlin $65,29 \text{ mg.l}^{-1}$.

Na základě stanovených hodnot ve šťávách studovaného ovoce lze říci, že brusinky i klikva jsou cenným zdrojem biologicky aktivních látek. I když většina populace vzhledový rozdíl mezi nimi jen těžko postřehne, určitě by obojí ovoce mělo být více rozšířeno a využíváno.

6 POUŽITÉ ZDROJE

- [1] NOVÁK, František, Antonín, STARÝ, František. *Vyšší rostliny*. 2. upr. a dopl. vyd. Praha: Academia, 1972.
- [2] HORÁČEK, Petr. *Encyklopedie listnatých stromů a keřů*. Brno: Computer Press, 2007. ISBN 978-80-251-1708-8
- [3] PENHALLEGON, Ross. Lingonberry Production Guide for the Pacific Northwest. PNW 583 [online]. 2006, 12 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z: <https://catalog.extension.oregonstate.edu/pnw583>
- [4] KRESÁNEK, Jaroslav; KREJČA, Jindřich. *Atlas léčivých rostlin a lesných plodov*. Slovenská republika: OSVETA, 1999, ISBN 978-80-8063-292-2
- [5] DREYER, Eva-Maria a Wolfgang DREYER. *Stromy a keře: spolehlivé určování podle fotografií a popisů*. Praha: Beta-Dobrovský, 2004. Kapesní průvodce přírodou. ISBN 80-7306-133-3.
- [6] Sklizeň. *The Cranberry Marketing Committee USA* [online]. [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: www.cranberries-usa.eu/cz/AbisZ_ernte.php
- [7] WILLIAMSON, G., MANNACH, C., *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 93 intervention studies*, Am. J. Clin. Nutr. 2005, 81, 243S–255S.
- [8] PIIPPONEN-PIMI, R., Nohynek, L., Alakomi, H.-L., Oksman-Caldentey, K.-M., *Bioactive berry compounds – novel tools against human pathogens*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005, 67, 8–18.
- [9] MORTAŞ, Hande Mortaş a Nevin Sanlier SANLIER. Nutritional evaluation of comonly consumed berries: composition and health effects. Fruits. ISHS, 2017, (2), 5-23. DOI: 10.17660/th2017/72.1.1.
- [10] VELÍŠEK, Jan; HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 2009, ISBN 978-80-86659-16-9
- [11] KRATOCHVÍL, František. Kyselina benzoová [online]. [cit. 18.5.2019]. Dostupný na WWW: <http://www.epitesty.cz/pasports/B%20005.pdf>
- [12] MINDELL, Earl a Hester MUNDIS. *Nová vitaminová bible: vitaminy, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii*. Vyd. 3. Praha: Ikar, 2010. ISBN 978-80-249-1419-0.
- [13] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [14] VELÍŠEK, Jan a Karel CEJPEK. *Biosynthesis of food components*. Tábor: OSSIS, 2008. ISBN 978-80-86659-12-1
- [15] COULTATE, T. P., *Food, The Chemistry of Its Components*. School of Applied Science, South Bank Univesity, London. The Royal Society of Chemistry, 2001. ISBN 0-85404-513-9
- [16] Cranberries, raw. *United States Department of Agriculture Agricultural Research Service* [online]. [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?home=true>.
- [17] Lingonberry, raw. *DTU food, Department of nutrition, National Food Institute* [online]. [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: http://www.foodcomp.dk/v7/fcdb_details.asp?FoodId=0326
- [18] Změny barvy anthokyanů. Zdroj: PigAndPepper [Public domain], Wikimedia Commons, <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/Rotkohl-Indikator-Reaktionen.png>

- [19] KADLEC, Pavel. Technologie potravin I. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 300 s. ISBN 80708-0509-9
- [20] DRDÁK, Milan. Základy potravinářských technologií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 1996, 511 s. ISBN 80-967-0641-1.
- [21] HRSTKA, M., SOMROVÁ, L., Praktikum z analytické chemie potravín. Brno, 2007. Dostupné z: <https://moodle.vutbr.cz/course/view.php?id=185333>
- [22] GOLIÁŠ, Jan a Anna NĚMCOVÁ. Skladování a zpracování ovoce a zeleniny: (návody do cvičení). Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2009, 97 s. ISBN 978-80-7375-331-3.
- [23] KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [24] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [25] MORAVCOVÁ, Hana. *Analytická chemie: klasické metody I*. Ostrava: P. Klouda, 1999. ISBN 80-902155-8-0.
- [26] VONDRUŠKA, Milan a Oldřich STRÁNĚL. *Analytická chemie*. Praha: Československá redakce VN MON, 1990. Učební texty vysokých škol.
- [27] GIUSTI, Mónica a Ronald E. WROLSTAD. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Hoboken, NJ, USA, 2001, 2001. DOI: 10.1002/0471142913.faf0102s00. ISBN 0471142913. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- [28] PRÍBELA, Alexander. Analýza potravín. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1991. ISBN 80-227-0374-5
- [29] CINKMANIS, Ingmars Cinkmanis, Sanita Vucane VUCANE a Ilze Cakste CAKSTE. *Berry and fruit juices as potential untraditional acidity regulators in mashing*. FOODBALT [online]. 2014, 4 [cit. 2019-05-21]. Dostupné z: http://llufb.llu.lv/conference/foodbalt/2014/FoodBalt_Proceedings_2014-184-187.pdf
- [30] FINN, C.E. Finn a T. Mackey MACKEY. Growth, Yield, and Fruit Quality of 10 Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) Cultivars and Selections in the Pacific Northwest, USA. *U.S. Department of Agriculture- Agricultural Research Service* [online]. 2006, 2006, 6 [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/1718/PDF/2006/2006_Acta_Hort_715_289_294.pdf
- [31] DAUBARAS, Remigijus a Laima ČESONIENĖ. *STAMBIAUOGIŲ SPANGUOLIŲ PRAMONINIŲ PLANTACIJŲ ĮRENGIMAS*,: Rekomendacijos ūkininkams [online]. Vytauto Didžiojo universitetas: Versus Aureus, 2015 [cit. 2019-05-23]. ISBN ISBN 978-609-467-130-. Dostupné z: https://www.vdu.lt/wp-content/uploads/2015/09/2015_Spanguoles_irengimas_17p.pdf
- [32] ČESONIENĖ, Laima Česonienė a Remigijus Daubaras DAUBARAS. *Phytochemical Composition of the Large Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) and the Small Cranberry (*Vaccinium oxycoccos*)*. November 2015, 173-192 [cit. 2019-05-23]. DOI: 10.1016/B978-0-12-408117-8.00008-8.
- [33] BROWN, P. N., & SHIPLEY, P. R. (2011). Determination of Anthocyanins in Cranberry Fruit and Cranberry Fruit Products by High-Performance Liquid

Chromatography with Ultraviolet Detection: Single-Laboratory Validation. *Journal of Aoac International*, 94(2), 459–466.

- [34] SEDLÁČKOVÁ, L. *Extrakce biologicky aktivních látek z výlisků černého rybízu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 60 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
- [35] JÚNDRTOVÁ, S. *Extrakce bioaktivních látek z výlisků modrých hroznů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 60 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
- [36] DAVÍDEK, J. Sloučeniny ovlivňující barvu potravin [online]. [cit. 2015-01-25]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~dolezala/CHPS/11%20Látky%20barevné.pdf>

7 PŘÍLOHY

Seznam příloh:

- 7.1 Výtěžnost šťávy
- 7.2 Sušina sušením
- 7.3 Refraktometricky stanovená sušina
- 7.4 Stanovení pH šťávy
- 7.5 Titrační kyselost
- 7.5 Stanovení fenolických látek
- 7.7 Stanovení cukrů dle Bertranda
- 7.8 Stanovení anthokyanů spektrofotometricky
- 7.9 Shrnutí všech naměřených výsledků

7.1 Výtěžnost šťávy

	m[g]	V[ml]	výtěžnost [%]
1.Pilgrim	6,13	2,30	37,54
2.McFarlin	6,24	2,50	40,09
3.Stevens	6,54	2,80	42,81
4.Sussi	4,24	2,40	56,61
5.Sanna	4,23	2,60	61,50
6.Linnea	4,08	2,40	58,87
7.Runo b.	4,13	1,30	31,49
8.Ida	4,10	2,40	58,53
9.Korál	4,34	2,50	57,67

7.2 Sušina sušením

- Výchozí hmotnosti misek a navážky bobulí:

	m_{miska} , paralelní stan. [g]			m_n [g]		
	a	b	c	a	b	c
1.Pillgrim	23,6379	23,2665	23,2302	3,0171	4,3022	3,1700
2.McFarlin	23,5317	23,9507	23,3357	4,0323	3,0772	3,2748
3.Stevens	23,8368	22,7798	23,2891	3,4279	2,5720	2,1844
4.Sussi	23,4468	24,3561	23,7292	1,1563	1,3004	1,1018
5.Sanna	23,1943	23,0320	22,8269	0,8717	0,9642	1,1848
6.Linnea	26,2322	23,2960	23,2847	0,9893	0,7386	0,6910
7.Runo b.	22,4878	23,3950	26,3234	0,9528	1,0156	0,8780
8.Ida	23,5013	26,2952	24,2484	1,2722	1,1529	0,8664
9.Korál	23,6812	26,2159	26,2507	0,7906	0,9307	1,1191

- Hmotnost vzorků m_z po vysušení pro paralelní stanovení a, b a c:

	$m_{z,a}$ [g]			$m_{z,b}$ [g]			$m_{z,c}$ [g]		
	1.sušení	2.sušení	3.sušení	1.sušení	2.sušení	3.sušení	1.sušení	2.sušení	3.sušení
1.Pillgrim	0,3332	0,3276	0,3241	0,4762	0,4674	0,4620	0,3756	0,3691	0,3643
2.McFarlin	0,4909	0,4816	0,4754	0,3488	0,3438	0,3396	0,4315	0,4251	0,4204
3.Stevens	0,4493	0,4420	0,4359	0,3304	0,3257	0,3216	0,3043	0,3005	0,2968
4.Sussi	0,1854	0,1817	0,1779	0,1761	0,1717	0,1684	0,1467	0,1438	0,1413
5.Sanna	0,1369	0,1337	0,1301	0,1590	0,1552	0,1510	0,2175	0,2107	0,2046
6.Linnea	0,1319	0,1289	0,1268	0,1090	0,1064	0,1045	0,1066	0,1045	0,1024
7.Runo b.	0,1398	0,1365	0,1340	0,1667	0,1624	0,1592	0,1776	0,1437	0,1402
8.Ida	0,1634	0,1604	0,1575	0,1721	0,1679	0,1645	0,1264	0,1244	0,1223
9.Korál	0,1210	0,1187	0,1167	0,1377	0,1348	0,1322	0,1685	0,1649	0,1620

7.3 Refraktometricky stanovená sušina

- Index lomu

	a [-]	b [-]	c [-]	průměr [-]
1.Pillgrim	1,3475	1,3480	1,3480	1,3478
2.McFarlin	1,3490	1,3490	1,3490	1,3490
3.Stevens	1,3495	1,3495	1,3500	1,3497
4.Sussi	1,3515	1,3510	1,3510	1,3512
5.Sanna	1,3550	1,3555	1,3560	1,3555
6.Linnea	1,3550	1,3555	1,3555	1,3553
7.Runo b.	1,3550	1,3550	1,3555	1,3552
8.Ida	1,3505	1,3505	1,3515	1,3508
9.Korál	1,3570	1,3575	1,3580	1,3575

- Obsah cukerné sušiny

	a [%]	b [%]	c [%]	průměr [%]
1.Pillgrim	10,00	10,00	10,00	10,00
2.McFarlin	10,75	11,00	11,00	10,92
3.Stevens	11,00	11,00	11,50	11,17
4.Sussi	12,50	12,00	12,25	12,25
5.Sanna	14,75	15,00	15,10	14,95
6.Linnea	14,75	14,75	15,00	14,83
7.Runo b.	14,50	14,50	14,75	14,58
8.Ida	11,75	11,75	11,25	11,58
9.Korál	15,75	16,00	16,50	16,08

7.4 Stanovení pH šťávy

- Měření pH zředěné šťávy

	pH ₁ (V ₁)	pH ₂ (V ₂)	průměr pH
1.Pillgrim	2,92	2,92	2,92
2.McFarlin	2,94	2,96	2,95
3.Stevens	2,92	2,89	2,91
4.Sussi	2,78	2,91	2,84
5.Sanna	3,17	3,15	3,16
6.Linnea	3,08	3,09	3,09
7.Runo b.	3,04	3,18	3,11
8.Ida	3,05	3,13	3,09
9.Korál	3,05	2,96	3,01

7.5 Titrační kyselosti

- Měření objemů pro výpočet titrační kyselosti a jejich výsledky

	V [ml]		V' [ml] při pH=8,1		c(H ⁺) [mmol.l ⁻¹]		
	V ₁	V ₂	V' ₁	V' ₂	c ₁	c ₂	Průměr c
1.Pilgrim	10,00	12,30	6,10	7,30	5,98	6,15	6,07
2.McFarlin	10,00	12,50	5,50	7,00	5,65	5,54	5,60
3.Stevens	10,00	12,80	5,60	6,90	5,43	5,65	5,54
4.Sussi	10,00	12,40	4,50	5,40	4,39	4,54	4,46
5.Sanna	10,00	12,60	3,50	4,20	3,36	3,53	3,44
6.Linnea	10,00	12,40	5,00	6,00	4,88	5,04	4,96
7.Runo b.	10,00	11,30	3,40	3,70	3,30	3,43	3,36
8.Ida	10,00	12,40	3,13	4,00	3,25	3,16	3,20
9.Korál	10,00	12,50	4,00	5,00	4,03	4,03	4,03

7.6 Stanovení fenolických látek

- Hodnoty pro kalibrační křivku kyseliny gallové

Navážka m [g]	0,000	5,100	10,300	15,300	20,400	26,300
přesná konc. c [mg/l]	0,000	102,000	206,000	306,000	408,000	526,000
A ₁	0,000	0,298	0,594	0,861	1,164	1,378
A ₂	0,000	0,286	0,578	0,845	1,106	1,354
A ₃	0,000	0,284	0,603	0,878	1,088	1,450
průměr A	0,000	0,289	0,592	0,861	1,119	1,394

- Naměřené hodnoty pro nezřaděné vzorky

	m [g]	absorbance upravené pro nezřaděné vzorky				po vyjádření z rovnice kalibrační křivky				x
		A ₁	A ₂	A ₃	Průměr A	C ₁ [mg/l]	C ₂ [mg/l]	C ₃ [mg/l]	Průměr C [mg/l]	mg na g vzorku
1.Pillgrim	4,650	5,500	5,470	5,440	5,470	2055,77	2044,51	2033,25	2044,51	439,68
2.McFarlin	4,290	3,150	3,130	3,160	3,147	1173,91	1166,40	1177,66	1172,66	273,35
3.Stevens	4,620	4,490	4,500	4,520	4,503	1676,76	1680,51	1688,01	1681,76	364,02
4.Sussi	4,050	8,650	8,670	8,720	8,680	3237,84	3245,34	3264,11	3249,10	802,25
5.Sanna	4,050	9,240	9,320	9,300	9,287	3459,24	3489,26	3481,76	3476,75	858,46
6.Linnea	4,080	5,900	5,830	5,820	5,850	2205,87	2179,60	2175,85	2187,11	536,06
7.Runo b.	4,030	6,620	6,660	6,700	6,660	2476,06	2491,07	2506,08	2491,07	618,13
8.Ida	3,970	7,290	7,300	7,350	7,313	2727,48	2731,24	2750,00	2736,24	689,23
9.Korál	4,010	6,780	6,710	6,700	6,730	2536,10	2509,83	2506,08	2517,34	627,77

7.7 Stanovení cukrů dle Bertranda

- Hodnoty navážených bobulí a hmotnost 1ml vymačkané šťávy

	Hmotnost bobulí [g]	hmotnost 1ml [g]
1.Pillgrim	3,9600	1,0346
2.McFarlin	3,9300	1,0419
3.Stevens	4,1200	1,0479
4.Sussi	3,2500	1,0623
5.Sanna	3,2600	1,0652
6.Linnea	3,3300	1,0392
7.Runo b.	3,2800	1,0712
8.Ida	3,3800	1,0462
9.Korál	3,2200	1,0256

- Naměřené hodnoty spotřeb manganistanu na titraci vzorků a vypočítané hodnoty

	spotřeba manganistanu na titraci				mg cukru ve 100 ml vzorku				průměr w [%]
	V ₁ [ml]	V ₂ [ml]	V ₃ [ml]	průměr V [ml]	m ₁ [mg]	m ₂ [mg]	m ₃ [mg]	průměr m [mg]	
1.Pillgrim	2,30	2,60	2,70	2,53	84,80	95,86	99,55	93,41	9,03
2.McFarlin	2,00	2,30	2,40	2,23	73,74	84,80	88,49	82,34	7,90
3.Stevens	2,40	2,80	2,40	2,53	88,49	103,24	88,49	93,41	8,91
4.Sussi	3,10	3,00	3,50	3,20	114,30	110,61	129,05	117,99	11,11
5.Sanna	3,90	3,50	3,80	3,73	143,80	129,05	140,11	137,65	12,92
6.Linnea	3,00	3,40	3,30	3,23	110,61	125,36	121,67	119,22	11,47
7.Runo b.	3,30	3,10	3,20	3,20	121,67	114,30	117,99	117,99	11,01
8.Ida	2,20	2,60	2,70	2,50	81,12	95,86	99,55	92,18	8,81
9.Korál	2,80	2,80	2,60	2,73	103,24	103,24	95,86	100,78	9,83

7.8 Stanovení anthokyanů spektrofotometricky

- Počáteční navážka a vymačkaná šťáva z této navážky

	m [g]	V [ml]
Pillgrim	11,29	5,8
McFarlin	10,84	4,8
Stevens	10,76	5,4
Sussi	10,86	2,8
Sanna	10,84	6,2
Linnea	10,66	5,4
Runo b.	10,38	4,8
Ida	10,31	5,2
Korál	10,95	4,1

- Absorbance pro pH = 4,5 a vlnové délky 510 a 700 nm

	A - 510nm			A - 710 nm			A _{pH=4,5} (výsledná)		
Pillgrim	0,426	0,425	0,428	0,055	0,056	0,058	0,371	0,369	0,370
McFarlin	0,539	0,540	0,542	0,065	0,066	0,065	0,474	0,474	0,477
Stevens	0,411	0,413	0,414	0,025	0,027	0,028	0,386	0,386	0,386
Sussi	0,559	0,561	0,562	0,150	0,150	0,151	0,409	0,411	0,411
Sanna	0,310	0,312	0,312	0,034	0,032	0,034	0,276	0,280	0,278
Linnea	0,405	0,406	0,407	0,040	0,038	0,039	0,365	0,368	0,368
Runo b.	0,197	0,196	0,199	0,040	0,040	0,041	0,157	0,156	0,158
Ida	0,279	0,277	0,276	0,028	0,029	0,030	0,251	0,248	0,246
Korál	0,281	0,283	0,284	0,065	0,063	0,065	0,216	0,220	0,219

- Absorbance pro pH = 1 a vlnové délky 510 a 700 nm pro nezředěné vzorky (pro klikvu 3x ředěno, pro brusinku 2x ředěno)

	A -510 nm			A - 700 nm			A _{pH=1} (výsledná)		
Pillgrim	3,711	3,714	3,705	0,054	0,051	0,051	3,657	3,663	3,654
McFarlin	4,419	4,422	4,425	0,033	0,033	0,045	4,386	4,389	4,380
Stevens	4,125	4,107	4,119	0,021	0,021	0,024	4,104	4,086	4,095
Sussi	2,928	2,938	2,942	0,124	0,126	0,130	2,804	2,812	2,812
Sanna	1,472	1,470	1,474	0,024	0,026	0,030	1,448	1,444	1,444
Linnea	4,220	4,200	4,304	0,046	0,048	0,046	4,174	4,152	4,258
Runo b.	2,436	2,442	2,452	0,066	0,068	0,066	2,370	2,374	2,386
Ida	3,500	3,524	3,510	0,046	0,040	0,046	3,454	3,484	3,464
Korál	3,392	3,408	3,452	0,098	0,100	0,100	3,294	3,308	3,352

- Výsledné hodnoty pro nezředěné vzorky

	A ₁	A ₂	A ₃	c ₁ [mg.l ⁻¹]	c ₂ [mg.l ⁻¹]	c ₃ [mg.l ⁻¹]	Průměr c [mg.l ⁻¹]
1.Pillgrim	3,286	3,294	3,284	54,873	55,006	54,839	54,906
2.McFarlin	3,912	3,915	3,903	65,326	65,376	65,176	65,293
3.Stevens	3,718	3,700	3,709	62,086	61,786	61,936	61,936
4.Sussi	2,395	2,401	2,401	39,994	40,094	40,094	40,061
5.Sanna	1,172	1,164	1,166	19,571	19,438	19,471	19,493
6.Linnea	3,809	3,784	3,890	63,606	63,189	64,959	63,918
7.Runo b.	2,213	2,218	2,228	36,955	37,038	37,205	37,066
8.Ida	3,203	3,236	3,218	53,487	54,038	53,737	53,754
9.Korál	3,078	3,088	3,133	51,399	51,566	52,318	51,761