



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

VYBRANÉ NUTRIČNÍ PARAMETRY NĚKTERÝCH DRUHŮ MÉNĚ ZNÁMÉHO OVOCE

SELECTED NUTRITIONAL PARAMETERS OF SOME LESSER KNOWN
FRUIT

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. Michaela Diblíková

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

BRNO 2016



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce: **FCH-DIP0735/2012** Akademický rok: **2015/2016**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Bc. Michaela Diblíková**
Studijní program: **Chemie a technologie potravin (N2901)**
Studijní obor: **Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)**
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**
Konzultanti:

Název diplomové práce:

Vybrané nutriční parametry některých druhů méně známého ovoce

Zadání diplomové práce:

Teoretická část:

- 1) Definice ovoce, význam ovoce ve výživě člověka, přehled českého trhu s ovocem
- 2) Stručná charakteristika vybraných druhů méně známého ovoce, účinných látek v něm obsažených a využití v potravinářství
- 3) Popis vybraných nutričních parametrů a postupy jejich stanovení

Experimentální část:

- 1) Ověření vybraných metod stanovení jednotlivých nutričních parametrů na standardech
- 2) Stanovení nutričních parametrů ve vzorcích méně známých druhů ovoce
- 3) Zpracování získaných dat a interpretace výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 6.5.2016

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

Bc. Michaela Diblíková
Student(ka)

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na chemickou analýzu šťáv z černého, červeného a bílého rybízu a josty (*Ribes* a *Ribes x culverwellii*).

Teoretická část je věnována definici ovoce, významu ovoce ve výživě člověka, popisu rodů *Ribes* a *Ribes x culverwellii*, účinnými látkami v rybízu a jostě, popisu vybraných chemických parametrů a stanovení některých z nich.

V experimentální části jsou popsány postupy stanovení následujících chemických parametrů: stanovení obsahu redukujících cukrů, stanovení celkové a rozpustné sušiny, formolového čísla, pH, titrační kyselosti, stanovení obsahu celkových fenolů a antokyanových barviv a stanovení obsahu vitamínu C ve dvou vzorcích josty, šesti odrůdách černého rybízu, jedné odrůdě bílého rybízu a dvou odrůdách červeného rybízu. Na základě vyhodnocení získaných výsledků bylo provedeno srovnání jednotlivých odrůd a byla vyslovena teze, že „celkovým srovnáním jednotlivých odrůd v oblasti obsahu fenolických látek, vitamínu C a antokyanových barviv se jako nejperspektivnější jeví odrůda černého rybízu Démon. Je však nutné dodat, že nejvyšší obsah fenolických látek a antokyanů byl stanoven v jostě“.

ABSTRACT

Diploma thesis is focused on the chemical analysis of the juices of black, red and white currant and jostaberry (*Ribes* a *Ribes x culverwellii*).

The theoretical part is focused to the definition of fruit, fruit importance in human nutrition, description of *Ribes* and *Ribes x culverwellii* genuses, active substances in the currants and the jostaberry, description of selected chemical parameters and the determination of some of them.

The procedures of determining for the following chemical parameters are described in the experimental section: determination of reducing sugars, determination of total and soluble solids, formol number, pH, titratable acidity, determination of total phenols and anthocyanins and determination of vitamin C in two samples jostaberry, six varieties of black currants, one variety of white currant and two varieties of red currants. Based on the evaluation of the obtained results, the comparison was made with different varieties and the thesis that "overall comparison of the different varieties in the content of phenolic compounds, vitamin C and anthocyanins appears to be the most promising variety of blackcurrant demon. It should however be noted that the highest content of phenolics and anthocyanins were determined in jostaberry,, has been suggested.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ribes L., rybíz, josta, sušina, rozpustná sušina, pH, titrační kyselost, formolové číslo, redukující sacharidy, fenolické látky, antokyanany, vitamín C, metody stanovení.

KEYWORDS

Ribes L., currant, jostaberry, dry matter, soluble solids, pH, titratable acidity, formol number, reducing sugars, total phenolics, anthocyanins, vitamin C, methods of determination.

DIBLÍKOVÁ, M. *Vybrané nutriční parametry některých druhů méně známého ovoce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 85 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Za cenné rady, vstřícnost, trpělivost a odborné vedení v průběhu zpracování diplomové práce bych na tomto místě chtěla poděkovat své vedoucí RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D.

OBSAH

1 Úvod	7
2 Teoretická část.....	8
2.1 Definice ovoce.....	8
2.1.1 Význam ovoce ve výživě člověka.....	8
2.1.1.1 Vitamíny a minerální látky	9
2.1.1.2 Vláknina.....	10
2.1.2 Přehled českého trhu s ovocem.....	11
2.1.2.1 Ovoce do škol	13
2.1.2.2 Národní program podpory potravin.....	14
2.1.3 Integrovaná produkce ovoce.....	14
2.1.4 Zahraniční obchod s ovocem v ČR.....	15
2.1.4.1 Dovoz	15
2.1.4.2 Vývoz	16
2.2 Charakteristika vybraných druhů ovoce	17
2.2.1 Josta (<i>Ribes x culverwellii</i>).....	17
2.2.2 Rybíz (<i>Ribes nigrum</i> L., <i>Ribes rubrum</i> L., <i>Ribes niveum</i> Lindl.).....	22
2.2.3 Účinné látky v jostě a rybízu	27
2.3 Popis vybraných nutričních parametrů	28
2.3.1 Anthokyaniny	28
2.3.2 Fenolové sloučeniny	31
2.3.3. Vitamíny	32
2.3.3.1 Vitamín A a β -karoten.....	32
2.3.3.2 Vitamíny skupiny B.....	33
2.3.3.2 Vitamín C.....	35
2.3.3.4 Vitamín E.....	37
2.3.4 Minerální látky.....	37
2.3.4.1 Hořčík	38
2.4 Stanovení vybraných nutričních parametrů	38
2.4.1 Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou	38
2.4.2 Stanovení sušiny	39
2.4.2.1 Stanovení celkové sušiny.....	39
2.4.2.2 Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143	39

2.4.3 Stanovení kyselosti	39
2.4.3.1 Stanovení pH.....	40
2.4.3.2 Stanovení titrační kyselosti.....	40
2.4.4 Stanovení formolového čísla	41
2.4.5 Stanovení celkových fenolů pomocí Folin-Ciocalteauova činidla	41
2.4.6 Stanovení anthokyanových barviv pH diferenciální metodou	41
2.4.7 Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC.....	42
2.4.7.1 Chromatografie na reverzí fázi (HPLC-RP).....	43
2.4.7.2 Iontopárová chromatografie.....	43
2.4.7.3 Iontovyměnná chromatografie	43
2.4.7.4 Chromatografie s iontovou výlukou (exkluzí - ion-exclusion).....	43
2.4.7.5 Kapalinová chromatografie s hydrofilními interakcemi (HILIC).....	44
2.5 Popis uspořádání vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).....	44
3 Experimentální část	46
3.1 Popis vzorků.....	46
3.1.1 Příprava ovocných šťáv.....	46
3.2 Laboratorní vybavení.....	47
3.2.1 Pomůcky.....	47
3.2.2 Chemikálie.....	47
3.2.3 Přístroje	48
3.3 Pracovní postupy	48
3.3.1 Příprava roztoků.....	48
3.3.1.1 Příprava Fehlingova roztoku I	48
3.3.1.2 Příprava Fehlingova roztoku II	48
3.3.1.3 Příprava roztoku hydroxidu sodného, $c = 0,25 \text{ mol/l}$	48
3.3.1.4 Příprava roztoku kyseliny šťavelové, $c = 0,1 \text{ mol/l}$	49
3.3.1.5 Příprava roztoku uhličitanu sodného, $c = 75 \text{ g/l}$	49
3.3.1.6 Příprava roztoku kyseliny gallové, $c = 1 \text{ g/l}$	49
3.3.1.7 Příprava pufru KCl, $c = 0,025 \text{ mol/l}$, $\text{pH} = 1$	49
3.3.1.8 Příprava pufru CH_3COONa , $c = 0,4 \text{ mol/l}$, $\text{pH} = 4,5$	50
3.3.1.9 Příprava mobilní fáze pro HPLC – fosfátový pufr:methanol (9:1).....	50
3.3.1.10 Příprava extrakčního roztoku 6% kyseliny monohydrogenfosforečné .50	
3.3.1.11 Standardní roztok kyseliny askorbové $c = 1 \text{ g/l}$	50
3.3.2 Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou	50
3.3.3 Stanovení celkové sušiny	51

3.3.4	Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143	51
3.3.5	Měření pH ovocné šťávy	52
3.3.6	Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147	52
3.3.7	Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133.....	53
3.3.8	Stanovení celkových fenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla	53
3.3.9	Stanovení antokyanových barviv pH diferenciální metodou	53
3.3.10	Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC	54
3.3.10.1	Výpočet.....	55
3.3.11	Statistické zpracování výsledků	55
4	Výsledky a diskuze.....	57
4.1	Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou	57
4.2	Stanovení celkové sušiny	58
4.3	Stanovení rozpustné sušiny	60
4.4	Měření pH ovocné šťávy.....	62
4.5	Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147.....	63
4.6	Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133	65
4.7	Stanovení celkových fenolů	66
4.8	Stanovení obsahu anthokyanových barviv	69
4.9	Stanovení obsahu vitamínu C.....	71
5	Závěr	73
6	Literatura.....	76
7	Seznam zkratk	81
8	Seznam příloh.....	82
9	Přílohy.....	83
9.1	Příloha 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové.....	83
9.2	Příloha 2: Kalibrační křivka kyseliny askorbové	83
9.3	Příloha 3: Ukázka chromatogramu červeného rybízu odrůdy Detvan keř.....	84

1 ÚVOD

V České republice má ovocnářství dlouholetou tradici. První významné doklady o ovocnářství pocházejí již ze středověku. V 13. až 15. století se začalo objevovat množství odrůd jabloní a hrušní, v 17. století vznikaly první ovocné školky. V 18. století docházelo k velkému rozvoji ovocnářství. Byly zakládány ovocnářské spolky, které ovocnářství dodávaly organizovanou podobu a šířily nové poznatky. Od 19. století lze v České republice hovořit o intenzivním ovocnářství, vznikaly první zahradnické školy a ovocnářství se vyučovalo již na školách základních. Vycházela rozsáhlá pomologická díla a byly stanoveny odrůdy vhodné pro pěstování v jednotlivých oblastech České republiky. Po vzniku československého státu v roce 1918 se rozvinul organizovaný ovocnářský výzkum, který do velkovýroby zaváděl nové formy pěstování ovoce. Po skončení druhé světové války se začala výroba koncentrovat do specializovaných podniků ve výhodných výrobních oblastech. [1]

V České republice se v současné době pěstuje ovoce na ploše 19 402 ha, z čehož 14 465 ha tvoří produkční plodné sady. V roce 2015 došlo k jejich výrazné redukci, a to po zpřísnění definice kultury „sad“, díky čemuž byly zlikvidovány staré výsadby. [2]

Hlavním ovocným druhem pěstovaným v České republice jsou jabloně, především odrůdy Idared, Golden Delicious, Jonagold, Gloster, Šampion a Rubín. Ve výsadbách se však začínají prosazovat také nové rezistentní a vysoce tolerantní odrůdy vyšlechtěné ve VŠÚO v Holovousích, jako například Angold, Selena, Julia, a v Ústavu experimentální botaniky AV ve Střížovicích odrůdy Topaz, Rubinola a Goldstar. V intenzivních výsadbách se každoročně vyprodukuje 140 000 t konzumních jablek.

Velký význam má rovněž pěstování višní pro zpracování. Ročně je jich v ČR vyprodukováno 10 000 t a jsou významným exportním artiklem.

Z dalších tradičních druhů ovoce se v sadech pěstují hrušky, švestky a rybíz, v oblastech Jižní Moravy je významné pěstování meruněk a broskví. Specialitou tuzemského ovocnářství je pěstování tmavých stolních třešní, například česká odrůda Kordia. [3]

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Definice ovoce

Z legislativního hlediska přesná definice ovoce neexistuje. Pro určení toho, které produkty spadají mezi ovoce, lze využít nařízení Rady (EHS) č. 2658/87, o celní a statistické nomenklatuře a o společném celním sazebníku, ve znění pozdějších předpisů – pro rok 2015 je to nařízení Komise (EU) č. 1101/2014 ze dne 31. října 2014, kterým se mění příloha I nařízení Rady (EHS) č. 2658/87, o celní a statistické nomenklatuře a o společném celním sazebníku. V tomto ustanovení jsou jednotlivé komodity, kterých se celní sazebník týká, rozděleny do tříd. Třída II zahrnuje rostlinné produkty, kde je pod položkami 0801 11 00 až 0814 00 00 uvedeno „Jedlé ovoce a ořechy; kůra citrusových plodů nebo melounů“. V tomto seznamu jsou však chybně uvedeny melouny pod položkami 0807 11 00 a 0807 19 00, které nejsou ovoce, ale plodová zelenina. [4]

V ČR se však většina odborníků přiklání k názoru, že ovoce lze definovat jako plody dřevin a jahodníku. Autorem této definice je doc. Ing. Josef Sus, CSc. z České zemědělské univerzity v Praze.

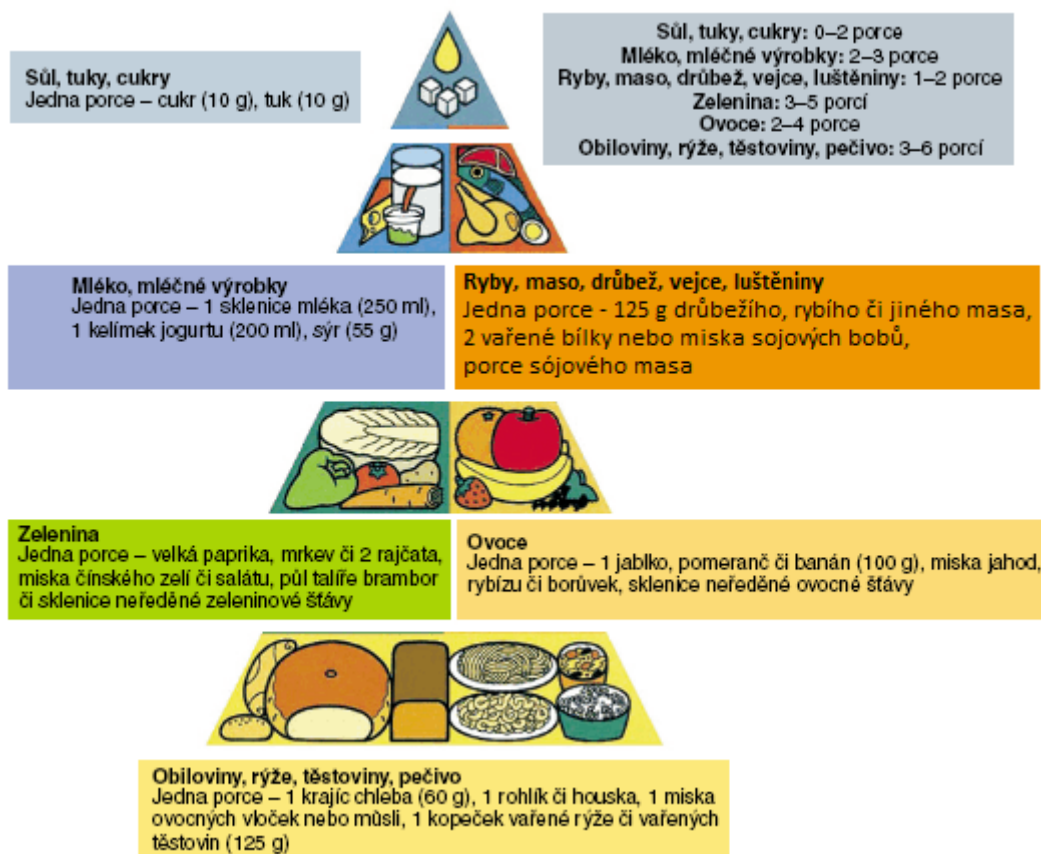
2.1.1 Význam ovoce ve výživě člověka

Ovoce má v lidské výživě nezastupitelný význam. Díky vysokému obsahu vitamínů, minerálních látek a vlákniny působí jako preventivní faktor mnoha civilizačních onemocnění včetně rakoviny. Tyto látky jsou pro náš organismus nezbytné a jejich nedostatek může způsobit vznik závažných chorob. Zvýšená konzumace ovoce a zeleniny napomáhá snížit spotřebu potravin s vysokým obsahem nasycených tuků, cukru a soli. [5]

Ovoce, především bobuloviny, jsou významným zdrojem antioxidantů. Vědci se domnívají, že antioxidanty pomáhají předcházet oxidačnímu poškození buněk, k němuž dochází během jejich přirozeného fungování, a rovněž přispívají k nápravě tohoto procesu. U malého procenta buněk dochází během oxidace k jejich poškození a následnému uvolnění volných radikálů, které mohou započít řetězovou reakci poškozování dalších buněk a tím i zdraví. Nekontrolovaná aktivita volných radikálů může být spojena s onemocněním srdce, rakovinou, Alzheimerovou a Parkinsonovou nemocí. [6]

Nevýhodou, především při redukční dietě, může být také vysoký obsah cukru v některých druzích ovoce (např. banány a hroznové víno), nebo přítomnost organických kyselin či aromatických látek, které mohou vyvolávat alergické reakce (např. jahody). [5]

Denně bychom měli sníst 2 – 4 porce ovoce, přičemž jednou porcí pro dospělého člověka se rozumí 1 jablko, 1 pomeranč, 1 banán, miska jahod, rybízů nebo borůvek nebo sklenice neředěné 100% ovocné šťávy. [5]



Obrázek 1: Potravinová pyramida [7]

2.1.1.1 Vitamíny a minerální látky

Ovoce je významným zdrojem vitamínů, především vitamínu C, dále pak vitamínů skupiny B (B1, B2, B6), PP neboli niacinu a vitamínu P (biflavonoid). [8]

Množství vitamínu C (kyseliny askorbové) obsaženého v ovoci je jedním z hlavních důvodů pro doporučení hojného zastoupení v jídelníčku lidí všech věkových skupin. Tento vitamín nemá pouze preventivní význam při infekci dýchacích cest. Byl prokázán vztah mezi obsahem vitamínu C a arteriosklerózou. Při nedostatku vitamínu C také vážně odbourávání cholesterolu, jež se pak hromadí v krvi a později se ukládá ve tkáních včetně stěny tepenné. Vitamín C v kombinaci s pektinem, který je rovněž v ovoci obsažen, brání zpětnému vstřebávání žlučových kyselin ze střeva. [8]

Z běžně dostupného ovoce obsahuje nejvíce vitamínu C černý a červený rybíz, angrešt, jahody, ostružiny a citrony. [5]

Rostlinné potraviny neobsahují vitamín A, ale jeho provitamíny, z nichž naše tělo dokáže vitamín A syntetizovat. Bohatým zdroje provitamínů A jsou meruňky, broskve, višně, třešně, melouny a šípky. Vitamín A je významný nejen pro vidění, ale také například pro dobrý stav kůže a sliznic a odolnost vůči infekcím. [8]

Přestože ovoce není příliš bohatým zdrojem vitamínů skupiny B, jejich obsah se

pohybuje v setinách až desetínách miligramů na kilogram, je to zdroj významný. [9]
Denní potřeba vitamínu B1 je u dospělého člověka 1,1 až 1,5 mg, vitamínu B2 bychom měli přijmout 1,5–2,5 mg. [8]

Z minerálních látek obsahuje ovoce velké množství draslíku, hořčíku, železa (broskve, maliny, pomeranče, černý a červený rybíz), manganu (červený a bílý rybíz, borůvky, ananas a ořechy), mědi (ořechy, kaštiny, datle, fíky, banány), zinku (ořechy, maliny, jahody, angrešt, hroznové víno, ostružiny, černý a červený rybíz) a jódu (třešně, ostružiny, maliny, borůvky a červený rybíz). [5]

Nedostatek těchto prvků se nepříznivě projevuje na lidském zdraví. Zatímco draslík prospívá činnosti srdečního svalu, hořčík se příznivě uplatňuje při tělesných i duševních zátěžích, infekčních chorobách a metabolické zátěži způsobené například požíváním rafinovaných potravin. K nedostatku hořčíku v těle vede také užívání některých léků. [8]

Dalším významným prvkem je železo nezbytné pro správnou tvorbu červených krvinek. Jeho nedostatek je příčinou chudokrevnosti. Obdobně při nedostatku mědi vznikají poruchy krvetvorby, které mohou vést také až k chudokrevnosti. [8]

2.1.1.2 Vlákna

Pojmem vlákna se tradičně označovala část potravy odolná vůči hydrolyze trávicími šťávami. Jako potravinová vlákna je označována skupina látek, kterou tvoří celulózy, hemicelulózy, pektiny, lignin, rostlinné gumy a slizy. Všechny tyto látky jsou polysacharidy. V dnešní době se odborná veřejnost přiklání ke dvěma definicím potravinové vlákniny:

- První skupina vědců se přiklání k definici, podle níž vlákna v potravinách představuje souhrn polysacharidů a ligninu nedegradovatelný endogenními enzymy v horní části trávicího traktu člověka;
- Druhá skupina pohlíží na vlákna jako na souhrn neškrobových polysacharidů ze stěn rostlinných buněk. [10]

Dle přílohy II směrnice Komise 2008/100/ES ze dne 28. října 2008, kterou se mění směrnice Rady 90/496/EHS o nutričním označování potravin, pokud jde o doporučené denní dávky, převodní faktory pro energetickou hodnotu a definice, se vlákninou rozumí uhlovodíkové polymery se třemi nebo více monomerními jednotkami, které nejsou tráveny, ani vstřebávány v tenkém střevu lidského organismu a náleží do těchto kategorií:

- Jedlé uhlovodíkové polymery přirozeně se vyskytující v přijímané potravě;
- Jedlé uhlovodíkové polymery, které byly získány z potravních surovin fyzikálními, enzymatickými nebo chemickými prostředky a které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky;
- Jedlé uhlovodíkové polymery, které mají prospěšný fyziologický účinek prokázaný obecně uznávanými vědeckými poznatky. [11]

V lidské výživě má vlákna velký význam při prevenci některých civilizačních chorob jako obezita, cukrovka, chronická zácpa, rakovina a ischemické onemocnění srdce. [10]

Některé druhy ovoce, např. jablka, mají vyšší obsah rozpustné vlákniny, která se významnou měrou podílí na snižování cholesterolu v krvi. [5]

Rozpustné složky potravinové vlákniny v trávicím traktu nabobtnávají za vzniku rosolovité hmoty s velkou schopností vázat vodu. Tím vzniká pocit nasycení a potrava také lépe prochází trávicím traktem. Rozpustné složky potravinové vlákniny (guaranová guma, pektin, β -glukany, oligofruktózy) mohou vázat mastné kyseliny, žlučové kyseliny a steroly, čímž snižují jejich vstřebávání a následnou tvorbu LDL cholesterolu. Nadměrný příjem vlákniny může mít nepříznivé účinky. Rostlinné potraviny bohaté na vlákninu většinou obsahují také látky, které snižují resorpci některých minerálů. V civilizovaných oblastech je však tato otázka pouze okrajová. [10]

2.1.2 Přehled českého trhu s ovocem

Celková výměra ovocných sadů v České republice k 31. 5. 2015 činila 19 402 ha. Největší plochy sadů se nacházejí v kraji Jihomoravském, Středočeském, Královéhradeckém a Olomouckém. [2]

Celková produkce ovoce v ČR v roce 2014 byla 325 036 tun, což vykazuje meziroční nárůst o 4,4 %. V produkčních ovocných sadech bylo sklizeno 152 463 t, tj. meziroční nárůst o 2,2 %. Největší podíl, a to 86 % celkové produkce, tvořila jablka. Velkou část produkce tuzemského ovoce tvořily také švestky pravé, rybíz a hrušky, nejméně pak angrešt. [2]

V tabulkách 1 a 2 je uveden přehled celkové sklizně ovoce od roku 2008 a vývoj výnosů ovoce v České republice od roku 2008.

Tab. 1. Celková sklizeň ovoce v ČR (t) [2]

Ovocný druh	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Jablka	274 075	258 946	193 552	158 883	201 486	194 488	207 990
Hrušky	17 171	23 947	16 157	17 044	15 688	17 250	12 351
Broskve	11 924	12 705	8 080	8 348	6 506	9 502	7 310
Meruňky	9 002	13 989	6 352	8 116	5 089	12 506	6 722
Švestky pravé	16 427	24 211	14 135	17 382	14 811	20 134	23 392
Třešně	14 369	15 090	9 366	12 570	10 026	7 492	10 696
Višně	10 422	10 612	6 719	9 210	6 085	8 017	7 124
Ostatní švestky, slívy, renklódy	13 494	17 815	9 943	12 039	10 438	11 151	12 921
Angrešt	3 201	3 326	2 837	2 836	2 626	2 274	3 992
Rybíz	17 088	16 259	13 868	13 692	14 792	15 225	15 937
Ořešáky vlašské	10 148	9 784	7 112	4 992	5 298	4 982	6 270
POČET CELKEM (bez jahod)	397 320	406 683	288 121	265 112	292 845	303 421	314705
Jahody	12 543	10 812	9 552	8 814	7 190	7 969	10 331

Tab. 2. Výnos ovoce v ČR v kg/strom, keř [2]

Ovocný druh	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Jabloně	15,31	14,25	10,97	9,21	11,64	11,32	11,82
Hrušně	10,26	12,18	8,33	8,69	8,12	9,43	6,74
Broskvoně	7,52	8,73	5,72	6,09	5,35	8,61	6,77
Meruňky	5,85	9,80	4,44	5,99	3,74	9,43	5,04
Švestky pravé	7,87	11,48	6,96	8,84	6,92	9,33	10,57
Třešně	9,97	10,23	6,71	8,90	7,28	5,29	7,53
Višně	7,87	7,97	5,27	8,07	5,55	7,60	6,35
Ostatní švestky, slívy, renklódy	9,46	13,21	7,72	8,44	7,22	9,20	10,51
Angrešt	2,10	2,25	1,96	2,00	1,99	1,78	3,13
Rybíz	1,71	1,70	1,45	1,51	1,63	1,72	1,85
Ořešáky vlašské	13,72	13,96	10,66	7,61	8,13	7,62	9,62
Jahody (t/ha)	5,08	5,02	5,04	4,86	4,02	4,85	5,81

2.1.2.1 Ovoce do škol

Projekt „Ovoce do škol“ vychází z hlavních záměrů Evropského společenství pro sektor ovoce a zeleniny, jehož základním cílem je přispět k trvalému zvýšení spotřeby ovoce a zeleniny, k vytvoření správných stravovacích návyků u dětí, bojovat proti dětské obezitě a zvrátit klesající spotřebu ovoce a zeleniny. Na základě výše uvedeného se očekává pozitivní dopad na zemědělství a posílení ekonomicky citlivého sektoru ovoce a zeleniny, který se dlouhodobě vyvíjí nepříznivě. Principem úspěšného řešení projektu je rozsáhlá spolupráce mezi vzdělávacím úsekem, zdravotnictvím a zemědělstvím za účasti soukromého, veřejného a občanského sektoru. V České republice byli jako cílová skupina stanoveni žáci prvních až pátých tříd základních škol, u nichž se předpokládá dosažení nejvyšší efektivity při realizaci tohoto projektu.

Projekt „Ovoce do škol“ u nás funguje od školního roku 2009/2010 a je financován jednak ze zdrojů EU, jednak ze zdrojů České republiky, přičemž podpora z EU tvoří většinový podíl. [2]

Žáci dostávali v souladu s Vnitrostátní strategií ČR a s přihlédnutím k Výživovým doporučením Ministerstva zdravotnictví pro obyvatele ČR především produkty mírného pásma. Preferovány měly být především tuzemské ovoce a zelenina a 100 % ovocné a zeleninové šťávy. Z důvodu zpestření a rozšíření znalostí v rámci vzdělávacího programu v návaznosti na zeměpisná a přírodovědná témata na prvním stupni základní školy, byl sortiment doplňován o exotické druhy ovoce. [2]

2.1.2.2 Národní program podpory potravin

Od roku 2003 uděluje ministr zemědělství kvalitním domácím potravinářským a zemědělským produktům značku KLASA, která se za dobu své existence stala prestižní záležitostí pro její držitele a rovněž si získala důvěru obyvatel ČR. Tato značka slouží spotřebitelům a odběratelům pro lepší orientaci při výběru výjimečně kvalitních produktů v porovnání s běžně dostupnými komerčními potravinami. Značka je propůjčována na tři roky. Po uplynutí této lhůty může být její vlastnictví nejen prodlouženo, ale v případě zhoršení kvality nebo porušení podmínek pro její získání také odebráno. Požadovanou kvalitu a složení výrobků mj. posuzuje a po jejím udělení kontroluje Státní zemědělská a potravinářská inspekce.

K srpnu 2015 se držiteli ocenění národní značky KLASA stalo celkem 1 120 produktů od 222 českých a moravských výrobců. Z tohoto počtu získalo ocenění 118 produktů jak z čerstvého ovoce a zeleniny, tak i výrobků z nich. [2]

Dalším projektem, který je zaměřený na podporu malých a středních zemědělců a producentů potravin je udílení značky „Regionální potravina“, jež je odpovědí na zájem spotřebitelů o potraviny s jasným domácím původem. Značku „Regionální potravina“ získávají lokální pěstitelé a výrobci potravin formou krajských soutěží. Soutěže se vyhlašují ve všech krajích České republiky kromě Prahy. Výrobek nebo zemědělský produkt usilující o udělení značky musí být vyroben v příslušném regionu ze surovin dané oblasti. Soutěží se v devíti kategoriích, kde odborná porota vybere vždy jeden vítězný výrobek. Oceněné výrobky získávají certifikát ministra zemědělství a právo užívat značku „Regionální potravina“ po dobu čtyř let. [2]

2.1.3 Integrovaná produkce ovoce

Integrovaná produkce (IP) je ekonomická produkce vysoce kvalitního ovoce. Jsou zde uplatňovány ekologicky přijatelné způsoby pěstování s minimalizací nežádoucích vedlejších účinků běžně používaných agrochemikálií. Klade důraz na zvýšení ochrany životního prostředí a zdraví obyvatel. Vyžaduje nejen důkladné znalosti o cílech a zásadách tohoto způsobu pěstování ovoce, ale také dodržování stanovení pěstitelských technologií a kladný a aktivní přístup pěstitelů. [2]

Cílem IP je především ochrana přírodního prostředí ovocných sadů a organismů v nich žijících, zajištění druhové rozmanitosti přirozeně se vyskytujících nebo introdukovaných živočišných a rostlinných druhů v ovocných sadech a blízkém okolí.

V roce 1990 byl jako dobrovolné sdružení pěstitelů a zástupců výzkumu založen Svaz pro integrované systémy pěstování ovoce (SISPO). Ke dni 31. 8. 2015 je zde registrováno 324 členů s celkovou výměrou ovocných sadů a školek téměř 10 170 ha. [2]

Výměry ovocných sadů všech členů SISPO jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tab. 3. Výměry ovocných sadů členů SISPO v ha k 31. 8. 2015 [2]

Ovocný druh	Plocha ovocných sadů s nárokem na udělení známky SISPO	Plocha ovocných sadů čekatelů na známku SISPO	Celková plocha přihlášených ovocných sadů
Jabloně	4 402	1066	5 468
Hrušně	415	140	555
Třešně	413	253	666
Višně	678	326	1004
Slivoně	743	355	1 098
Meruňky	310	135	445
Broskvoně	162	31	193
Rybíz červený	528	26	554
Rybíz černý	151	30	181
Rybíz bílý	2	0	2
Celkem	7 804	2 362	10 166

2.1.4 Zahraniční obchod s ovocem v ČR

2.1.4.1 Dovoz

V roce 2014 zaznamenal dovoz čerstvého a sušeného ovoce po několika letech stagnace meziroční nárůst o 2,5 % na celkových 550,3 tis. tun. Oproti předchozímu roku vzrostl dovoz banánů, mandarinek, jahod, broskví a hrušek, avšak meziročně se snížil dovoz pomerančů, jablek a švestek. Dodávky ovoce ze zemí EU se meziročně zvýšily na 377,3 tis. tun, což představuje téměř 69 % z celkového objemu dovezeného ovoce. Mezi největší dodavatele patřily tradičně, Španělsko a Itálie, dále pak Německo, Polsko, Francie a Slovensko. Dovoz ovoce z výše uvedených zemí tvořil podíl 76 % z celkového objemu dovozu ovoce ze zemí EU.

Dovoz ovoce ze třetích zemí zaznamenal v roce 2014 meziroční pokles o necelých 9 % na 185,6 tis. tun. Dovážely se především banány, citrusové ovoce, ananas, stolní hrozny a arašídny. Největšími dodavateli tohoto ovoce byly Ekvádor, Turecko, Kostarika, Jihoafrická republika a Čína. [2]

Tab. 4. Dovoz vybraných druhů ovoce do ČR (t) [2]

Komodita	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015 *
Jablka	70 724	62 862	82 889	74 304	86 201	81 473	78 367	57 986
Hrušky	10 308	9 701	10 670	14 520	11 556	8 380	16 875	9 055
Třešně	177	247	159	478	261	458	230	497
Višně	24	31	33	24	136	282	142	22
Meruňky	3 823	5 340	4 718	4 348	6 761	5 472	6 064	4 829
Broskve	10 550	11 159	12 903	12 962	12 417	9 876	12 396	6 117
Nektarinky	15 799	21 826	22 172	22 514	18 917	17 272	17 507	9 320
Švestky, slívy	10 740	7 905	10 100	8 755	8 519	10 808	9 300	1 504
Rybíz, angrešt	15	13	16	10	9	8	16	41
Jahody	7 031	8 547	7 311	8 618	10 577	10 627	11 122	10 652
Maliny, ostružiny	109	177	221	195	150	278	409	323
Brusinky, borůvky	227	179	226	266	237	199	849	515
Citróny	24 170	27 987	29 766	33 161	32 718	34 570	34 649	22 890
Grapefruity	13 381	14 566	13 646	13 909	12 881	15 064	15 408	7 228
Mandarinky	54 337	48 394	54 593	58 709	62 018	51 925	53 605	27 378
Pomeranče	56 746	57 092	64 864	60 851	56 982	63 778	58 231	44 324
Ananas	12 161	10 566	12 378	11 404	11 433	9 377	11 036	4 915
Banány	153 142	160 867	198 737	145 702	130 962	136 796	142 536	91 564
Kiwi	9 627	14 850	17 561	10 461	10 057	7 164	5 738	5 455

Poznámka: * údaje za období od 1. 1. do 31. 7. 2015

2.1.4.2 Vývoz

Vývoz čerstvého a sušeného ovoce včetně reexportu v roce 2014 mírně meziročně vzrostl na 161,3 tis. tun, přičemž export ovoce do zemí EU dosáhl 161,1 tis. tun, což činí 99,9 % celkového vývozu ovoce. Nejvíce ovoce bylo dodáno na Slovensko, do Rakouska, Německa, Polska a Rumunska.

Vývoz do třetích zemí v objemu 0,2 tis. tun směřoval převážně do Běloruska, Egypta, Ruska, na Island a do Vietnamu. Vyvezena byla jablka, sušené švestky, rozinky, mandle a lískové oříšky. [2]

Tab. 5. Vývoz vybraných druhů ovoce z ČR (t) [2]

Komodita	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015*
Jablka	62 389	59 866	56 856	40 201	114 553	70 271	61 153	19 494
Hrušky	1 631	1 935	2 013	2 302	2 051	1 639	1 581	1 047
Třešně	961	1 377	1 284	1 989	1 360	400	696	1 013
Višně	3 681	3 549	2 239	3 815	1 586	2 053	1 322	1 860
Meruňky	276	307	271	182	289	316	348	245
Broskve	1 021	1 365	1 325	1 423	1 345	1 170	1 496	695
Nektarinky	1 052	2 133	2 390	2 341	1 778	1 732	1 464	596
Švestky, slívy	647	708	980	437	832	1 053	548	93
Rybíz, angrešt	970	1 786	113	17	1 872	1 231	972	1 300
Jahody	465	381	350	212	216	393	995	881
Borůvky, brusinky	36	6	13	13	15	21	6	9

Poznámka: * údaje za období od 1. 1. do 31. 7. 2015

2.2 Charakteristika vybraných druhů ovoce

2.2.1 Josta (*Ribes x culverwellii*)

První pokusy zkřížit černý rybíz a angrešt proběhly již v roce 1883, kdy šlechtitel W. Curvelwell získal beztrnnou rostlinu s červenými plody velkými jako černý rybíz. Tento kříženec byl nazván *Ribes Curvelwell*. Na konci 19. století byly v Německu a Anglii vyšlechtěny rostliny s tmavě červenými plody podobnými angreštu. Měly nakyslou chuť a beztrnné výhony. Tito kříženci však byli málo plodní, proto v praxi nenašli uplatnění. [12]

V roce 1977 němečtí manželé R. a A. Bauerovi vyšlechtili křížence černého rybízu a angreštu. Jako mateřská rostlina byla použita odrůda černého rybízu „Silvergieter“ a jako otcovská odrůda angreštu „Grüne Riesenbeere“. V roce 1978 byly registrovány odrůdy Josta, Jostine a Jogrande. Na konci sedmdesátých let minulého století byly vyšlechtěny v Ovocnářském ústavu v Dresden-Pillnitz odrůdy tzv. „angreštového typu“ Jocheline a Jochine. [13]



Obrázek 2: Silvergieter [14]



Obrázek 3: Grüne Riesenbeere [15]

Josta je beztrnná rostlina. Její listy se svým tvarem a velikostí podobají spíše rybízu. Plody mají černou barvu a jejich velikost i chuť jsou odvozeny od původního kultivaru. [16] Chuť je lahodná, na rozhraní mezi angreštem a černým rybízem, připomíná borůvky. Bobule jsou menší než angrešt, jejich průměrná hmotnost činí přibližně 3 gramy. [12]

Z jednoho keře lze sklídit asi 5 kg plodů. Josta je velmi odolná proti padlí, rzi a roztočům, proto ji lze pěstovat bez chemického ošetření. [17]

Plody jsou vhodné nejen pro přímý konzum, ale také pro výrobu marmelád a šťáv. Čerstvé plody lze mrazit. [12]



Obrázek 4: Jostový džem [18]

Taxonomické zařazení

Říše: *Plantae* (rostliny)
Oddělení: *Magnoliophyta* (krytosemenné)
Třída: *Rosopsida* (vyšší dvouděložné)
Řád: *Saxifragales* (lomikamenotvaré)
Čeleď: *Grossulariaceae* (meruzalkovité) [19]



Obrázek 5: Květ josty [20]



Obrázek 6: Josta [21]

2.2.2 Rybíz (*Ribes nigrum* L., *Ribes rubrum* L., *Ribes niveum* Lindl.)

První známé vyobrazení rybízu pochází z roku 1184 z Mohučského herbáře. Ve 14. století se rybíz začal pěstovat v západní Evropě jako léčivá bylina.

Pro ovocnářské účely se rybíz začal pěstovat v Holandsku, Dánsku, severním Německu a v oblasti Baltského moře v 15. století. Z Holandska se rozšířil do Francie, Německa a Rakouska. V těchto zemích bylo již na konci 16. století známo několik kultivarů červeného a bílého rybízu. V roce 1597 se objevují první názvy odrůd, např. „Red Dutch“. [22]



Obrázek 7: Bílý rybíz Primus [23]

Nejstarší odrůdy rybízu odvozené od *Ribes rubrum* L. vzniklé křížením s dalšími druhy rybízu pocházejí pravděpodobně z přelomu 18. a 19. století z Francie a Itálie.

O začátcích pěstování rybízu u nás nejsou dochované přesné informace, je však pravděpodobné, že rybíz byl znám již od 16. století, kdy byl pěstován v klášterních zahradách. Na naše území se, stejně jako další ovocné druhy, rozšířil z Německa.

Velký zlom v pěstování rybízů nastal v letech 1950–1955, a to díky iniciativě zpracovatelského průmyslu, zejména podniku Fruta. [22]



Obrázek 8: Červený rybíz Detvan [24]

Jméno *Ribes* pochází z arabského slova „rībās“, které označuje reveň rostoucí v Sýrii. Tato reveň byla dříve arabskými lékaři používána jako léčivo rob „râbsí“. Po příchodu arabů do Španělska, kde tato reveň nerostla, začali jako náhražku používat rybíz, který má podobnou chuť, a jméno „râbsè“ přenesli na tento keř a jeho plody. [22]

Rybíz je keř 1–1,5 m vysoký s listy dlouze řapíkatými, tří až pěti laločnatými. Laloky jsou hrubě zubaté. Květy jsou nenápadné, žlutozelené a tvoří hrozny. Plody jsou bobule uspořádané do hroznů. Černý rybíz se od keřů červeného a bílého rybízu liší robustnějším vzrůstem, dřevo listy i plody mají charakteristickou vůni. [25]



Obrázek 9: Černý rybíz Morávia [26]

Rybíz se používá nejen pro přímý konzum, zpracovává se také na kompoty, marmelády, rosoly, šťávy, vína, likéry sirupy a mrazí se. [25]

Červený rybíz obsahuje množství tříslovin. Používá se pro výrobu moštů, sirupů, vína, kompotů, rosolů, marmelád a džemů.

Černý rybíz je vhodný nejen pro přípravu kompotů, rosolů a džemů, ale také k obarvení pomazánek, rosolů, vína, moštů z málo barevného ovoce a jako přísada pro zvýšení schopnosti rosolovatění při přípravě ovocných pomazánek.

Bílý rybíz lze konzervovat podobně jako rybíz červený, avšak vzhledem k jeho nevýrazné barvě bývá obvykle zavařován s jiným ovocem. [12]



Obrázek 10: Rybízový kompot [27]



Obrázek 11: Rybízová marmeláda [28]

Taxonomie rybízu

- Říše: *Plantae* (rostliny)
Oddělení: *Magnoliophyta* (krytosemenné)
Třída: *Rosopsida* (vyšší dvouděložné)
Řád: *Saxifragales* (lomikamenotvaré)
Čeleď: *Grossulariaceae* (meruzalkovité) [29]

Rod *Ribes* obsahuje asi 120 druhů, z nichž se převážná většina vyskytuje v mírném a chladném pásu Evropy, Asie, Severní Afriky, Severní Ameriky, Jižní Ameriky, v Andách až po Patagonii. Některé druhy jsou endemické.

Celkem se pěstuje 8 druhů. Některé druhy mají význam při šlechtění nových odrůd. Z tohoto hlediska jsou nejvýznamnější druhy asijské. [22]

Rod *Ribes* se rozděluje do dvou podrodů:

- *Berisia* – s květy jednopohlavními, dvoudomými
- *Ribesia* – s květy oboupohlavními

Na šlechtění a vzniku současných odrůd se podílejí následující druhy rybízu:

Červené a bílé odrůdy:	<i>Ribes vulgare</i> Jancz. – rybíz obecný
	<i>Ribes rubrum</i> L. – rybíz červený
	<i>Ribes petraeum</i> Wulf. – rybíz skalní
	<i>Ribes multiflorum</i> Kit. – rybíz mnohokvětý
Černé odrůdy:	<i>Ribes nigrum</i> L. – rybíz černý
	<i>Ribes dikuscha</i> Fisch.
	<i>Ribes americanum</i> Mill. [22]

Odrůdy bílého rybízu jsou bezbarvými varietami rybízu černého. Vznikly například křížením druhů *Ribes petraeum* x *Ribes multiflorum* (Viktoria) nebo *Ribes multiflorum* x *Ribes rubrum* (Blanka). [22]

2.2.3 Účinné látky v jostě a rybízu

Josta i rybíz jsou známé vysokým obsahem vitamínů a esenciálních minerálních látek. Díky nízkému obsahu sacharidů, lipidů a dusíkatých látek mají nízkou energetickou hodnotu. Celkový obsah sacharidů se pohybuje v rozmezí 2,5–10 %. Na rozdíl od většiny ostatního ovoce je v rybízu obsaženo malé množství sacharózy, rozhodující je však množství velice hodnotných monosacharidů glukózy a fruktózy. Z polysacharidů převládá pektin, celulóza a škrob, které se vyskytují v nezralém ovoci a během zrání se enzymaticky štěpí na cukry. Obsah pektinu je obvykle v rozmezí 0,1–1,6 %. Průměrný obsah tuků v rybízu se pohybuje od 0,5 do 1,7 % a bílkovin od 0,9 do 1,9 %. [12]

Z hlediska výživy člověka je důležitý obsah vitamínu C, který se v plodech z 95 % vyskytuje v redukované formě kyseliny L-askorbové. Ve 100 g plodů josty je obsaženo přibližně 50 mg vitamínu C. Nejvyšší obsah je v černém rybízu, podle druhu odrůdy 95 až 289 mg na 100 g ovoce. Černý rybíz je rovněž poměrně bohatý na vitamíny skupiny B a β -karoten, soli draslíku, třísloviny, flavonoidy, pektinové látky, 2 až 4 % volných kyselin a anhtokyanová barviva. Listy obsahují asi 0,75% silic. Z hlediska obsahu vitamínu C se vedle rakytníku, šípku a papriky řadí černý rybíz mezi nejbohatší. [12]

Rybíz rovněž obsahuje vitamín A, E a α -tokoferol. [30]

Z minerálních látek jsou v rybízu a jostě obsaženy především draslík, fosfor vápník dále hořčík, sodík a železo. [30] Na obsah minerálních látek je nejvíce bohatý černý rybíz. Ten také obsahuje 1 až 4 % organických kyselin, které mají baktericidní účinky. Pro zpracování rybízu i josty je důležitý obsah tříslovin, u rybízu se pohybuje v rozmezí mezi 0,42 až 0,8 %, a dále zastoupení antokyanů – červených přírodních barviv. [12]

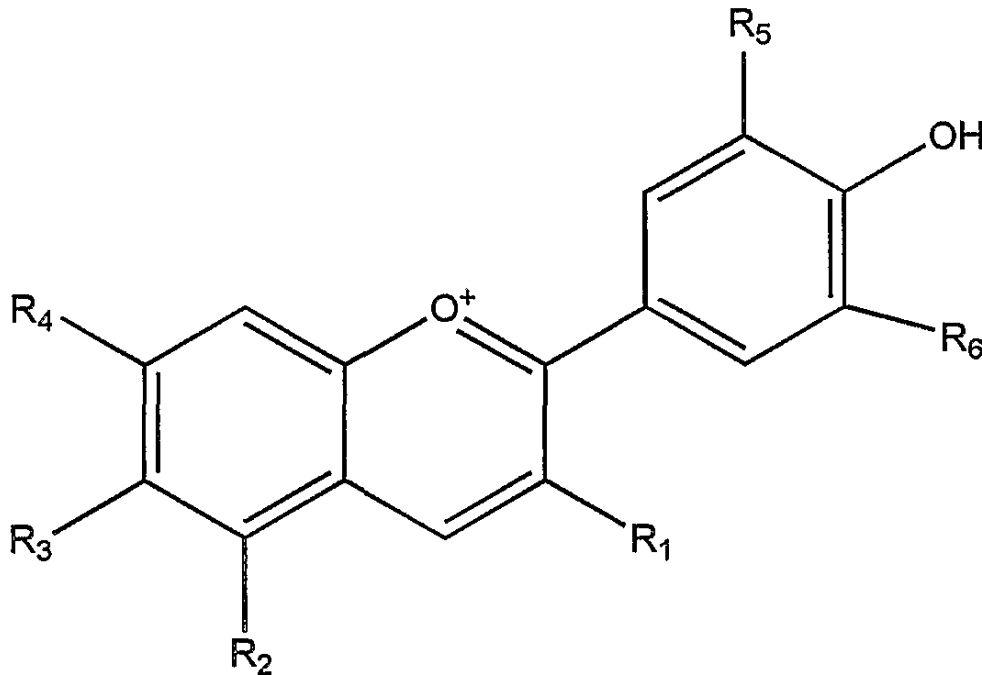
Rybíz a josta jsou významnými zdroji antioxidantů (anthokyanů, fenolických látek a vitamínu C). Antioxidační látky obsažené v potravinách jsou v současné době velmi ceněným parametrem nejen proto, že v potravinách působí jako přirozené konzervační látky, ale i z důvodu pozitivního vlivu na lidské zdraví. Neutralizují účinek volných radikálů tím, že je převádí do méně reaktivního nebo nereaktivního stavu, případně snižují pravděpodobnost jejich vzniku. Snižují tak riziko vzniku srdečně-cévních chorob a některých druhů rakoviny. [5]

Listy černého rybízu se osvědčily v léčitelství jako močopudný prostředek, který vyvolává pocení a působí proti průjmům. Užívá se vnitřně ve formě nálevu při onemocnění z nachlazení, revmatismu, kašli, onemocnění močových cest a průjmům. Plody mají podobné účinky při kašli a chrapotu jako listy, vyvolávají také pocení a jsou vhodné jako prostředek proti dně. Šťáva plodů zvyšuje pružnost cév a odolnost organismu proti nachlazení. Listy i plody podporují látkovou výměnu. [12]

2.3 Popis vybraných nutričních parametrů

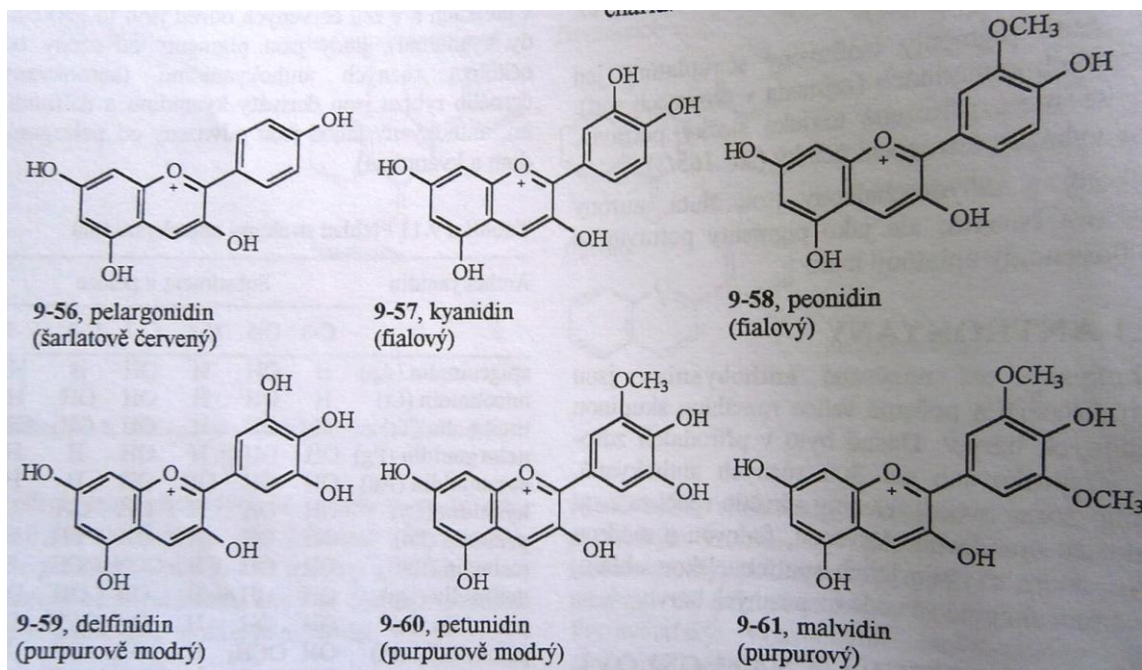
2.3.1 Anthokyany

Anthokyanová barviva patří mezi nejrozšířenější barviva v rostlinách. Jsou to červená až modrá barviva rozpustná ve vodě. Barva je závislá na pH. Anthokyany jsou glykosidy různých aglykonů, tzv. anthokyanidinů. Jejich základem je struktura uvedená na obrázku 17 [30, 31]:



Obrázek 12: Základní struktura antokyanových barviv [32]

V přírodě existuje celkem 15 významných anthokyanidinů, z nichž v potravinách jich má význam pouze šest. Jedná se o anthokyanidiny s hydroxylovou skupinou v poloze C-3, v sestupném pořadí podle četnosti výskytu jsou to kyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin, malvidin (obrázek 13). Barva materiálů, které je obsahují, je do značné míry barvou těchto aglykonů. Volné anthokyanidiny se vyskytují v rostlinných pletivech zřídka. Ve všech rostlinných materiálech jsou hlavními pigmenty anthokyany. V některých druzích ovoce a zeleniny jsou anthokyany odvozené od jediného anthokyanidinu (jablka, červené zelí), v jiných jsou to pigmenty odvozené z různých anthokyanidinů (černý rybíz, jahody). Jako součást molekuly anthokyanů bylo identifikováno pouze pět sacharidů, v sestupném pořadí jsou to D-glukóza, R-rhamnóza, D-galaktóza, D-xylóza a L-arabinóza. [30]



Obrázek 13: Anthokyanidiny významné v potravinách [30]

Anthokyany jsou v rostlinách lokalizovány v buněčných vakuolách a stabilizovány interakcemi typu ion-ion s organickými kyselinami (malonovou, jablečnou, citronovou). Hlavními zdroji jsou plody rostlin čeledi révovitých, růžovitých, lilkovitých, olivovitých, brukvovitých, borůvky, brusinky, černý a červený rybíz a červené odrůdy angreštu. Počet anthokyanů v jednotlivých rostlinách se pohybuje od několika až po více než deset různých pigmentů. Mnoho rostlin však obsahuje ještě další barviva (karotenoidy, chlorofyly aj.), které ovlivňují výslednou barvu. Obsah anthokyanových barviv hraje zásadní roli při určování kvality barvy mnoha druhů čerstvého i zpracovaného ovoce a zeleniny. [30, 33]

Z technologického hlediska je nejdůležitější vlastností anthokyanů barva a její stabilita, která však bývá velmi nízká. Hlavními faktory ovlivňujícími barvu a stabilitu jsou struktura molekuly, přítomnost některých enzymů, pH prostředí, teplota, přítomnost kyslíku a působení záření. Ke změně nebo ztrátě barvy může dojít také reakcemi s jinými složkami potravin, např. s kyselinou askorbovou, oxidem siřičitým, jinými fenoly, kovovými ionty aj.

- **Vliv pH prostředí** – v prostředí o pH 1 a nižším existují anthokyany výhradě jako červeně zbarvené soli, při zvyšování pH barva postupně slábne a přibližně v rozmezí hodnot pH 4,0-4,5 dochází k úplnému odbarvení. Dalším zvyšováním pH vzniká opět purpurově červené zbarvení a při dosažení hodnoty pH 7,5-8 se anthokyany barví modře. Po delší době nebo při dalším zvyšování pH se intenzita modrého zbarvení snižuje a postupně se mění až na žlutou barvu. Při okyselení roztoku na hodnotu pH zhruba 1 se barva opět mění na červenou, avšak transformace je pomalejší a není kvantitativní. V potravinářství je nutné pH prostředí stabilizovat interakcemi s jinými flavonoidy nebo dalšími složkami potravin. V dlouhodobě skladovaných výrobcích vznikají oligomery s barvou

podobnou barvě původních anthokyanů, přičemž původní anthokyany nemusí být přítomny.

- **Vliv struktury** – anthokyanidiny s větším počtem hydroxylových skupin mají spíše modrý odstín, jsou méně stabilní a stabilita se zvyšuje s rostoucím počtem methoxylových skupin. Deriváty s methoxyskupinami mají spíše červený odstín. Glykosidy a jejich acylderiváty mají modré zbarvení a jsou stabilnější. Diglykosidy jsou během skladování, tepelného zpracování a expozice světelnému záření stabilnější než monoglykosidy. Vliv na stabilitu má i druh navázaného cukru. Přítomnost jedné nebo více acylových skupin stabilizuje anthokyany a tyto pigmenty jsou méně citlivé na změny pH.
- **Vliv teploty** – většina anthokyanů vykazuje vyšší stabilitu při zvýšených teplotách používaných při zpracování ovoce a zeleniny, což je dáno ochranným efektem různých složek systému a kondenzací monomerů. Při těchto reakcích vznikají stabilnější oligomery, jejichž množství se zvyšuje s teplotou a dobou skladování. Jsou významnými nositeli barvy především ovocných šťáv a červených vín.
- **Enzymy** – glykosidázy hydrolyzují glykosidové vazby anthokyanů, což vede k tvorbě bezbarvých derivátů. Polyfenoloxidázy se uplatňují v reakcích enzymového hnědnutí.
- **Kyslík a peroxidy** – vzdušný kyslík oxiduje anthokyany na nebarevné či hnědé produkty přímo nebo přítomností jiných labilních sloučenin, které oxidují kyslíkem přednostně, např. kyselina askorbová. Destrukce anthokyanů vyvolaná kyselinou askorbovou probíhá nepřímo působením peroxidu vodíku, který vzniká její oxidací.
- **Záření** – anthokyany jsou nestabilní, pokud jsou vystaveny působení viditelného, ultrafialového nebo ionizujícího záření. Rozklad probíhá především jako fotooxidace. Fluoreskující anthokyany jsou k fotochemickému rozkladu citlivější. [30]

Anthokyany izolované z přírodních zdrojů se jako potravinářská barviva používají více než 100 let, ve formě koncentrátů šťáv z různých plodů ještě déle. Vzhledem k tomu, že intenzivní barvu mají pouze v prostředí o $\text{pH} < 3,5$, jsou vhodné jen pro kyselé potraviny. Jejich význam jako potravinářských barviv roste se zvyšujícím se zájmem spotřebitelů o přírodní látky. Zdroje těchto barviv jsou závislé na dostupnosti rostlinných materiálů, ze kterých se získávají, ale také na ekonomických podmínkách jejich výroby. Z těchto důvodů je průmyslově využíváno pouze několik rostlinných druhů.

Nejčastěji se v potravinářství využívají anthokyanová barviva získávána z hroznů vinné révy. Bohatým zdrojem jsou rovněž plody bezu černého nebo aronie, červeného zelí, květy ibišku, někdy také sladké brambory, pomeranče s červenou dužinou, listy a semena červených odrůd kukuřice a místně také další materiály. [30]

O obsah anthokyanů v potravinách a potravních doplňcích je zájem také z důvodů možných pozitivních účinků na lidské zdraví. Jako příklad lze uvést snížení rizika ischemické choroby srdeční, antioxidační aktivita, protirakovinná aktivita nebo zvýšení ostrosti zraku. Podstatné kvalitativní a kvantitativní informace mohou být získány z celkové charakteristiky anthokyanů. [33]

2.3.2 Fenolové sloučeniny

V přírodě se vyskytuje více než 8 000 fenolických látek, od jednodušších nízkomolekulárních až po složité vysokomolekulární sloučeniny. Přírodní fenoly a jejich deriváty podléhají řadě chemických reakcí, například oxidaci, metylaci, esterifikaci a etherifikaci. Mohou se rovněž účastnit tvorby složitějších látek. Mnoho fenolických sloučenin se podílí na biosyntéze živočišných a rostlinných pigmentů (melamin, anthokyany atd.), vyskytují se ve stěnách rostlinných buněk (např. lignin, suberin), ovoci a zelenině dodávají charakteristickou chuť a vůni a jsou také příčinou charakteristické vůně květin. Fenoly a jejich deriváty jsou také součástí hormonů a antimikrobiálních a protirakovinných léků. [34]

Fenoly jsou součástí prakticky všech potravin. Jsou velmi heterogenní, některé se uplatňují jako vonné látky (např. kumariny), ale také jsou to látky chuťové (např. třísloviny), přírodní barviva (některé chinony, lignany, flavonoidy, stilbeny, xanthony aj.). Některé fenoly vykazují výrazné biologické účinky a řadí se proto mezi přírodní antioxidanty, přirozené toxické složky potravin nebo obranné látky zvané fytoalexiny.

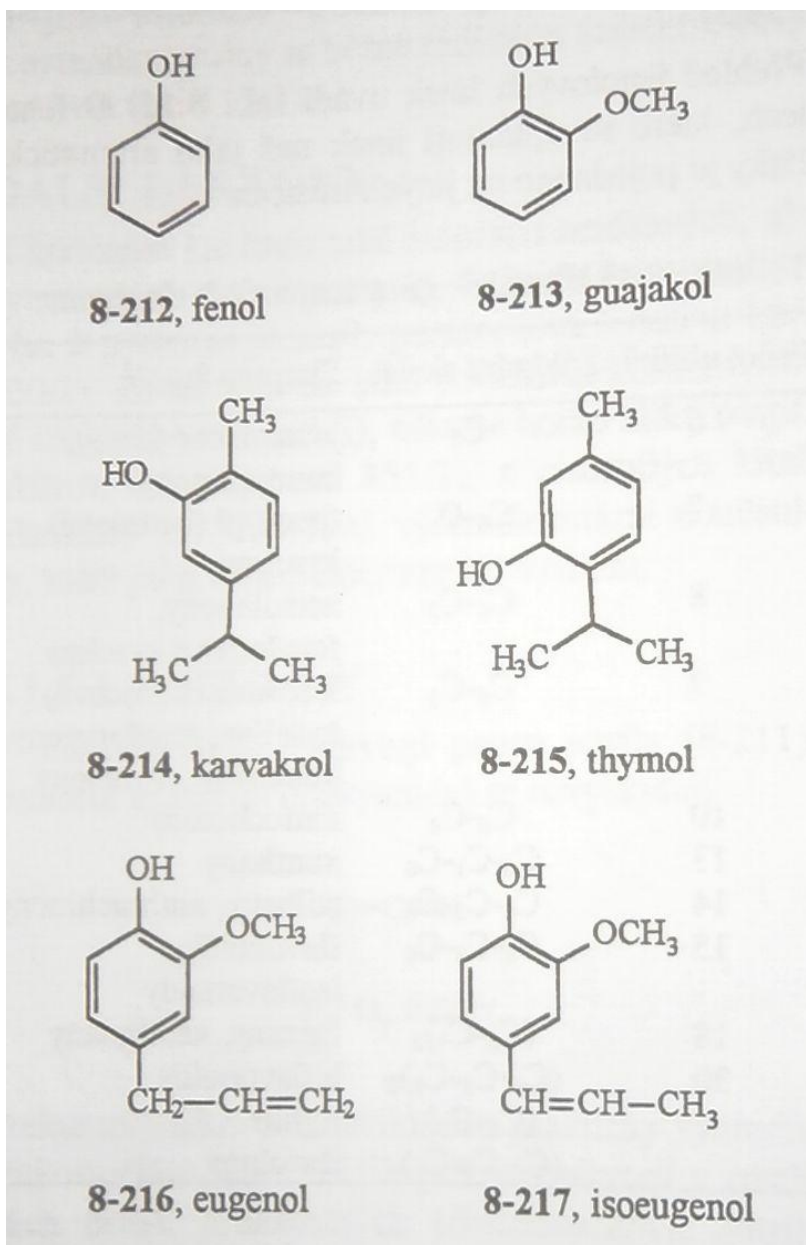
Fenoly uplatňující se v potravinách jako vonné a chuťové látky jsou buď primárními složkami některých silic (karvakrol, tymol, eugenol, isoeugenol aj.), nebo vznikají jako sekundární aromatické látky při zpracování potravin. Sekundárně vznikají zejména působením mikroorganismů z fenolových kyselin a ligninu a také při termických procesech.

Fenoly vznikající činností mikroorganismů se vyskytují jako vedlejší produkty mléčného a alkoholového kvašení (např. koniferylalkohol, fenol, *m*-kresol, *p*-kresol, guajakol). Příklady fenolických látek jsou uvedeny na obrázku 14. [35]

Rostlinné fenoly obsahují jedno nebo více aromatických nebo heterocyklických jader kondenzovaných nebo spojených alifatickým řetězcem. Obsahují jednu nebo více hydroxylových nebo methoxylových skupin. Vyskytují se ve formě glykosidů i aglykonů nejčastěji vázané na cukry. Jednoduché fenoly jsou toxické látky: blokují oxidační fosforylaci, vykazují neurotoxické účinky a mohou působit jako kokarcinogeny. Některé alkyl- a alkenylderiváty fenolů, katecholů a resorcinolů vyvolávají alergické dermatitidy. [35,36]

Tyto sloučeniny jsou významné svými redukčními, antioxidačními a chelatačními vlastnostmi, ovlivňují organoleptické vlastnosti. [36] Oxidací některých fenolů vznikají barevné nenasycené konjugované ketony, nazývané chinony. Reakce tohoto typu jsou podstatou vzniku mnoha přírodních barviv. [34]

Rostlinné fenoly se dělí do několika skupin: fenolové kyseliny a jejich deriváty, třísloviny, deriváty kumarinu, flavonoidy, iso flavonoidy, prenylové flavonoidy, deriváty stilbenu, ostatní fenolové látky. [36] Mezi nejznámější fenolické látky získávané z rostlin patří kyselina salicylová, skořicová, gallová a její deriváty. [34]



Obrázek 14: Příklady fenolických látek [35]

2.3.3. Vitamíny

2.3.3.1 Vitamín A a β -karoten

Vitamín A, neboli retinol, patří, stejně jako vitamíny D, E a K, mezi vitamíny rozpustné v tucích. Společným znakem je také využití isoprenoidní jednotky jako prekurzoru. Pouze u vitamínu K se předpokládá, že jsou součástí kofaktorů enzymů.

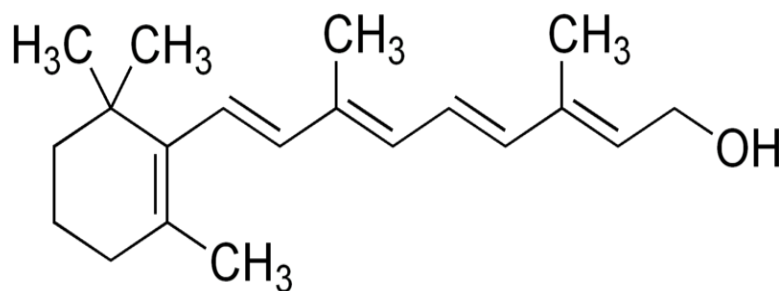
Účinnou formou vitamínu A jsou tetraerpeny retinol (vitamín A₁) a 3-dehydroretinol (vitamín A₂). Vyskytují se pouze v živočišných materiálech, v rostlinách jsou ve formě provitaminů, prekurzorů retinolu a karotenoidů. Ve stěně tenkého střeva pak z těchto prekurzorů vznikají enzymatickou degradací vitamíny A.

Vitamín A objevil v roce 1916 E. V. Mc Collum, strukturu však popsal P. Karrer až v roce 1931. [37]

Retinol je tmavě červená látka, která se na vzduchu a na světle rozkládá. Podporuje růst živočišných buněk, správný vývoj kosterních tkání, normální reprodukci, ovlivňuje biosyntézu glykoproteinů a steroidů a uvolňování lysozomových enzymů. U rostlin se účastní přenosu kyslíku uvolňovaného při fotosyntéze. Vitamíny A mají klíčovou roli v biochemii zrakového vjemu.

Zdrojem fyziologicky účinných karotenoidů, obzvláště pak β -karotenu, je řada druhů ovoce a zeleniny, především mrkev, špenát, petržel, rajčata a další. Velký obsah vitamínu A je rovněž v rybím tuku, másle, vaječných žloutcích a játrech.

Nedostatek vitamínu A se projevuje šeroslepostí, v pozdějším stádiu změnami výstelkové tkáně, zastavením růstu a degenerací reprodukčních orgánů. Dlouhodobý nedostatek tohoto vitamínu vede k vypadávání vlasů, krvácení z nosu a bolesti kloubů. Zásoba vitamínu A je jedním z přirozených ochranných faktorů organismu proti zhoubnému rakovinnému bujení. Doporučená denní dávka je 1 mg. [37]



Vitamín A (Retinol)

2.3.3.2 Vitamíny skupiny B

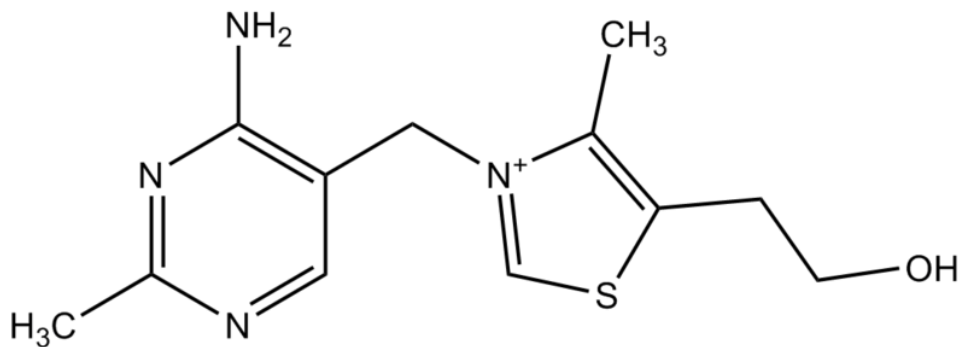
Vitamíny skupiny B patří mezi vitamíny rozpustné ve vodě a jsou nezbytné pro správnou funkci organismu. Společně s vitamínem C (L-askorbát), H (biotin), vitamínem PP (nikotinát) a folátem se rovněž uplatňují jako prekurzory kofaktorů enzymů.

Vitamín B₁ – Thiamin – objevil Ch. Eijkman již v roce 1897, jeho chemickou strukturu však určil R. Williams až v roce 1936. Ve formě difosfátu tvoří kofaktor dekarboxyláz oxokyselin, transketoláz a dalších enzymů. Je syntetizován střevními bakteriemi, rychle se rozkládá v alkalickém prostředí. Doporučená denní dávka pro člověka je 1,4 mg. Thiamin se vyskytuje především v celozrnné mouce, luštěninách droždí, vaječném žloutku, vnitřnostech a hovězím mase. U osob, které jsou živeny převážně loupanou rýží, se projevuje avitaminóza známá jako onemocnění „beri-beri“.

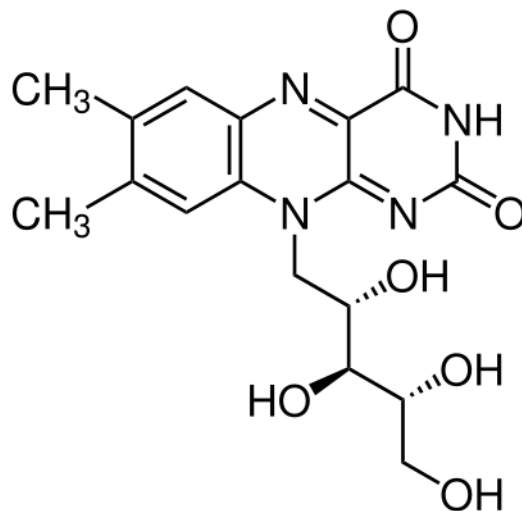
Vitamín B₂ – Riboflavin – izolovali v roce 1932 O. Warburg a W. Christian. V řadě oxidoreduktáz je součástí kofaktorů FMN a FAD. Tvoří oranžovo žluté jehličky a je velmi citlivý na světlo. Denní potřeba pro člověka se pohybuje okolo 2 mg. Riboflavin je ve značné míře obsažen v listové zelenině, rajčatech, obilných slupkách, mléce, vaječném žloutku a vnitřnostech. Nedostatek tohoto vitamínu způsobuje

zánětlivé změny sliznic a kůže, změny oční rohovky, ale může vést také k nervovým poruchám a poruchám růstu. [37]

Název *pyridoxin* zahrnuje všechny tři fyziologicky účinné vitamíny *B₆*, tzv. pyridoxinovou triádu. V roce 1938 byly identifikovány několika skupinami pracovníků. Fosforečný ester pyridoxalu je kofaktorem některých skupin enzymů, které se uplatňují v metabolismu aminokyselin. Denní dávka pyridoxinu je asi 2 mg. Významnými zdroji vitamínů *B₆* jsou maso, játra, droždí, listová zelenina a celozrnná mouka. Avitaminóza je vzácná, způsobuje především nervové poruchy. [37]



Vitamin B₁ (Thiamin)

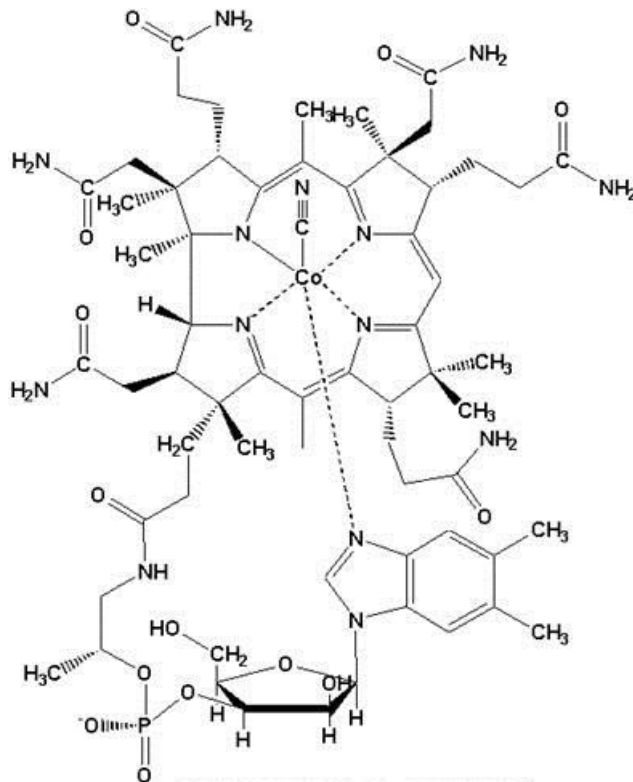


Vitamin B₂ (Riboflavin)

Vitamin B₅ – Pantothenát – objevil R. J. Williams v roce 1931. Je součástí koenzymu A. Doporučená denní dávka se pohybuje v rozmezí 3 až 5 mg. Pantothenát je v malých množstvích v přírodě všeobecně rozšířený. Jeho nedostatek je vzácný, projevuje se apatií, depresí, svalovou slabostí a degenerativními zánětlivými změnami na sliznicích.

Vitamin B₁₂ – kyanokobalamin - patří mezi korinoidy, neboli kobalaminy, látky odvozené od korinu, v nichž je vázaný iont kobaltu. Je součástí mnoha kofaktorů,

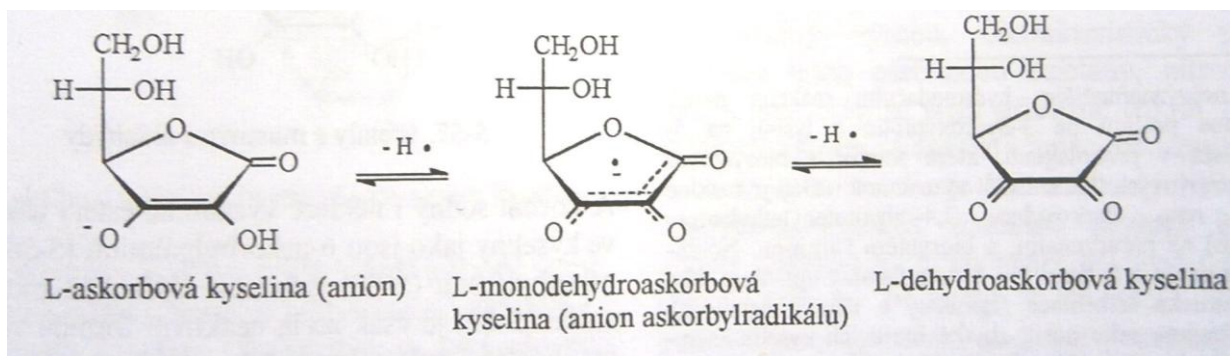
ve kterých je kyanidový aniont nahrazen různými alkylovými skupinami. Enzymy obsahující kobalamin se podílejí na syntéze nukleových kyselin, na metabolismu aminokyselin, bílkovin a dalších biochemických pochodech. Vitamín B12 je esenciální pro všechny živočichy, kteří jej neumí syntetizovat pomocí mikroorganismů střevní mikroflóry. Syntézy však nejsou schopné všechny mikroorganismy, pro laktobacily je vitamín B12 esenciální. Producentem tohoto vitamínu pro farmaceutické účely je *Streptomyces griseus*. Doporučená denní dávka kobalaminu je okolo 3 μg . Významnými zdroji jsou vnitřnosti, především játra. Avitaminóza je příčinou vážné choroby perniciosní anémie, která může být i smrtelná. [37]



Vitamín B₁₂ (Kyanokobalamin)

2.3.3.2 Vitamín C

Vitamín C, neboli L-askorbát poprvé popsali S. S. Zilva (1925) a A. Szent-Györgyi (1926). Kyselý charakter a redukční vlastnosti určují endiolové hydroxyskupiny navázané na uhlících C₂ a C₃. L-askorbát a jeho oxidační produkt L-dehydroaskorbát tvoří redoxní systém, který při biochemických reakcích funguje jako neenzymový přenašeč vodíku. [37]



Obrázek 15: Biologicky aktivní formy vitamínu C [35]

Vitamín C je vitamínem pouze pro člověka a několik dalších živočichů (primáti, morčata a netopýři živící se ovocem). Je kofaktor řady oxidoreduktáz, účastní se hydroxylace kolagenu, steroidů a dalších sloučenin a je součástí obranných mechanismů vůči nemocem a jiným poškozením. Uplatňuje se rovněž jako lapač volných radikálů, naopak v přítomnosti železitých iontů zvyšuje jejich tvorbu. Reaguje s oxidovanými formami vitamínu E, které zabezpečují ochranu vitamínu E a membránových lipidů před oxidací. Ochrannou funkci má i pro labilní formy kyseliny listové. Inhibuje tvorbu nitrosaminů a působí tak jako modulátor mutagenese a karcinogenese. Vitamín C se dále účastní biosyntézy mukopolysacharidů, prostaglandinů, absorpce iontových forem železa, jeho transportu, stimuluje transport sodných, chloridových a zřejmě i vápenatých iontů, uplatňuje se v metabolismu cholesterolu, drog a v řadě dalších reakcí. Vitamín C je rozkládán vzdušným kyslíkem, především pokud je reakce katalyzována měďnatými ionty. Mnoho dalších aktivit vitamínu C je dosud známo je částečně. [35, 37]

Doporučená denní dávka kyseliny L-askorbové se pohybuje v rozmezí 60-200 mg. U pacientů s respiračními chorobami nebo při rekonvalescenci se podávají denní dávky v množství 1000 mg i více. Veškerá potřeba vitamínu C je pokrytá příjmem z potravy. Mezi nejvýznamnější zdroje vitamínu C patří šípky, černý rybíz, zelená paprika, citrony a pomeranče. Z živočišných produktů jsou významnějším zdrojem pouze játra. Nedostatek vitamínu C, čili hypovitaminosa, způsobuje vysychání kůže, hubnutí, pocit únavy, ve vážnějších případech se mohou objevit příznaky kurdějí, a to krvácení z dásní, podkožní krvácení, vypadávání zubů a náchylnost k infekcím. U rostlin a živočichů se za antivitamin C považuje řada oxidoreduktáz uplatňujících se při jeho metabolismu (askorbát oxidáza, askorbát peroxidáza, superoxid dismutáza, monodehydroaskorbát reduktáza, dehydroaskorbát reduktáza). [35, 37]

Díky svým vlastnostem má kyselina askorbová široké použití jako potravinářské aditivum především v konzervářské a kvasné technologii, v cereální technologii a v technologii masa a tuků.

Askorbová kyselina se přidává k ovocným džusům, konzervovanému a mraženému ovoci jako prevence nežádoucích změn aroma vyvolaných oxidací při zpracování a skladování. K odstranění kyslíku v hermeticky uzavřených obalech je nutný přídavek 3-7 mg kyseliny askorbové (podle pH a teploty) na 1 cm³ přítomného vzduchu. Při loupání, krájení a sušení ovoce a zeleniny se používá jako inhibitor reakcí enzymového

hnědnutí v relativně nízkých koncentracích a často v kombinaci s kyselinou citronovou. Vitamin je stabilnější při kyselém pH. [35, 37]

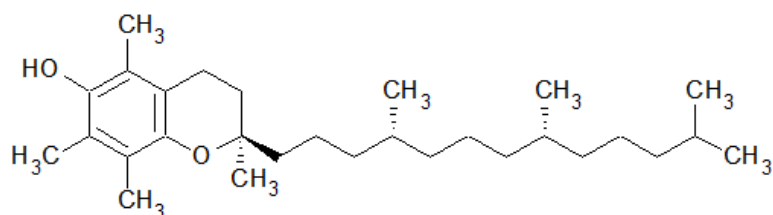
2.3.3.4 Vitamin E

Vitamíny skupiny E, neboli tokoferoly, byly objeveny H. M. Evansem a K. S. Bishopem v roce 1922. Jedná se o látky odvozené od tokolu a tokotrienu – *α-tokoferol*, *β-tokoferol*, *γ-tokoferol* a *δ-tokoferol*. Nejúčinnější z těchto derivátů je *α-tokoferol*, jehož denní potřeba se pohybuje v rozmezí od 10 do 30 mg.

Tokoferoly se vyskytují především v rostlinných materiálech, jako například v oleji obilných klíčků, rostlinných olejích, zelenině a luštěninách. Vyskytují se však také v másle a vejcích, nejsou přítomny v rybím tuku. [37]

Nezanedbatelnou vlastností tokoferolů je jejich antioxidační aktivita. Nejsilnější je pak u *δ-tokoferolu*. Tokoferoly v organismu brání peroxidaci polyenových mastných kyselin, které jsou součástí fosfolipidových membrán. Řada studií potvrdila, že vitamin E snižuje tuto reakci indukovanou UVB zářením tím, že snižuje aktivitu superoxidodismutázy v kůži. [38]

Antioxidačních vlastností tokoferolů se rovněž využívá při stabilizaci tuků a olejů v průmyslové praxi. [37]



Vitamin E

2.3.4 Minerální látky

Minerální látky se vyskytují ve všech živých organismech. [37] Jsou nezbytnou součástí naší výživy a organismus si je nedokáže sám syntetizovat. Proto jsou přijímány v potravě a ve vodě. [39]

Jedná se o anorganické složky, které se účastní mnoha biochemických pochodů. Uplatňují se zejména jako regulátory poměrů pH, iontové síly, osmotického tlaku, elektrické vodivosti a dalších. Některé sloučeniny minerálů se uplatňují jako aktivátory, inhibitory nebo katalyzátory. [37]

Kromě kvantitativního obsahu minerálních látek v organismu je důležitý také jejich vzájemný poměr. Jsou součástí tkáňových struktur, mají význam při vedení nervových vzruchů, uplatňují se však také jako součásti nebo aktivátory enzymů. Mnohé minerální látky hrají důležitou úlohu při prevenci civilizačních chorob. [39]

2.3.4.1 Hořčík

Hořčík má velký význam při srážení krve, tvorbě estrogenů, činnosti žaludku, střev a močového měchýře. Reguluje také srdeční rytmus a stahy svalstva, chrání nervy a pomáhá tělu efektivně využívat vitamíny C a E. Hořčík se rovněž účastní přeměny glukózy na energii, působí jako antistresový činitel, má antialergický, protizánětlivý a antitoxický charakter.

Většina lidí, včetně dětí, má v organismu nedostatečné množství hořčíku. Tento fakt je způsoben skutečností, že hořčík je využíván při metabolismu cukru a výrobků z bílé mouky, čímž se jeho množství v těle snižuje. Proto je vhodné příjem těchto potravin omezit. Důsledkem nedostatku hořčíku jsou svalové křeče, především v lýtkách, závratě, nervozita, tik v oku a střídání průjmu a zácpy. Na zvýšený přísun hořčíku je nutno dbát nejen u dětí, ale také v období těhotenství a kojení, při dlouhodobém stresu a při vrcholových sportech.

Pro správnou aktivaci hořčíku je nutná přítomnost vitamínu E a vápníku. Vhodný poměr hořčíku a vápníku v těle je 1:2. [39]

2.4 Stanovení vybraných nutričních parametrů

2.4.1 Stanovení redukcí cukrů gravimetrickou metodou

Termín „CUKRY“ je souhrnný název pro mono- a oligosacharidy. Cyklické struktury monosacharidů obsahují poloacetalový hydroxyl, který je velmi reaktivní a je zodpovědný za redukční schopnost sacharidu po zahřátí v alkalickém roztoku. Poloacetalový hydroxyl rovněž umožňuje vznik anhydridové „glykosidové“ vazby s další hydroxylovou skupinou jiné molekuly za odštěpení molekuly vody. Vstupuje-li do glykosidové vazby poloacetalovým hydroxylem jen jedna složka disacharidu, vzniká redukcí cukr. Jestliže se na glykosidové vazbě podílí obě monosacharidové jednotky svými poloacetalovými hydroxyly, vzniká neredukující disacharid. [37]

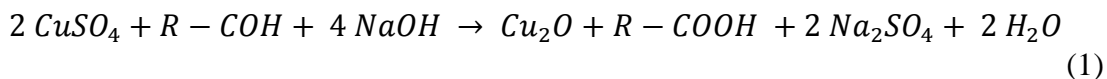
Jako redukcí jsou tedy označovány ty sacharidy, jejichž aldehydová skupina se snadno oxiduje a současně dochází k redukci jiné sloučeniny. Vzhledem k přítomnosti aldehydové skupiny jsou redukcí všechny aldózy, ale díky rychlé bazické izomeraci sérií keto-enol tautomerních přesmyků také některé ketózy, např. fruktóza. Přítomnost redukcí cukrů ve vzorku lze prokázat například Tollensovým činidlem (Ag^+ ve vodném roztoku amoniaku) nebo Fehlingovým činidlem (Cu^{2+} ve vodném alkalickém roztoku vlnanu sodného). Při této reakci dochází k vyredukování kovového stříbra, respektive Cu_2O . [40]

Obsah cukrů v potravinách a potravinářských surovinách je velmi odlišný. V ovoci se vyskytuje především glukóza, fruktóza a sacharóza v množství 2-60 %, v nápojích 0,5–20 % a v sirupech je obsaženo až 65% cukrů. [41]

Stanovení redukcí cukrů je založeno na jejich schopnosti redukovat v alkalickém prostředí měďnaté sloučeniny na oxid měďný. Neredukující cukry je nejprve nutné hydrolyzou rozštěpit na cukry redukcí. [41]

Při gravimetrickém stanovení redukcí cukrů je využita jejich schopnost vyredukovat z alkalického roztoku síranu měďnatého ekvivalentní množství Cu_2O ,

který je žiháním převeden na CuO . Množství vyloučeného Cu_2O závisí a druhu sacharidu, jeho koncentraci ve vzorku a na době varu s Fehlingovými činidly. Stanovení je empirické a výsledky jsou vyhodnoceny pomocí potravinářských tabulek. [42]



2.4.2 Stanovení sušiny

2.4.2.1 Stanovení celkové sušiny

Sušina je tvořena součtem všech organických a anorganických složek v potravíně, kromě vody. Celková sušina je dána součtem rozpustné a nerozpustné sušiny a stanovuje se nejčastěji sušením do konstantní hmotnosti. Rozpustná sušina je souhrn ve vodě rozpustných organických a anorganických látek (cukry, kyseliny, třísloviny, barviva, některé vitamíny a dusíkaté a minerální látky). Stanovuje se buď nepřímo z rozdílu celkové a nerozpustné sušiny, nebo přímo refraktometricky, pyknometricky, pomocí hustoměrů. Nerozpustnou sušinu tvoří organické a anorganické látky nerozpustné ve vodě (pektiny, celulóza, hemicelulóza, bílkoviny, tuky, minerální látky apod.). Stanovuje se z rozdílu celkové a rozpustné sušiny, nebo gravimetricky po vymytí rozpustného podílu vodou a vysušení do konstantní hmotnosti.

Materiály, u kterých nelze dosáhnout konstantní hmotnosti, se suší buď do konstantního úbytku, nebo se k dané navážce a teplotě předepíše i doba sušení. [41]

2.4.2.2 Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143

Metoda je vhodná pro sirupy s různým obsahem cukrů, ovocné šťávy, výrobky z ovoce a pro kondenzované mléko. Refraktometrické stanovení je založeno na proporcionalitě mezi indexem lomu a koncentrací látek rozpuštěných ve vodě. Měří se mezní úhel a stupnice refraktometru je kalibrována v indexu lomu nebo přímo v % sacharózy. [31] Sušina se udává v hmotnostních procentech sacharózy ve vodném roztoku, která má za daných podmínek stejnou refrakci jako analyzovaný vzorek. Hmotnostní procenta lze vyjádřit také jako °Brix, kdy 1 °Brix odpovídá 1 % sacharózy. Refrakce je však ovlivňována přítomností dalších rozpustných látek, např. organických kyselin, minerálních látek a aminokyselin. [41]

Stanovení je rychlé a překvapivě přesné. [31]

2.4.3 Stanovení kyselosti

Organické kyseliny obsažené v potravinářských surovinách a výrobcích jsou sensoricky i technologicky velmi významné. Jedná se o slabé až středně silné kyseliny, většinou jedno- nebo vícesytné alifatické, zřídka aromatické. Celková kyselost je zpravidla

vyjadřována v kyselině, která ve vzorku převládá. Jednotlivé organické kyseliny se stanovují chemickými nebo chromatografickými metodami. [43]

2.4.3.1 Stanovení pH

Pro posouzení aktivní kyselosti produktů je nutné stanovit pH, což je záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových kationtů (rovnice 3) [43]:

$$\text{pH} = -\log c_{H^+} \quad (3)$$

Tato hodnota je velmi důležitá pro posouzení sensorické kyselosti, trvanlivosti potravin a při technologických procesech. Nejpřesnější způsob měření je potenciometricky. Měří se elektromotorické napětí článku referenční (kalomelové) a indikační (skleněné, antimonové, chinhydronové) elektrody.

Na vodíkové a chinhydronové elektrodě probíhají oxidačně-redukční procesy, které ovlivňují přítomnost jiných oxidačních nebo redukčních činidel v roztoku. V případě skleněné elektrody jde o proces výměny iontů, který na přítomnosti uvedených činidel nezávisí. Proto jsou při měření pH v potravinářství upřednostňovány elektrody skleněné. Při měření pH se používá buď metoda kalibračního grafu, nebo kalibrace pH-metru na pufr, jehož pH je blízké pH měřeného roztoku.

Měření pH kapalných potravinářských produktů se provádí přímo, u tuhých vzorků je připravován vodný výluh. V jistých případech však lze provádět měření pH tuhých vzorků přímo pomocí vpichových elektrod (masné produkty, ovoce atd.).

Pro přibližné stanovení pH se používají pH papírky, které jsou napuštěny buď směsnými indikátory, díky kterým lze pH stanovit v širokém rozmezí od pH 1 až pH 13, nebo s jedním indikátorem v úzkém rozmezí, např. 3,4–8,8 pH. Zbarvení pH papírku se porovnává s barevnou škálou. [43]

2.4.3.2 Stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost určuje míru celkové koncentrace kyselin v potravinách. Nejčastějšími organickými kyselinami obsaženými v potravinách jsou kyselina citronová, vinná, jablečná, octová a mléčná. Ovlivňují chuť, barvu (díky působení na antokyanová a další barviva citlivá na pH), mikrobiální stabilitu a kvalitu potravin. V potravinářských produktech jsou však rovněž přítomny anorganické kyseliny (fosforečná, uhličitá), které hrají důležitou, dokonce i převažující roli v kyselosti potravin. Titrační kyselost ovoce spolu se stanovením obsahu cukrů slouží jako indikátor zralosti plodů.

Titrační kyselost je stanovována neutralizací kyselin přítomných ve vzorku pomocí standardizované báze, nejčastěji roztoku hydroxidu sodného, který je však z důvodu své hygroskopičnosti a obsahu nerozpustného uhličitanu sodného nutno standardizovat oproti kyselině o známé koncentraci, nejčastěji kyselině šťavelové. Konec titrace je indikován barevnou změnou indikátoru citlivého na pH (fenolftalein, bromthymolová modř) nebo potenciometricky. Při potenciometrickém stanovení jsou vzorky titrovány do pH 8,1–8,2, což odpovídá bodu ekvivalence fenolftaleinu. [44]

2.4.4 Stanovení formolového čísla

Formolové číslo je jedním z markerů, jejichž stanovení se provádí za účelem detekce falšování výrobků z ovoce a zeleniny. Podle zjištění Státní zemědělské a potravinářské inspekce jsou ovocné výrobky častým předmětem falšování, především pak ovocné šťávy, které jsou vzhledem k objemům výroby falšovány nejčastěji. Důvodem je náhrada či snížení podílu ovocné složky, ale také dosažení vyššího zisku, konkurenceschopnost a další finanční hlediska. [45]

Formolové číslo udává celkový počet aminokyselin ve vzorku. Vzhledem k jejich amfoternímu charakteru nelze aminokyseliny titrovat přímo. Po přidání roztoku formaldehydu se z každé aminokyseliny přítomné v analyzovaném vzorku uvolní jeden kationt H^+ , který je následně potenciometricky titrován roztokem hydroxidu sodného. Počet milimolů hydroxidu sodného na jeden litr vzorku se nazývá formolové číslo.

[41, 45]

2.4.5 Stanovení celkových fenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Folin-Ciocalteuova metoda je jednou ze základních analytických metod při stanovení fenolických látek ve víně a v čaji. Lze ji však použít také pro stanovení polyfenolů v ovoci a zelenině.

Folin-Ciocalteuovo kolorimetrické stanovení je založeno na chemické redukci reagentu, který je tvořen směsí oxidů wolframu a molybdenu. Produkty redukce kovů mají modrou barvu a vykazují absorpci světla v širokém spektru vlnových délek s maximem při 765 nm. Intenzita absorpce světla a jeho vlnová délka je úměrná koncentraci fenolů.

Vývoj barvy je pomalý, ale lze jej urychlit zahřevem vzorku. Avšak nadměrný zahřev způsobuje rychlou ztrátu barvy a načasování kolorimetrického měření je pak obtížně stanovitelné. Reagent je komerčně dostupný, ale lze jej připravit i laboratorně.

Během celého procesu stanovení vzniká velké množství odpadu, který je klasifikován jako nebezpečný. Naštěstí však moderní UV-VIS spektrofotometry umožňují měření vzorku v kyvetách, čímž se sníží jednak náklady na činidla, jednak na nakládání s odpady. [46]

2.4.6 Stanovení anthokyanových barviv pH diferenciální metodou

Pro potravinářské technologie je důležité přesné stanovení obsahu anthokyanů a jejich degradačních indexů. Vzhledem k tomu, že mnoho přírodních potravinářských barviv je od anhtokyanů odvozeno (např. extrakt ze slupky hroznového vína, extrakt z červeného zelí, extrakt z fialové mrkve), lze metody pro měření obsahu anthokyanů použít i pro tyto složky potravin.

Pro určení obsahu monomerních anthokyanů je pH diferenciální metoda velmi vhodná, neboť je rychlá a jednoduchá. Při změně pH dochází ve struktuře anthokyanů k reverzibilním změnám, které se projevují výrazně odlišným absorpčním spektrem. Při pH 1 převládá barevná oxoniová forma, kdežto při pH 4,5 bezbarvá hemiketalová forma. Na této reakci je pH diferenciální metoda založena. Metoda umožňuje rychlé

a přesné měření obsahu antokyanů, a to i za přítomnosti pigmentů degradovaných polymerací a jiných rušivých vlivů. [33]

2.4.7 Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC

Obsah vitamínu C je jedním z faktorů při porovnávání kvality ovoce. Z tohoto důvodu vzrostl zájem o simultánní analýzu potravin z hlediska obsahu kyseliny askorbové (AA) a kyseliny dehydroaskorbové (DHAA). Obě kyseliny se navzájem liší svými vlastnostmi, a je proto obtížné stanovit je současně. Při simultánní analýze je nutné zvolit metodu s dostatečnou citlivostí a selektivitou, vhodný výběr interních standardů, detektoru, retence AA a DHAA a stabilita kyselin v roztoku. Ke stanovení celkového obsahu vitamínu C je obvykle potřeba redukovat DHAA na AA pomocí redukčních činidel. [47]

Kyselina askorbová je malá polární molekula rozpustná ve vodě, omezeně rozpustná v acetonitrilu, kyselině octové a alkoholech s krátkým řetězcem (methanol, ethanol). Je zcela nerozpustná v etheru, chloroformu, benzenu, petroletheru, olejích a tucích. Největší ztráty vitamínu C v ovoci a zelenině způsobují endogenní oxidační enzymy askorbát oxidáza a askorbát peroxidáza. Dalšími faktory jsou světlo, teplota, nasycení kyslíkem a přítomnost kovů. V potravinách rostlinného původu bývá 90–95 % vitamínu C ve formě AA, zbytek tvoří DHAA. [47, 48]

Existuje mnoho způsobů stanovení obsahu vitamínu C ve vzorku. U spektrofotometrických a enzymatických metod, čili metod založených na reverzibilní redoxní reakci oxidované AA, resp. redukované DHAA, není zajištěna specifická a může dojít k interferenci s dalšími redukčními činidly. Při spektrofotometrickém stanovení se jedná o ionty železa a mědi, cukry nebo kyselinu glukuronovou. U enzymatických metod může dojít k interakci s citrátem nebo peroxidem vodíku. Dalšími metodami vhodnými pro stanovení obsahu vitamínu C jsou titrační metody, chemiluminiscence, průtoková injekční analýza (FIA), kapilární zónová elektroforéza (CZE) a plynová chromatografie (GC). [48,49]

Vitamín C je jedním z nejméně stabilních vitamínů. Při stanovení jeho obsahu je kladen důraz na podmínky extrakce a skladování roztoků. Aby nedošlo k degradaci nebo ztrátám, měla by extrakce vitamínu C probíhat v roztocích o úzkém pH. Proto se jako extrakční činidlo často používá kyselina. Optimální pH pro zajištění stability a dostatečné výtěžnosti AA se pohybuje okolo 2,1. Mezi nejpoužívanější extrakční činidla patří kyselina metafosforečná, trichloroctová nebo šťavelová. Lze také použít různé příměsi, např. methanol, ethanol, EDTA, kyselinu diethylenetriamipentaoctovou, kyselinu orthofosforečnou, homocystein, glutathion a další. [48,49]

Nejpoužívanějšími systémy pro stanovení obsahu vitamínu C jsou HPLC-RP, iontopárová chromatografie, iontovýměnná chromatografie a chromatografie s iontovou výlukou. V současné době je také velmi populární technikou kapalinná chromatografie označována jako HILIC, která využívá hydrofilních interakcí. Mobilní fáze pro stanovení vitamínu C jsou často složité s více než dvěma složkami, které mohou obsahovat modifikátory, případně další činidla. [47]

2.4.7.1 Chromatografie na reverzí fázi (HPLC-RP)

Pro stanovení AA a DHAA se používají stacionární fáze s oktadecylově (C18) modifikovaným silikagelem (ODS). Nevýhodou však je, že dochází ke špatnému rozlišení AA a mrtvého retenčního objemu. Pro dostatečnou retenci je nutné použít v mobilní fázi vysoké procento vody (někdy až 100 %) obvykle v anorganické nebo organické kyselině nebo v anorganickém pufru. Díky kyselinám, resp. pufrům, je zajištěno nízké pH potřebné pro udržení neutrálních forem kyselin v systému.

Mobilní fáze pro analýzu AA a DHAA obsahuje nejčastěji kyselinu trifluoroctovou, sírovou nebo fosforečnou s pH okolo 2,0.

Nevýhodou mobilní fáze se 100 % obsahem vody je nepřítomnost organického modifikátoru, který pozitivně ovlivňuje účinnost separace na stacionární fázi (ODS). Další nevýhodou je velmi nízké pH, které přispívá k rychlejší degradaci kolony na bázi silikagelu, protože se rozpouští oxid křemičitý. [47]

2.4.7.2 Iontopárová chromatografie

U této chromatografické metody jsou používána iontopárová činidla společně s anorganickými pufrů. Anorganické pufrů však mohou způsobovat potíže, neboť anorganické soli mohou ucpat některé prvky v chromatografickém systému, což vede k poruchám přístroje. Při přechodu z vodného pufru do elučního činidla s příměsí organického činidla je nutné postupovat pomalu, aby nedošlo k vysrážení pufru. Vzhledem k tomu, že anorganické pufrů nejsou těkavé, nejsou kompatibilní s hmotnostní detekcí. Iontová činidla mají sklon způsobovat nestabilitu při dělení. Mohou také s každým nástřikem postupně zvyšovat tlak. Mobilní fáze u tohoto systému je velmi složitá, skládá se z pěti i více složek. Retence závisí na typu a koncentraci iontopárového činidla a analytické kolony.

Z výše uvedených důvodů není iontopárová chromatografická technika vhodná pro moderní analytické laboratoře. [47]

2.4.7.3 Iontovměnná chromatografie

Tato technika využívá faktu, že AA je slabá organická kyselina a může tak být zachycena silným anionto měničem. Dříve se také používaly metody se stacionární fází modifikovanou aminoskupinou. Jako mobilní fáze se používá anorganická kyselina nebo pufr při nízkém pH.

Tento postup se však pro stanovení obsahu AA a DHAA neujal. [47]

2.4.7.4 Chromatografie s iontovou vylukou (exkluzí - ion-exclusion)

U tohoto chromatografického systému je stacionární fáze tvořena sulfonovanými sférickými polystyren/divinylbenzenovými (PS/DVB) pryskyřicemi v různé iontové formě. Retence je na kolonách řízena elektrostatickými odpudivými silami, hydrofobními interakcemi a efektem iontové vyluky. Sulfoskupina na stacionární fází odpuzuje elektrostatickými silami ionty se stejným nábojem, aby nepronikaly do porézního systému. Mobilní fází tvoří anorganická kyselina (sírová, fosforečná, sulfonová) bez organického modifikátoru.

Silně ionizované rozpuštěné látky jsou vyloučeny z pórů. Neutrální rozpuštěné látky nejsou ovlivňovány elektrostatickými silami, vstupují do pórů a díky hydrofobním interakcím se štěpí. AA a DHAA jsou eluovány někde mezi těmito dvěma skupinami analytů. Retence je také ovlivněna velikostí molekul.

Výhodou této metody je odolnost stacionární fáze vůči velmi kyselým mobilním fázím. Tato metoda byla nejvíce využívána v 90. letech minulého století. [47]

2.4.7.5 Kapalinová chromatografie s hydrofilními interakcemi (HILIC)

HILIC je alternativní metoda k RP-HPLC. Je vhodná pro analýzu malých polárních molekul, které se vážou slabými vazebnými interakcemi nebo jsou vymývány s mrtvým objemem RP-HPLC systémů. Analyt je rozdělen mezi vodou obohacenou vrstvou nehybného eluentu na hydrofilní stacionární fázi a poměrně hydrofobní části elučního činidla. Eluční činidlo obsahuje 5–40 % vody, zbytek tvoří acetonitril. Mobilní fáze tedy obsahuje vysoký podíl organického rozpouštědla, díky čemuž je vhodné spojení s MS detekcí. Eluce je zajištěna zvyšování polarita mobilní fáze (přidáváním vodné složky). HILIC lze aplikovat pro stanovení většiny polárních sloučenin s nábojem i bez náboje. AA byla touto metodou (bez DHAA) analyzována v potravinách, nápojích a léčivech. [47]

V závislosti na pH absorbuje AA UV záření při vlnové délce 245–265 nm. DHAA absorbuje záření při vlnové délce 185 nm, ale nad 220 nm je absorbance slabá. Dalšími používanými detekčními metodami jsou elektrochemická detekce (ED), fluorescenční detekce (FD) nebo hmotnostní spektrometrie (MS), která je nejcitlivější a vykazuje nejvyšší selektivitu. Pouze některé metody analýzy AA a DHAA využívají vnitřních standardů, proto lze stanovovat analyzované vzorky v komplexních maticích, včetně potravin a biologických tekutin. [47]

2.5 Popis uspořádání vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC)

Chromatografické metody patří mezi separační techniky. Princip je založen na separaci jednotlivých složek vzorku mezi dvě navzájem nemísitelné fáze – mobilní a stacionární. V současné době je však nejvíce preferovanou metodou vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Oproti spektrofotometrickým, titračním nebo enzymatickým metodám poskytuje tato vyšší selektivitu a obvykle není nutná derivatizace. [53,54]

HPLC je vhodná pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin, neboť se obvykle pracuje při laboratorní teplotě. Jako mobilní fáze se používá kapalina. Nejčastěji se využívá eluční vyvíjení chromatogramu, kdy je nadávkován vzorek a současně se přivádí eluční činidlo.

Základní součásti chromatografu jsou čerpadlo, injektor, kolona, detektor a vyhodnocovací zařízení.

Mobilní fáze (MF) je uchovávána ve skleněných lahvích a před dávkováním čerpadlem a kolonu musí být odplyněna např. vakuovým odplyňovačem, který je součástí přístroje. U starších přístrojů se odplynění provádí ručně pomocí ultrazvuku. Moderní přístroje směšují jednotlivé mobilní fáze ve směšovací komoře podle předem zvoleného poměru. Takto připravená MF je potom čerpána na kolonu. Eluce může být dvojího typu: izokratická, kdy se složení MF během analýzy nemění, nebo gradientová, při níž se poměr složek MF v průběhu analýzy mění, čímž se může zvyšovat eluční síla MF. HPLC čerpadla musí splňovat dva základní požadavky, a to schopnost udržet vysoký tlak (až 42 MPa) a nízký průtok (0,1–10 ml/min) s co nejnižšími rázy.

Dávkování vzorku může probíhat několika způsoby. Nejjednodušší je dávkování pomocí injekční stříkačky o malém objemu do dávkovací smyčky. Ta nadávkuje přesný objem na kolonu a zbytek vypustí do odpadu. Součástí moderních přístrojů

je automatický dávkovač – autosampler, který potřebný objem nadávkuje podle předem zvolených požadavků. [50]

V HPLC se nejčastěji používají kolony částicové, méně pak monolitické. Náplň částicových kolon tvoří velké množství malých částic s velkým povrchem. Délka kolon je 15–25 cm s vnitřním průměrem 2–5 mm. Materiál náplně může být nemodifikovaný nebo modifikovaný (oktyl-, oktadecyl-, amino-, ...) silikagel, oxidy kovů (oxid hlinitý, titaničitý, zirkoničitý), hybridní částice (organosiloxany), organické polymery (styren-divinylbenzen) nebo monolity (kontinuální separační média). Částicové kolony s nemodifikovaným silikagelem jsou polární a nejvíce zadržují polární látky. Modifikovaný silikagel se používá k separaci nepolárních a slabě polárních látek. Monolitické kolony jsou plněny porézním síťovaným materiálem syntetizovaným přímo v koloně (in-situ). Nejčastěji se jedná o silikagel a organické polymery. [50]

Použití vhodného typu detektoru v HPLC závisí na vlastnostech a struktuře separovaných látek a na typu a složení mobilní fáze. S HPLC jsou kompatibilní UV/VIS, refraktometrický, fluorimetrický a elektrochemický detektor, detektor rozptylu světla a MS detektor. V novějších přístrojích se nejčastěji využívá detektor s diodovým polem (DAD), který je možné použít pro detekci látek, které jsou schopné absorbovat záření v UV/VIS oblasti. Množství analytu je tak přímo úměrné množství absorbovaného záření. DAD umožňují snímat celé spektrum vlnových délek v reálném čase. Jako zdroj UV záření se používá deuteriová lampa, pro viditelné záření lampa wolframová. [51]

Počítač připojený k chromatografu zaznamenává a vyhodnocuje data. Výrobce přístroje obvykle dodá i příslušný software, který je schopen automaticky vyhodnotit retenční charakteristiky a z plochy píků vypočítat koncentraci příslušných složek vzorku. [51]

Výsledkem separačního procesu je chromatogram, což je závislost odezvy detektoru na čase, někdy také na objemu. Retenční čas t_R je doba od nástřiku po maximální eluci daného analytu. Je to charakteristická veličina pro jednotlivé separované složky vzorku a je hlavním kritériem pro kvalitativní analýzu. Dalšími retenčními charakteristikami jsou mrtvý retenční čas t_M (doba, kterou inertní látka stráví v koloně) a redukovaný retenční čas $t_{R'}$ (rozdíl retenčního času a mrtvého retenčního času). Pro kvantitativní analýzu jsou hlavními kritérii plocha a výška píku. [51]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Popis vzorků

Vybrané chemické parametry ovocné šťávy byly stanovovány v plodech josty, černého, červeného a bílého rybízu různých odrůd. Josta pocházela od soukromého pěstitele z obce Padochov, všechny druhy rybízu dodal Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s. r. o. Po převozu do laboratoře byly vzorky uchovávány v mrazáku.

Označení „véčko“ a „keř“ u jednotlivých odrůd popisuje jejich pěstební tvar. Keř znamená volně rostoucí rostlinu s maximálně pěti větvemi. Věčko je rostlina pouze se dvěma větvemi ve tvaru písmene V uchycená v drátěnce.

Tab. 7. Přehled analyzovaných vzorků

Č. vzorku	Druh vzorku
1	Josta 2013
2	Josta 2012
3	Černý rybíz DÉMON - věčko 2013
4	Černý rybíz DÉMON - keř 2013
5	Černý rybíz OMETA - věčko 2013
6	Černý rybíz OMETA – keř 2013
7	Černý rybíz TRITON - věčko 2013
8	Černý rybíz LOTA - věčko 2013
9	Černý rybíz MORÁVIA - věčko 2013
10	Černý rybíz MORÁVIA - keř 2013
11	Černý rybíz BEN GAIRN - věčko 2013
12	Černý rybíz BEN GAIRN - keř 2013
13	Bílý rybíz PRIMUS - věčko 2013
14	Bílý rybíz PRIMUS - keř 2013
15	Červený rybíz DETVAN - keř 2013
16	Červený rybíz JESAN - keř 2013

3.1.1 Příprava ovocných šťáv

Plody jednotlivých odrůd rybízů a josty byly rozmrazeny a zbaveny zelených částí. Následně byly odšťavněny pomocí mlýnku na ovoce. Získaná šťáva byla jímána do kádinky a odstředěna na centrifuze při 3000 ot./min. Supernatant byl přefiltrován na analytické nálevce přes filtrační papír K02. Takto připravené šťávy byly uchovávány v lednici až do doby použití pro jednotlivá stanovení.

3.2 Laboratorní vybavení

3.2.1 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Porcelánové odpařovací misky
- Exsikátor
- Filtrační papír K02, KA0 (Papírny Pernštejn, ČR)
- Centrifugační kyvety
- Skleněná kyveta
- Byreta 25 ml
- Odměrné baňky (25 ml, 100 ml, 1 l)
- Nedělené pipety (10 ml, 20 ml, 25 ml)
- Filtrační kelímek S4
- Sada zkumavek
- Stojan na zkumavky
- Vodní vývěva
- Büchnerova nálevka
- Odsávací baňka
- Mikropipety 200 µl, 1000 µl (Biohit, Finsko)
- Automatická pipeta 5,0 ml (Biohit, Finsko)
- Injekční stříkačky 2,0 ml (Chirana Injekta, SR)
- Celulózoové mikrofilmy 0,45 µm (Chromservis, ČR)
- Vialky 1,5 ml (Agilent, USA)

3.2.2 Chemikálie

- Pentahydrát síranu měďnatého (Lachem, ČR)
- Tetrahydrát vinanu sodno-draselného (Lachema, ČR)
- Etanol (Penta, ČR)
- Diethylether (Penta, ČR)
- Pufry pro kalibraci pH metru Hanna Instruments (USA)
- Hydroxid sodný, p. a. (Lach-Ner, ČR)
- Dihydrát kyseliny šťavelové, p. a. (Penta, ČR)
- Fenolftalein (Lachema, ČR)
- Formaldehyd 35 % (Lach-Ner, ČR)
- Bezvodý uhličitan sodný, p. a. (Lachema, ČR)
- Kyselina gallová (Penta, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Penta, ČR)
- Chlorid draselný, p. a. (Lachema, ČR)
- Trihydrát octanu sodného, p. a. (Lachem, ČR)
- Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (Lach-Ner, ČR)
- Redestilovaná voda

- Kyselina L-askorbová (Riedel-de Haen, Německo)
- Kyselina metafosforečná (Fluka, Německo)
- Dihydrogendosforečnan draselný (Lachema, ČR)
- Metanol, HPLC-grade (Sharlau chemie a. s., Španělsko)

3.2.3 Přístroje

- Mlýnek na ovoce (Porkert, ČR)
- Analytické váhy A&D Instruments HR-120 EC (A&D Instruments, Japonsko)
- Předvážky A&D Instruments EK-600H (A&D Instruments, Japonsko)
- Elektrický vaříč (ETA, ČR)
- Sušárna Memmert UFE550 (Memmert, Německo)
- pH metr Hanna Instruments HI 221 (Hanna Instruments, USA)
- UV-VIS spektrofotometr Helios Gamma (Spectronic Unicam, USA)
- Abbeho refraktometr (Zeiss, Německo)
- Elektromagnetická míchačka IKA (IKA, USA)
- Centrifuga MLW T52.1 (MLW, Německo)
- Membránová vývěva (Labicom, ČR)
- Vortex (TTS 2 Yellow line, USA)
- Vodní lázeň (Kraintek, SR)
- homogenizátor Ultra Turrax T18 (IKA, Německo)
- HPLC kolona Gemini C18 (Agilent, USA)

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Příprava roztoků

3.3.1.1 Příprava Fehlingova roztoku I

Na předvážkách bylo naváženo 69,3 g pentahydrátu síranu měďnatého. Navážka byla kvantitativně převedena destilovanou vodou do odměrné baňky o objemu 1000 ml a po rozpuštění byla baňka doplněna destilovanou vodou po rysku. Roztok byl důkladně promíchán.

3.3.1.2 Příprava Fehlingova roztoku II

Na předvážkách bylo naváženo 150 g hydroxidu sodného a 346 g tetrahydrátu vinanu sodno-draselného. Obě navážky byly kvantitativně převedeny destilovanou vodou do odměrné baňky na 1000 ml a po rozpuštění byla baňka doplněna destilovanou vodou po rysku. Obsah byl důkladně promíchán.

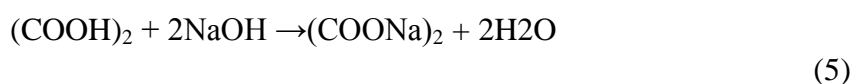
3.3.1.3 Příprava roztoku hydroxidu sodného, $c = 0,25 \text{ mol/l}$

Na předvážkách bylo naváženo 10,00 g hydroxidu sodného, který byl následně kvantitativně převeden destilovanou vodou do odměrné baňky o objemu 1000 ml. Po rozpuštění byla baňka doplněna destilovanou vodou po rysku a obsah byl důkladně promíchán. Před stanovením byl roztok standardizován roztokem kyseliny šťavelové

o koncentraci 0,1 mol/l a přesná koncentrace roztoku hydroxidu sodného byla vypočítaná dle vztahu (4):

$$c_{(NaOH)} = \frac{2 \cdot c_2 \cdot V_2}{V_1} \text{ [mol/l]}, \quad (4)$$

kde $c_{(NaOH)}$ je přesná koncentrace roztoku NaOH, koeficient 2 byl získán z rovnice (5), c_2 je přesná koncentrace kyseliny šťavelové, V_2 je objem kyseliny šťavelové použitý ke standardizaci (10 ml), V_1 je průměrná spotřeba NaOH.



3.3.1.4 Příprava roztoku kyseliny šťavelové, $c = 0,1 \text{ mol/l}$

Nejprve byla vypočtena hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml odměrného roztoku o koncentraci 0,1 mol/l. Na analytických vahách bylo s přesností na jednu desetinu miligramu odváženo cca 1,26 g dihydrátu kyseliny šťavelové, navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 100 ml. Po rozpuštění byla baňka doplněna destilovanou vodou po rysku a obsah byl důkladně promíchán. Po té byla vypočtena přesná koncentrace připraveného roztoku dle vztahu (6):

$$c_{(COOH)_2} = \frac{m}{M \cdot V} \text{ [mol/l]}, \quad (6)$$

kde $c_{(COOH)_2}$ je koncentrace kyseliny šťavelové, m je navážka dihydrátu kyseliny šťavelové, M je molární hmotnost kyseliny šťavelové (126,07 g/mol) a V objem zásobního roztoku kyseliny šťavelové (100 ml).

3.3.1.5 Příprava roztoku uhličitanu sodného, $c = 75 \text{ g/l}$

Na předvážkách bylo do kádinky naváženo 7,5 g bezvodého uhličitanu sodného, který byl po rozpuštění v 50 ml vody kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 100 ml. Kádinka byla několikrát vypláchnuta vodou. Po té byla odměrná baňka doplněna po rysku a obsah byl řádně promíchán.

3.3.1.6 Příprava roztoku kyseliny gallové, $c = 1 \text{ g/l}$

Na analytických vahách bylo naváženo 0,250 g kyseliny gallové. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 25 ml a po rozpuštění byla baňka doplněna vodou po rysku. Obsah byl řádně promíchán.

3.3.1.7 Příprava pufru KCl, $c = 0,025 \text{ mol/l}$, $pH = 1$

Na analytických vahách bylo naváženo 0,9305 g KCl. Po rozpuštění ve 480 ml destilované vody byl roztok okyselen koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou

až do pH = 1. Následně byla směs kvantitativně převedena do 500 ml odměrné baňky a baňka byla doplněna vodou po rysku. Pufr byl řádně promíchán.

3.3.1.8 Příprava pufru CH_3COONa , $c = 0,4 \text{ mol/l}$, $\text{pH} = 4,5$

Na analytických vahách bylo naváženo 27,2163 g trihydrátu octanu sodného, který byl následně rozpuštěn ve 460 ml destilované vody. Roztok byl okyselen koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou až do pH = 4,5 a kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml a baňka byla doplněna vodou po rysku. Obsah byl řádně promíchán.

3.3.1.9 Příprava mobilní fáze pro HPLC – fosfátový pufr:methanol (9:1)

Mobilní fáze byla připravena dle normy ČSN EN 14130 z roku 2004. [52]

Na analytických vahách bylo naváženo 13,6025 g dihydrogenfosforečnanu draselného. Navážka byla kvantitativně převedena do litrové zásobní lahve pomocí 900 ml redestilované vody a byla dokonale rozpuštěna. Po té bylo přidáno 100 ml methanolu a obsah byl řádně promíchán.

3.3.1.10 Příprava extrakčního roztoku 6% kyseliny metafosforečné

Na předvázkách bylo naváženo 30 g kyseliny metafosforečné. Navážka byla kvantitativně rozpuštěna v 300 ml horké redestilované vody. Po ochlazení byl roztok kvantitativně převeden do 500 ml odměrné baňky a doplněn po rysku redestilovanou vodou. Obsah byl promíchán. Roztok byl uchováván v lednici při 4°C.

3.3.1.11 Standardní roztok kyseliny askorbové $c = 1 \text{ g/l}$

Na analytických vahách bylo naváženo 0,0500 g kyseliny askorbové. Navážka byla kvantitativně převedena do 50 ml odměrné baňky pomocí 6% kyseliny metafosforečné a doplněna touto kyselinou po rysku. Obsah byl řádně promíchán.

3.3.2 Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou

Čisté filtrační kelímky S4 byly vloženy do sušárny a sušeny při 105°C po dobu 45 min. Po vychlazení v exsikátoru byly zváženy.

Do odměrné baňky o objemu 100 ml, která byla před tím zvážena na analytických vahách s přesností na čtyři desetinná místa, byl napipetován 1 ml vzorku ovocné šťávy a baňka byla zvážena na analytických vahách s přesností na jednu desetinu miligramu. Obsah baňky byl doplněn destilovanou vodou po rysku a řádně promíchán.

Do Erlenmeyerovy baňky bylo napipetováno po 20 ml Fehlingova roztoku I a II a směs byla zahřáta na 60°C. Po té bylo přidáno 20 ml zředěné ovocné šťávy a směs byla přivedena k varu. Var byl mírný a trval 2 minuty. Po té byla baňka ochlazená proudem studené vody. Sraženina oxidu měďného klesla ke dnu a kapalina byla odsána pomocí vývěvy přes filtrační kelímek S4. Oxid měďný v baňce i v kelímku byl neustále udržován pod hladinou kapaliny. Sraženina byla kvantitativně převedena na fritu, důkladně promyta horkou vodou, třikrát promyta ethanolem a nakonec diethyletherem. Filtrační kelímek byl vložen do vyhřáté sušárny a sušen přesně 45 min při teplotě 105°C. Po vychlazení v exsikátoru byl kelímek zvážen.

Hmotnost filtračního koláče byla získána z rozdílu hmotností kelímků s filtrátem po usušení a čistých vysušených filtračních kelímků. Pro výpočet obsahu redukujících

cukrů bylo využito skutečnosti, že 1 mg Cu_2O odpovídá 0,462 mg redukujících cukrů. Celkový obsah redukujících cukrů byl vyjádřen v hmotnostních procentech podle vztahu (7). Stanovení bylo provedeno třikrát pro každý vzorek. [41]

$$w_{RC} = \frac{m_{(\text{Cu}_2\text{O})} \cdot 0,462 \cdot f_{zř} \cdot 100}{m_{\text{navážka}}} (\%), \quad (7)$$

kde w_{RC} je obsah redukujících cukrů v hmotnostních procentech, $m_{(\text{Cu}_2\text{O})}$ je hmotnost oxidu měďného získaného filtrací a následným vysušením, $f_{zř}$ je zředovací faktor (v tomto případě 5), $m_{\text{navážka}}$ je hmotnost 1 ml ovocné šťávy navážené do odměrné baňky.

3.3.3 Stanovení celkové sušiny

Petriho misky byly vysušeny v sušárně při 105°C a po vychladnutí v exsikátoru byly zváženy na analytických vahách. Do misek byly naváženy 2–3 g vzorku, vzorek byl rozdrcen v třecí misce tloučkem, a po té kvantitativně převeden destilovanou vodou do Petriho misky. Vzorky byly sušeny do konstantní hmotnosti po tři dny, z toho 24 h při 50°C , 24 h při 75°C a 24 h při 105°C . Po vychlazení v exsikátoru byly Petriho misky zváženy. Celkový obsah sušiny byl vypočten podle vztahu (8):

$$w_s = \frac{(m_{sm} - m_m) \cdot 100}{m} (\%), \quad (8)$$

kde w_s je obsah sušiny v hmotnostních procentech, m_{sm} je hmotnost Petriho misky s vysušeným vzorkem, m_m je hmotnost Petriho misky a m je původní navážka.

3.3.4 Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143

Odhad byl proveden pomocí refraktometru. Před začátkem měření byly hranoly refraktometru opláchnuty destilovanou vodou a ethanolem a otřeny gázou do sucha. Na spodní hranol byla tyčinkou nanесena a rozetřena destilovaná voda a po přiklopení horního hranolu a zabezpečení klíčem byl nastaven sklon hranolů tak, aby rozhraní světla a stínu bylo v průsečíku kříže. Stupnice byla nastavena na nulu. Po té byly hranoly odklopeny, osušeny, potřeny ethanolem a vytřeny do sucha a na spodní hranol byla tyčinkou nanесena a rozetřena ovocná šťáva. Asi po jedné minutě, po ustálení teploty, byl odečten index lomu a % sušiny, obojí s přesností na čtyři desetinná místa. Měření bylo provedeno pro každý vzorek třikrát. Pro daný index lomu byl v příslušné tabulce vyhledán obsah rozpustné sušiny v hmotnostních procentech a ze tří paralelních stanovení byl vypočítán aritmetický průměr. [41]

3.3.5 Měření pH ovocné šťávy

Před začátkem měření byl pH-metr kalibrován pomocí pufrů o pH 4,01 a pH 7,01 pro měření v kyselém prostředí. Po kalibraci byla elektroda omyta vodou a osušena. Následně byla ponořena do vzorku ovocného sirupu a po ustálení hodnoty bylo odečteno pH. Ze tří paralelních stanovení pro každý vzorek byl vypočten aritmetický průměr.

3.3.6 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného:

Z připraveného odměrného roztoku kyseliny šťavelové bylo 10 ml odpipetováno do titrační baňky a po přidavku tří kapek fenolftaleinu byla směs titrována odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvale růžového zbarvení. Titrace byla provedena třikrát a z průměrné spotřeby byla podle vzorce (9) vypočítaná skutečná koncentrace roztoku hydroxidu sodného.

$$c_2 = \frac{2 \cdot c_1 \cdot V_1}{V_2} \text{ [mol/l]}, \text{ [41]} \quad (9)$$

kde c_2 je skutečná koncentrace odměrného roztoku NaOH, c_1 je koncentrace odměrného roztoku kyseliny šťavelové, V_1 je objem odměrného roztoku kyseliny šťavelové použitý pro titraci a V_2 je průměrná spotřeba odměrného roztoku NaOH.

Vlastní stanovení:

Postup byl modifikován pro menší množství vzorku, což bylo ve výpočtu (10) zohledněno použitím koeficientu 2,5. Nejprve byl pomocí pufrů o pH 7,01 a pH 10,01 kalibrován pH-metr pro měření v zásaditém prostředí. Do kádinky bylo odpipetováno 10 ml vzorku a po ponoření elektrod a přidavku cca 10 ml destilované vody tak, aby elektrody byly ponořené, byla zapnuta elektromagnetická míchačka. Vzorek byl titrován odměrným roztokem NaOH do pH 8,1. Titrace byla provedena u každého vzorku třikrát a z průměrné spotřeby byla podle vzorce (10) v mmol H⁺ na litr šťávy:

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} \cdot 2,5 \text{ [mmol/l]}, \text{ [41]} \quad (10)$$

kde c_{H^+} je koncentrace vodíkových kationtů, V_1 je průměrná spotřeba odměrného roztoku NaOH, c je koncentrace odměrného roztoku NaOH a V_0 je objem titrované šťávy.

3.3.7 Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133

Postup byl modifikovaný pro menší objem vzorku, což bylo ve výpočtu (11) zohledněno použitím koeficientu 2,5. Pro stanovení formolového čísla byl použitý vzorek po neutralizaci titrační kyselosti o pH 8,1. Po přidání 4 ml formaldehydu byl vzorek z důvodu ustálení míchán cca jednu minutu na elektromagnetické míchačce. Potom byl odměrným roztokem NaOH titrován opět do pH 8,1. Titrace byla provedena u každého vzorku třikrát a průměrná spotřeba odměrného roztoku NaOH byla použitá pro výpočet formolového čísla. Formolové číslo bylo vyjádřeno podle vztahu (11) jako počet ml odměrného roztoku NaOH o koncentraci 0,1 mol/l na titraci 100 ml vzorku:

$$\text{formolové číslo} = 10 \cdot n \cdot 2,5, [41] \quad (11)$$

kde n je průměrná spotřeba odměrného roztoku NaOH.

3.3.8 Stanovení celkových fenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Postup byl proveden podle Singletona a Rossiho. [46]

Kalibrační křivka:

Ze zásobního roztoku kyseliny gallové bylo do šesti 25 ml odměrných baněk odpipetováno 0,25 ml; 0,50 ml; 1,25 ml; 2,50 ml; 6,25 ml a 12,50 ml, což odpovídá koncentracím 10 mg/l, 20 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 250 mg/l a 500 mg/l. Odměrné baňky byly doplněné destilovanou vodou po rysku a obsah byl řádně promíchán.

Do šesti zkumavek bylo napipetováno 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml jednotlivých standardů. Po pěti minutách byl přidán 1 ml zásobního roztoku uhličitanu sodného a vše bylo řádně promícháno. Po dvou hodinách byla změřena absorbance při 750 nm. Z naměřených hodnot byla vytvořena kalibrační křivka.

Vlastní stanovení:

Do zkumavky bylo napipetováno 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml vzorku. Po pěti minutách byl přidán 1 ml odměrného roztoku uhličitanu sodného. Po dvou hodinách byla změřena absorbance při 750 nm. Měření bylo provedeno třikrát pro každý vzorek a pro výpočet celkového obsahu fenolů byla použita průměrná hodnota absorbance. Celková koncentrace fenolů byla vypočítaná z regresní rovnice kalibrační závislosti a výsledek byl uveden v miligramech kyseliny gallové v jednom litru ovocné šťávy. Jako blank byla použita destilovaná voda.

3.3.9 Stanovení antokyanových barviv pH diferenciální metodou

Do šesti zkumavek pro každou odrůdu bylo napipetováno po 1 ml ovocné šťávy. Do prvních tří bylo přidáno 2,9 ml pufru octanu sodného o pH 4,5 a do zbývajících tří zkumavek bylo přidáno 2,9 ml pufru chloridu draselného. Zkumavky byly řádně promíchány a byla změřena absorbance při vlnových délkách 510 nm a 700 nm. Měření proběhlo u každé zkumavky při každé vlnové délce třikrát a průměrná hodnota

absorbance byla použita pro výpočet dle rovnice (12). Jako blank pro měření při obou vlnových délkách byla použita destilovaná voda.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH=1} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4,5} \quad [33], \quad (12)$$

kde A je absorbance a dolní indexy specifikují její hodnoty při dané vlnové délce.

Obsah celkových monomerních anthokyanů byl vypočten podle vzorce (13):

$$c = \frac{A \cdot M \cdot f}{\epsilon \cdot l} \cdot 1000 \quad [mg/l] \quad [33], \quad (13)$$

kde c je koncentrace celkových monomerních antokyanů (mg/l), A je absorbance vypočítaná dle rovnice (12), M je molární hmotnost převládajícího anthokyanu (kyanidin-3-rutinosid, $M = 595,2$ g/mol), f je faktor zředění 30, ϵ je molární extinkční koeficient pro kyanidin-3-rutinosid (28 800 l/mol.cm) a l je délka kyvety [cm]. [33]

Výsledná koncentrace byla přepočítána na mg ve 100 g plodů.

3.3.10 Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC

Kalibrační křivka:

Ze standardního roztoku kyseliny askorbové o $c = 1$ g/l bylo do čtyř 10 ml odměrných baněk odpipetováno 0,025; 0,250; 0,500 a 1,000 ml tohoto roztoku a objem byl doplněn po rysku 6% kyselinou metafosforečnou. Výsledné koncentrace kalibračních standardů byly 1, 10, 20 a 40 mg/l. Všechny standardy byly postupně nasáty do stříkačky přes 0,45 μ m celulósový filtr a vstříknuty do vialek z tmavého skla. Vialky byly až do doby analýzy skladovány v lednici.

Příprava vzorku:

Na analytických vahách bylo naváženo 4–6 gramů plodů s přesností na 4 desetinná místa a k nim bylo přidáno cca 15 ml kyseliny metafosforečné. Směs byla homogenizována pomocí homogenizátoru, následně kvantitativně převedena do 25 ml odměrné baňky a doplněna 6% kyselinou metafosforečnou po rysku. Vzniklá suspenze byla odstředěna na laboratorní centrifuze při 2000 ot./min po dobu 2,5 min. Odstředěná suspenze byla přefiltrována přes Büchnerovu nálevku s řídkým filtrem pomocí membránové vývěvy. Šťáva byla přefiltrována přes 0,45 μ m celulósový filtr do Eppendorfových zkumavek a uchována v lednici až do doby stanovení. Před vlastním stanovením byly šťávy přelity do vialek.

Vlastní stanovení:

Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC bylo provedeno na koloně GEMINI C18 o rozměru 150 x 4,6 mm s průměrem částic 5 μ m a s předkolonou Cartrige C18. Jako mobilní fáze byl použit fosfátový pufr ve směsi s methanolem v poměru 9:1. Extrakčním činidlem vitamínu C byla kyselina metafosforečná. Průtok mobilní fáze byl

nastaven na 1 ml/min, nástřik byl proveden v množství 20 μ l. Během celé analýzy byl termostat nastaven na 25°C. Analyt byl detekován UV-VIS detektorem při vlnové délce 254 nm. Doba analýzy byla 4 min s následným proplachem kolony trvajícím 8 min. Porovnáním retenčních časů píků kalibračních roztoků byla provedena identifikace kyseliny askorbové. Plochy píků byly získány integrací v systému Breeze. U každého vzorku byly provedeny tři nástřiky, z nichž byla vypočítána průměrná plocha píku. Vynesením do regresní rovnice kalibrační křivky byla stanovena průměrná koncentrace kyseliny askorbové v dané šťávě [mg/l]. Výsledná koncentrace vitamínu C byla přepočítána na mg ve 100 g čerstvých plodů podle vztahu:

$$c = \frac{x \cdot V \cdot F \cdot 0,1}{m} \quad (14),$$

kde c je koncentrace kyseliny askorbové v mg/100 g plodů, x je koncentrace kyseliny askorbové odečtená z kalibrační křivky [mg/l], V je celkový objem vzorku [ml], F je faktor ředění, 0,1 je koeficient pro přepočet na 100 g plodů a m je navážka vzorku [g].

3.3.10.1 Výpočet

Plochy píků kalibrační řady a vzorků byly generovány programem Agilent a následně transportovány do programu Microsoft Excel. Z naměřených hodnot kalibračních roztoků byla vytvořena kalibrační křivka, z jejíž regresní rovnice byl vypočítán obsah vitamínu C v jednotlivých vzorcích (mg/l):

$$A = 72,505c - 102,32 \quad (15),$$

kde A je naměřená absorbance a c je koncentrace kyseliny askorbové v daném vzorku [mg/l].

3.3.11 Statistické zpracování výsledků

Každý ze vzorků byl při každém stanovení analyzován třikrát. Jako výsledek byla uvedena průměrná hodnota z těchto tří měření.

V programu Microsoft Excel byla pomocí funkce SMODCH vypočtena směrodatná odchylka a pomocí funkce CONFIDENCE byl určen interval spolehlivosti (95 %), což je míra nepřesnosti měření. Hodnoty intervalů spolehlivosti byly uvedeny ve výsledcích společně s průměrnou hodnotou, v grafech pak byly znázorněny ve formě chybových úseček.

Výpočet:

$$IS = \bar{x} \pm t_{\alpha,n} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (16),$$

kde je: IS – interval spolehlivosti,
 \bar{x} - průměrná hodnota dat v souboru,

$t_{\alpha,n}$ - kritická hodnota pro zvolenou hladinu statistické významnosti α (0,05) a počet hodnot n ,

$$s - \text{směrodatná odchylka daného souboru } s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}},$$

n - počet hodnot v souboru

Dále bylo provedeno ověření shodnosti výsledků. Shodnost výsledků je statistická nevýznamnost rozdílů aritmetických průměrů získaných dvěma způsoby. Provádí se pomocí statistických testů, čili srovnáním vypočítané hodnoty testového kritéria s tabelovanou kritickou hodnotou na dané hladině statistické významnosti.

Pro stejný počet paralelních stanovení v obou testovaných souborech ($n_A = n_B = n$) se nejčastěji používá Studentův t-test:

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{n-1}}{\sqrt{s_A^2 + s_B^2}} \quad (17),$$

kde je: t - vypočtené testové kritérium,
 \bar{x} - průměrná hodnota dat v souboru,
 n - počet stanovení v jednom ze souborů (platí ($n_A = n_B$)),
 s - směrodatná odchylka daného souboru (případně s^2 - rozptyl).

Hodnota t se porovná s kritickou hodnotou Studentova t-testu $t_{\alpha,n}$, kde n je počet hodnot výsledků a α hladina statistické významnosti (0,05). Pokud je t vyšší než $t_{\alpha,n}$, je rozdíl $\bar{x}_A - \bar{x}_B$ statisticky významný na hladině statistické významnosti α , což znamená, že výsledky nejsou shodné. V opačném případě, tedy že t nižší než $t_{\alpha,n}$, je rozdíl $\bar{x}_A - \bar{x}_B$ statisticky nevýznamný na hladině statistické významnosti α výsledky jsou shodné.

Tabelovaná hodnota pro $t_{3;0,05}$ je 4,303.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentální části bylo stanovení obsahu redukujících cukrů, sušiny, rozpustné sušiny, pH, titrační kyselosti, formolového čísla, celkových fenolů, athokyanových barviv a vitamínu C.

Celkem byly analyzovány dva vzorky josty, jedna odrůda bílého rybízu ve tvarové modifikaci keř a V, dvě odrůdy červeného rybízu v modifikaci keř, dvě odrůdy černého rybízu (Triton a Lota) v modifikaci V a čtyři odrůdy černého rybízu v modifikaci keř a V. Celkem tedy šestnáct vzorků.

Vzorky josty pocházely od soukromého pěstitele Z Padochova, vzorky rybízů pak z Výzkumného a Šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s. r. o.

4.1 Stanovení redukujících cukrů gravimetrickou metodou

Postup stanovení je uveden v kapitole 3.3.2. Hmotnost redukujících sacharidů v jednotlivých vzorcích byla přepočítána na hmotnostní procenta. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8 a na obrázku 21.

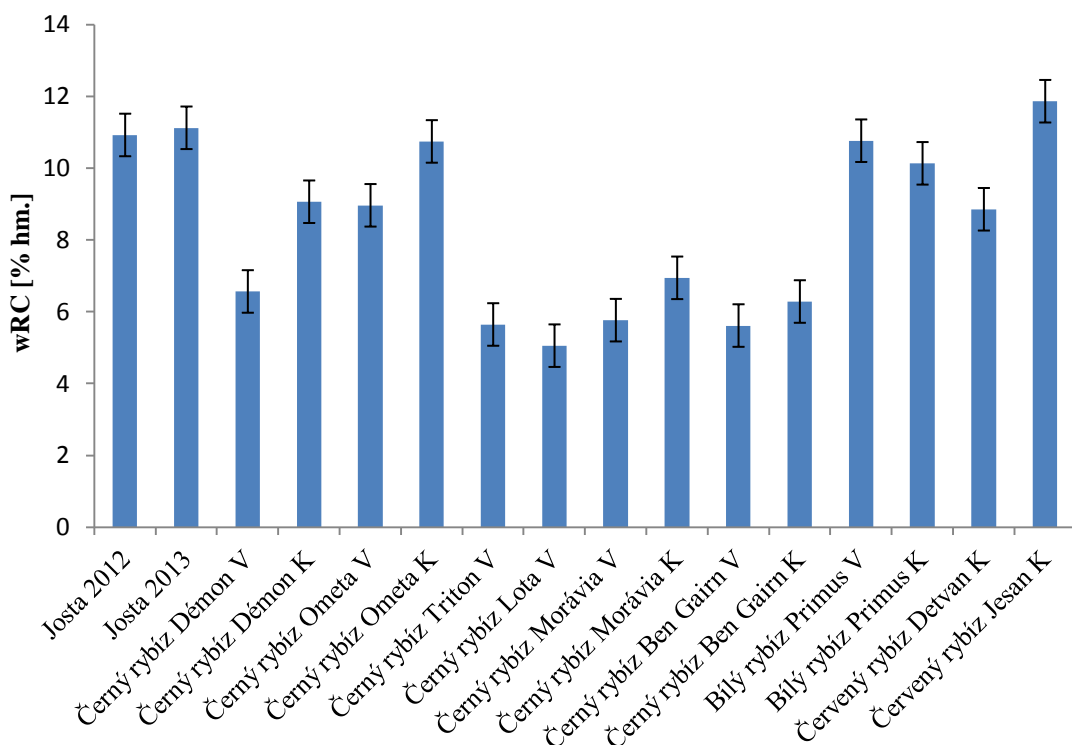
Tab. 8. Obsah redukujících sacharidů v analyzovaných vzorcích

Odrůda	w_{RC} [% hm.]
Josta 2012	10,92 ± 0,90
Josta 2013	11,12 ± 0,50
Černý rybíz Démon V	6,56 ± 1,15
Černý rybíz Démon K	9,06 ± 2,11
Černý rybíz Ometa V	8,96 ± 1,29
Černý rybíz Ometa K	10,74 ± 0,66
Černý rybíz Triton V	5,64 ± 0,75
Černý rybíz Lota V	5,05 ± 0,41
Černý rybíz Morávia V	5,76 ± 0,68
Černý rybíz Morávia K	6,94 ± 0,51
Černý rybíz Ben Gairn V	5,61 ± 0,17
Černý rybíz Ben Gairn K	6,28 ± 0,38
Bílý rybíz Primus V	10,76 ± 0,09
Bílý rybíz Primus K	10,13 ± 0,09
Červený rybíz Detvan K	8,85 ± 0,15
Červený rybíz Jesan K	11,86 ± 0,22

Nejvyšší obsah redukujících sacharidů byl stanoven u červeného rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř (11,86 % hm.), nejnižší pak u černého rybízu odrůdy Lota v modifikaci V (5,05 % hm.). Poměrně vysoké procento redukujících sacharidů obsahovaly také oba vzorky josty (10,92 % hm. a 11,12 % hm.).

Nejčastěji v ovoci se vyskytující redukující cukry jsou glukóza a fruktóza. Poměr sacharidů a kyselin obsažených v ovoci má velký význam pro příznivé hodnocení jeho chuti. Obecně lze říci, že plody s vysokým obsahem redukujících cukrů jsou spotřebiteli vyhodnoceny lépe, a to i v případě, kdy mají nižší pH a relativně vysokou hodnotu kyselosti.

Obsah redukujících sacharidů



Obrázek 16: Obsah redukujících sacharidů ve vzorcích josty a rybízu

4.2 Stanovení celkové sušiny

Způsob stanovení obsahu celkové sušiny (součet rozpustné a nerozpustné sušiny) byl popsán v kapitole 3.3.3. Výpočet byl proveden podle vzorce (8) a výsledek byl uveden v % hm. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9 a na obrázku 22.

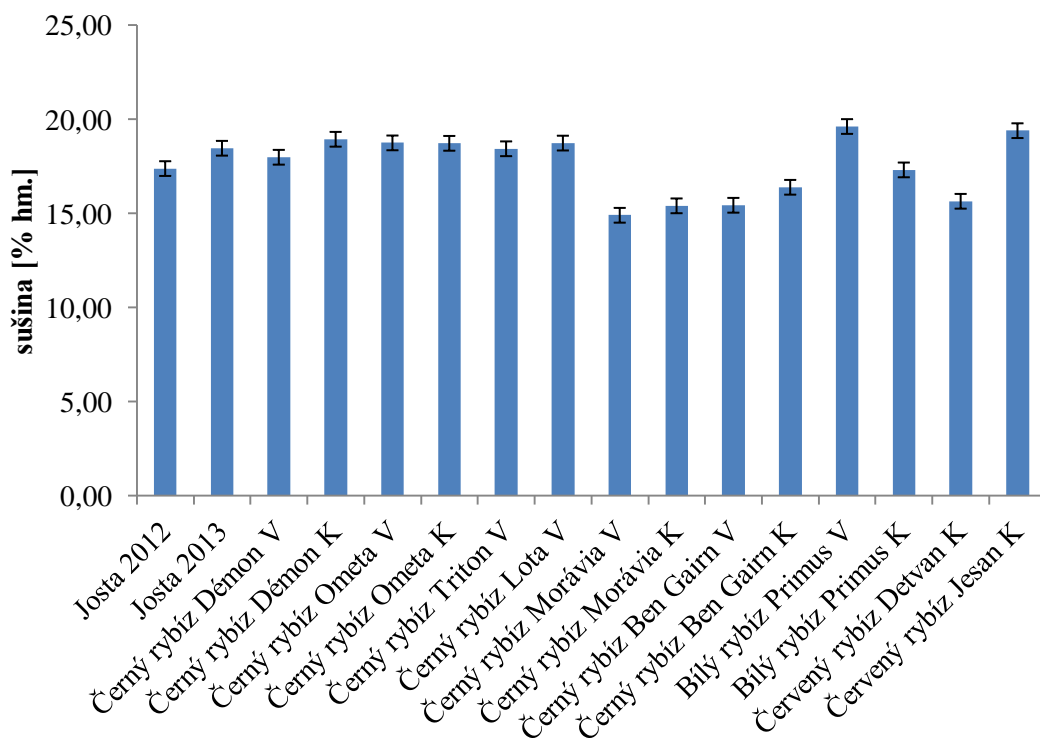
Obsah sušiny u josty byl vyšší u vzorku z roku 2013, což mohlo být způsobeno nižším přísunem vláh v daném období. U černých rybízů se obsah sušiny pohyboval v rozmezí 15–19 % hm., přičemž nejnižší byl u odrůdy Morávia v modifikaci V (14,91 % hm.), nejvyšší pak u odrůdy Démon v modifikaci keř (18,95 % hm.).

Celkově nejvyšší sušina byla stanovena u vzorku bílého rybízu Primus v modifikaci V (19,63 % hm.) a červeného rybízu Jesan keř (19,41 % hm.). Tento fakt může být způsoben především tím, že dané odrůdy červeného a bílého rybízu mají menší plody, nemusí tedy obsahovat takové množství vody jako josta nebo rybíz černé.

Tab. 9. Obsah celkové sušiny v analyzovaných vzorcích

Odrůda	w_s [% hm.]
Josta 2012	17,39 ± 0,17
Josta 2013	18,47 ± 0,59
Černý rybíz Démon V	18,00 ± 0,03
Černý rybíz Démon K	18,95 ± 0,49
Černý rybíz Ometa V	18,76 ± 0,39
Černý rybíz Ometa K	18,74 ± 0,23
Černý rybíz Triton V	18,45 ± 0,16
Černý rybíz Lota V	18,75 ± 0,14
Černý rybíz Morávia V	14,91 ± 0,05
Černý rybíz Morávia K	15,42 ± 0,12
Černý rybíz Ben Gairn V	15,45 ± 0,11
Černý rybíz Ben Gairn K	16,40 ± 0,29
Bílý rybíz Primus V	19,63 ± 0,24
Bílý rybíz Primus K	17,32 ± 0,22
Červený rybíz Detvan K	15,66 ± 0,12
Červený rybíz Jesan K	19,41 ± 0,07

Obsah celkové sušiny



Obrázek 17: Obsah celkové sušiny ve vzorcích josty a ryzbízu

4.3 Stanovení rozpustné sušiny

Obsah rozpustné sušiny byl stanoven podle postupu v článku 3.4.4. Refraktometrická sušina bývá obvykle vyjadřována jako hmotnostní procento sacharózy obsažené ve vzorku šťávy. Index lomu však ovlivňují všechny ve vodě rozpuštěné látky (organické kyseliny, sacharidy, pektiny aj.). Z výše uvedeného důvodu byly výsledky vyjádřeny jako hmotnostní procenta rozpustné sušiny (sacharózy). Shodnost naměřených a tabelovaných výsledků byla otestována pomocí Studentova t-testu a tyto hodnoty byly srovnány s kritickou hodnotou Studentova t-testu (viz. kapitola 2.6.8). Data jsou uvedeny v tabulce 10 a na obrázku 23. Průměrná % hm. sacharózy jsou v tabulce uvedeny včetně intervalů spolehlivosti, v grafu jsou vyjádřeny ve formě chybových úseček.

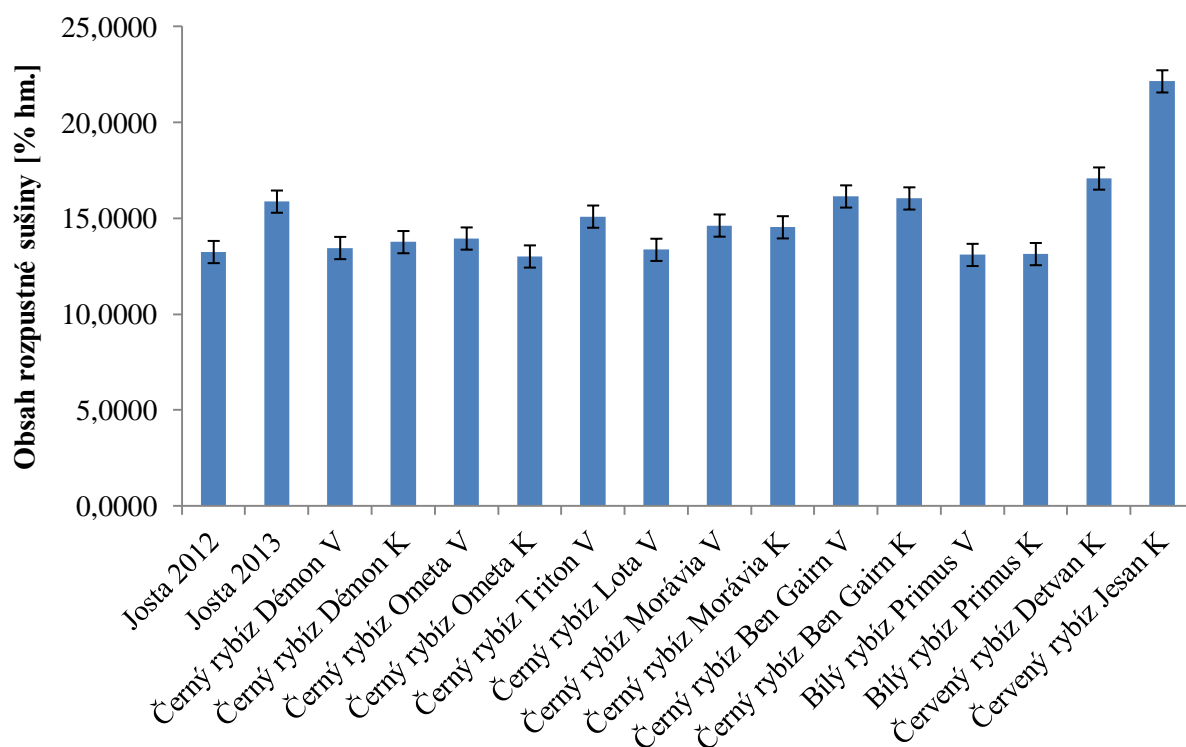
Tab. 10. Obsah rozpustné sušiny v analyzovaných vzorcích

Odrůda	Průměrná % hm. sacharózy refraktometr	Průměrná % hm. sacharózy tabelovaná	Studentův t-test
Josta 2012	13,25 ± 0,04	13,68	0,03
Josta 2013	15,88 ± 1,04	16,30	0,92
Černý rybíz Démon V	13,46 ± 0,16	13,83	0,14
Černý rybíz Démon K	13,76 ± 0,71	14,23	0,63
Černý rybíz Ometa V	13,95 ± 0,76	14,43	0,67
Černý rybíz Ometa K	13,01 ± 0,00	13,49	0,00
Černý rybíz Triton V	15,09 ± 1,05	15,58	0,93
Černý rybíz Lota V	13,36 ± 0,10	13,87	0,09
Černý rybíz Morávia V	14,63 ± 0,99	14,97	0,88
Černý rybíz Morávia K	14,54 ± 0,98	14,95	0,86
Černý rybíz Ben Gairn V	16,14 ± 1,06	16,50	0,94
Černý rybíz Ben Gairn K	16,04 ± 1,05	16,44	0,93
Bílý rybíz Primus V	13,10 ± 0,01	13,59	0,01
Bílý rybíz Primus K	13,14 ± 0,04	13,54	0,03
Červený rybíz Detvan K	17,08 ± 1,05	17,47	0,93
Červený rybíz Jesan K	22,15 ± 0,18	22,59	0,16

Z výsledků uvedených v tabulce vyplývá, že vypočítaná hodnota Studentova t-testu je ve všech případech nižší než hodnota kritická, tedy rozdíl naměřených a tabelovaných výsledků je statisticky nevýznamný a výsledky jsou shodné.

Nejvíce sacharózy bylo obsaženo v červeném rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř (22,15 % hm.), nejméně u bílého rybízu odrůdy Primus modifikace V (13,10 % hm.). Vzorek josty z roku 2013 obsahoval o více než 2,5% hm. sacharózy než vzorek josty z předchozího roku, což svědčí o tom, že v roce 2013 byla patrně josta sklizena ve vyšším stupni zralosti.

Stanovení rozpustné sušiny



Obrázek 18: Obsah rozpustné sušiny ve vzorcích josta a rybízu

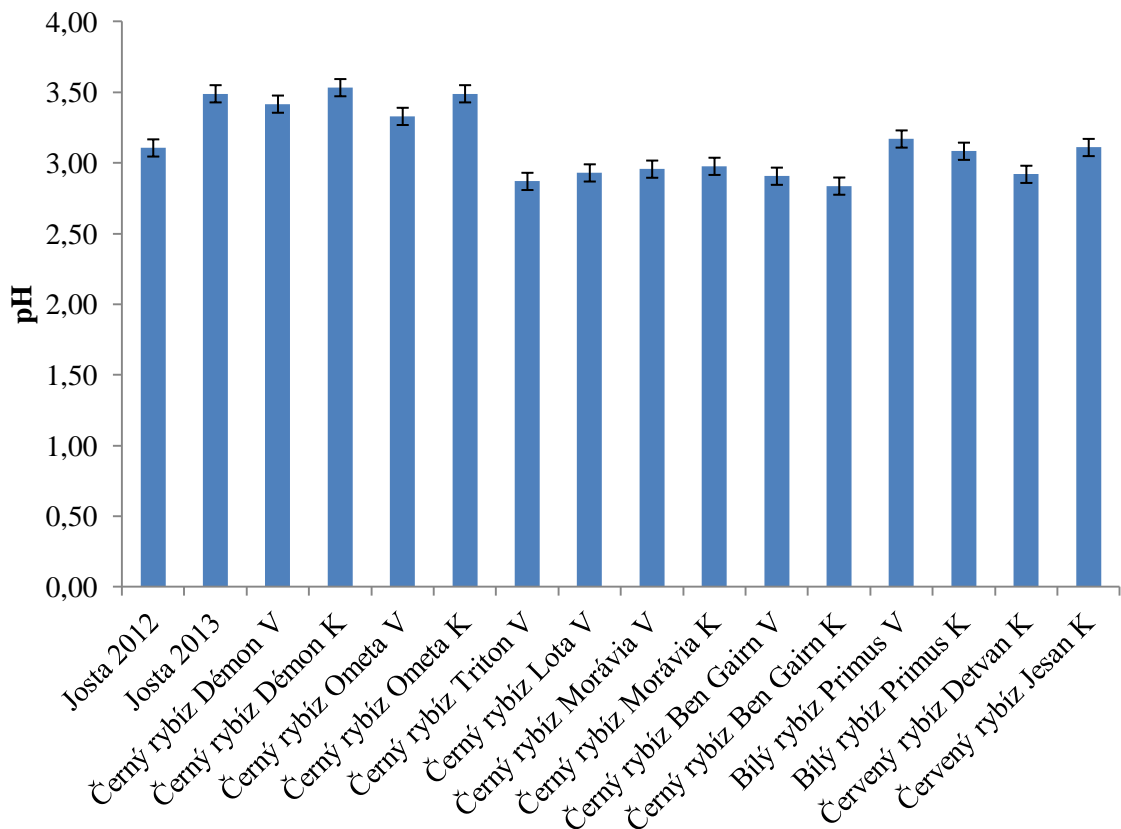
4.4 Měření pH ovocné šťávy

pH ovocných šťáv bylo měřeno přímo postupem popsáním v kapitole 3.3.5. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 11 a na obrázku 24.

Tab. 11. Hodnoty pH ovocných šťáv v analyzovaných vzorcích

Odrůda	průměr pH	Odrůda	průměr pH
Josta 2012	3,11 ± 0,06	Černý rybíz Morávia V	2,96 ± 0,01
Josta 2013	3,49 ± 0,06	Černý rybíz Morávia K	2,98 ± 0,03
Černý rybíz Démon V	3,42 ± 0,08	Černý rybíz Ben Gairn V	2,91 ± 0,06
Černý rybíz Démon K	3,53 ± 0,10	Černý rybíz Ben Gairn K	2,84 ± 0,03
Černý rybíz Ometa V	3,33 ± 0,12	Bílý rybíz Primus V	3,17 ± 0,03
Černý rybíz Ometa K	3,49 ± 0,06	Bílý rybíz Primus K	3,08 ± 0,07
Černý rybíz Triton V	2,87 ± 0,04	Červený rybíz Detvan K	2,92 ± 0,06
Černý rybíz Lota V	2,93 ± 0,03	Červený rybíz Jesan K	3,11 ± 0,06

pH ovocných šťáv



Obrázek 19: pH ovocných šťáv vzorků josty a rybízu

Hodnota pH jednotlivých vzorků rybízu je téměř shodná, pohybuje se v malém rozmezí od pH 2,84 do pH 3,53. U obou vzorků josty byla hodnota pH rovněž podobá. Obecně lze říci, že šťávy z plodů rybízu a josty patří mezi kyselé potraviny, díky čemuž lze při jejich zpracování a případném tepelném ošetření použít nižší teploty.

4.5 Stanovení titrační kyselosti podle ČSN EN 12147

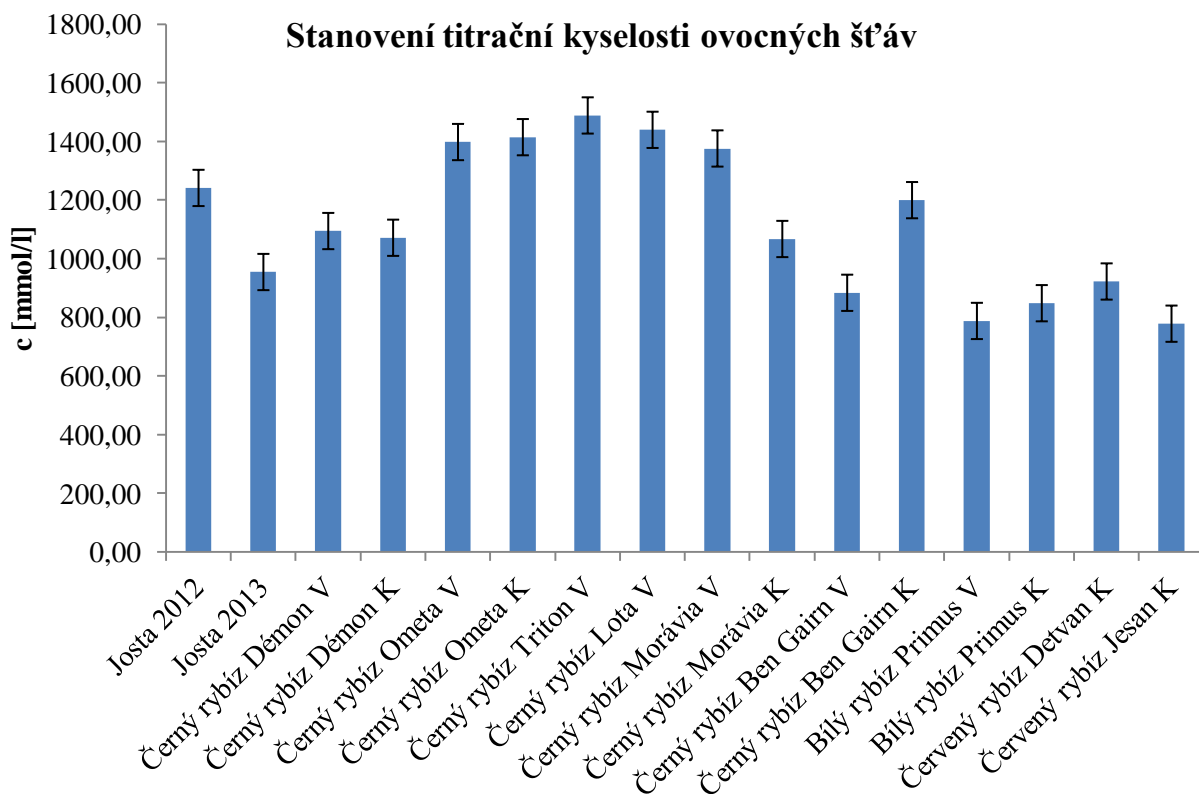
Titrace ovocných šťáv byla prováděna postupem uvedeným v kapitole 3.3.6. Při známém složení vzorku lze titrační kyselost vyjádřit jako koncentraci převažující kyseliny. Vypočítané hodnoty koncentrací kyselin v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny v tabulce 12 a na obrázku 25.

Tab. 12. Hodnoty $c(H)^+$ ovocné šťávy v analyzovaných vzorcích

Odrůda	$c(H)^+$ [mmol/l]	Odrůda	$c(H)^+$ [mmol/l]
Josta 2012	1241,1 ± 0,05	Černý rybíz Morávia V	1375,6 ± 0,1
Josta 2013	954,3 ± 0,05	Černý rybíz Morávia K	1066,9 ± 0,05
Černý rybíz Démon V	1094,0 ± 0,03	Černý rybíz Ben Gairn V	883,4 ± 0,03
Černý rybíz Démon K	1071,1 ± 0,03	Černý rybíz Ben Gairn K	1199,4 ± 0,03
Černý rybíz Ometa V	1397,5 ± 0,05	Bílý rybíz Primus V	787,4 ± 0,03
Černý rybíz Ometa K	1414,2 ± 0,0	Bílý rybíz Primus K	847,9 ± 0,05
Černý rybíz Triton V	1488,2 ± 0,03	Červený rybíz Detvan K	921,9 ± 0,03
Černý rybíz Lota V	1439,2 ± 0,05	Červený rybíz Jesan K	778,0 ± 0,03

Obsah titrovatelných kyselin je u rybízu velmi rozdílný. Nejvíce kyselin bylo stanoveno u černého rybízu odrůdy Triton v modifikaci V, a to 1488,2 mmol/l, nejméně pak u červeného rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř, 778,0 mmol/l. U josty byl obsah kyselin výrazně vyšší u vzorku z roku 2012, což vypovídá o tom, že josta byla sklizená v nižším stupni zralosti než v roce 2013.

Při srovnání výsledků s výše uvedenými hodnotami pH lze říci, že vzorky s nižším pH obsahovaly více titrovatelných kyselin.



Obrázek 20: $c(H)^+$ ovocných šťáv vzorků josty a rybízu

4.6 Stanovení formolového čísla podle ČSN EN 1133

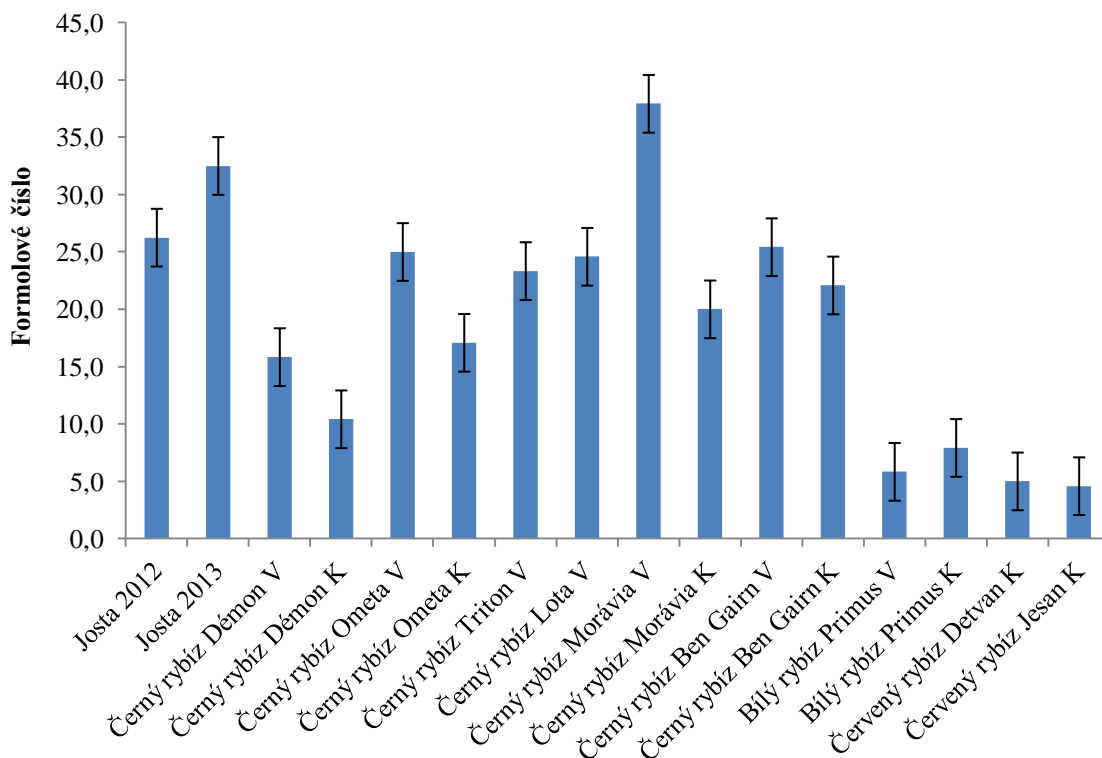
Formolové číslo bylo stanoveno potenciometrickou titrací. Postup je uveden v kapitole 3.3.7. Formolové číslo udává počet milimolů hydroxidu sodného $c = 0,25 \text{ mol/l}$ potřebného pro titraci aminokyselin obsažených ve vzorku. Čím vyšší je jeho hodnota, tím více aminokyselin vzorek obsahuje. Hodnoty formolového čísla jsou uvedeny v tabulce 13 a na obrázku 26.

Tab. 13. Hodnoty formolového čísla v analyzovaných vzorcích

Odrůda	Formolové číslo
Josta 2012	$26,25 \pm 0,05$
Josta 2013	$32,50 \pm 0,09$
Černý rybíz Démon V	$15,83 \pm 0,05$
Černý rybíz Démon K	$10,42 \pm 0,07$
Černý rybíz Ometa V	$25,00 \pm 0,08$
Černý rybíz Ometa K	$17,08 \pm 0,07$
Černý rybíz Triton V	$23,33 \pm 0,17$
Černý rybíz Lota V	$24,58 \pm 0,07$
Černý rybíz Morávia V	$37,92 \pm 0,03$
Černý rybíz Morávia K	$20,00 \pm 0,00$
Černý rybíz Ben Gairn V	$25,42 \pm 0,03$
Černý rybíz Ben Gairn K	$22,08 \pm 0,03$
Bílý rybíz Primus V	$5,83 \pm 0,03$
Bílý rybíz Primus K	$7,92 \pm 0,05$
Červený rybíz Detvan K	$5,00 \pm 0,00$
Červený rybíz Jesan K	$4,58 \pm 0,03$

Hodnota formolového čísla u černých rybízů dosahovala s výjimkou odrůdy Démon (V i keř) a Ometa (keř) hodnot 20,00 a více. Formolové číslo u červených a bílých rybízů bylo velmi nízké, u josty naopak poměrně vysoké. Bílé a červené rybízy a černý rybíz odrůdy Démon obsahovaly podstatně nižší množství aminokyselin, než většina odrůd rybízů černých.

Formolové číslo



Obrázek 21: Formolové číslo ovocných šťáv vzorků josty a rybízu

4.7 Stanovení celkových fenolů

Obsah celkových fenolů byl stanoven spektrofotometricky postupem uvedeným v kapitole 3.3.8. Kalibračních roztoky kyseliny gallové byly proměřeny a výsledné hodnoty byly použity pro sestavení kalibrační křivky. Za pomoci regresní rovnice kalibrační křivky byla vypočítána koncentrace polyfenolů v jednotlivých vzorcích šťáv, která byla následně přepočítána na mg ve 100 g plodů.

Obsah fenolických látek v černých rybízích by se měl pohybovat v rozmezí 227–789 mg ve 100 g čerstvých plodů [53], v červených rybízích 190–320 mg ve 100 g a v bílých rybízích 38,9–51,9 mg ve 100 g. [54]

Graf kalibrační křivky kyseliny gallové je uveden v příloze č. 1. Ve zkoumaném rozsahu je kalibrační závislost lineární, regresní koeficient $R^2=0,999$, což značí velmi dobrou linearitu.

Výsledné hodnoty koncentrace fenolických látek v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny v tabulce 14 a na obrázku 27. U odrůd, které byly analyzovány v obou modifikacích (keř i V), byla pomocí Studentova t-testu porovnána shodnost výsledků (tabulka 15).

Tab. 14. Celkový obsah polyfenolů v analyzovaných vzorcích

Odrůda	průměrná A	celkový obsah polyfenolů [mg ve 100 g plodů]
Josta 2012	6,772	385,82 ± 0,00
Josta 2013	5,140	293,08 ± 0,01
Černý rybíz Démon V	4,448	253,77 ± 0,01
Černý rybíz Démon K	4,284	244,46 ± 0,00
Černý rybíz Ometa V	4,469	254,99 ± 0,01
Černý rybíz Ometa K	4,744	270,58 ± 0,02
Černý rybíz Triton V	4,565	260,43 ± 0,02
Černý rybíz Lota V	4,367	249,15 ± 0,04
Černý rybíz Morávia V	4,792	273,30 ± 0,01
Černý rybíz Morávia K	3,876	271,28 ± 0,01
Černý rybíz Ben Gairn V	4,343	247,78 ± 0,01
Černý rybíz Ben Gairn K	5,697	324,76 ± 0,01
Bílý rybíz Primus V	0,799	46,42 ± 0,00
Bílý rybíz Primus K	0,700	40,82 ± 0,00
Červený rybíz Detvan K	4,456	254,22 ± 0,00
Červený rybíz Jesan K	4,105	234,29 ± 0,01

Nejvyšší obsah fenolů byl zjištěn u vzorku josty z roku 2012 (385,82 mg ve 100 g plodů). Vzorek josty z roku 2013 obsahoval celkových fenolů daleko méně (293,08 mg ve 100g).

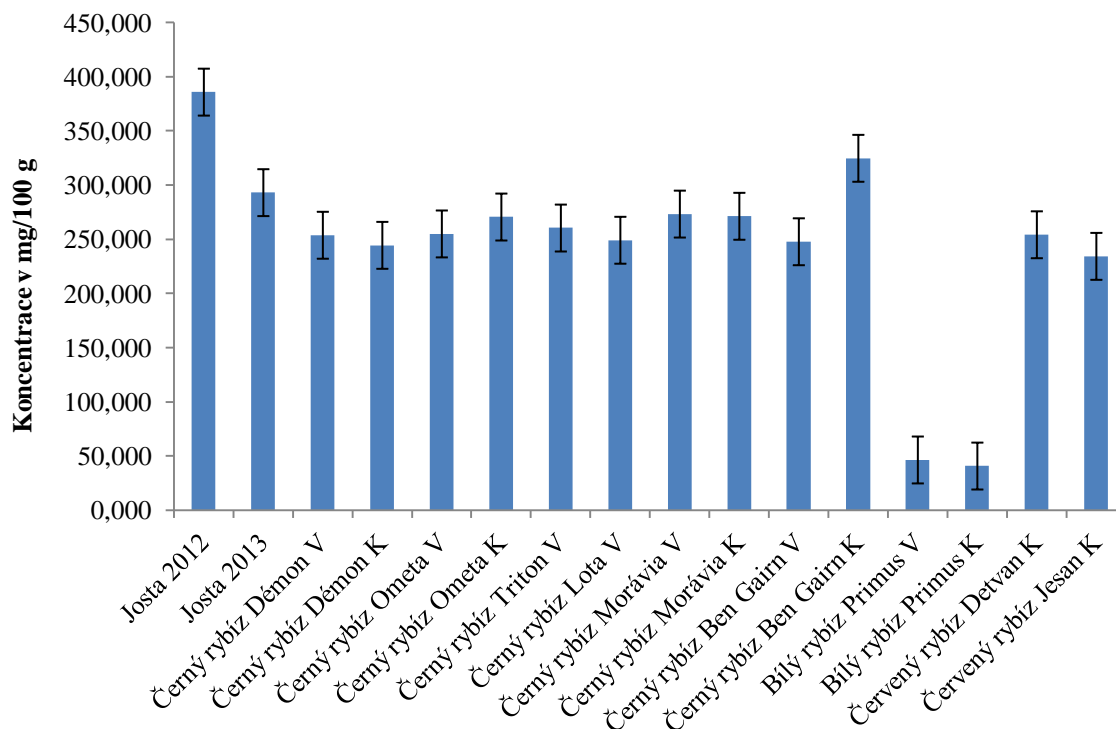
U černých rybízů se obsah fenolických látek pohyboval v rozmezí 244,46–271,28 mg ve 100 g, pouze u odrůdy Ben Gairn v modifikaci keř byl obsah fenolů výrazně vyšší, a to 324,76 mg ve 100 g.

U bílého rybízu byl zjištěn vyšší obsah celkových fenolů u modifikace V (46,42 mg ve 100 g), u červených rybízů u odrůdy Detvan v modifikaci keř (254,22 mg ve 100 g). Celkový obsah fenolů závisí na stupni zralosti, době sklizně (při dřívější době sklizně je obsah fenolů nižší), je ovlivněn koncentrací antokyanových barviv v plodech (čím vyšší koncentrace barviv, tím vyšší obsah fenolů) a podmínkami zpracování a skladování.

Rozdíly mezi tvarovými modifikacemi mohly být způsobeny odlišnými podmínkami růstu.

Všechny výsledky spadají do rozmezí hodnot koncentrace fenolických látek uvedených v literatuře a to i přes to, že nebyly extrahovány fenolické látky ze slupek.

Obsah celkových fenolů



Obrázek 22: Celkový obsah fenolů ve vzorcích ovocných šťáv josty a rybízu

V tabulce 15 jsou uvedeny vypočítané hodnoty Studentova t-testu s vyjádřením o shodnosti s kritickou tabelovanou hodnotou pro odrůdy černého a bílého rybízu, které byly k analýze k dispozici v modifikaci keř i V.

Tab. 15. Vypočítané hodnoty t-testu s vyjádřením

Odrůda	t-test	Vyjádření
Černý rybíz Démon	0,0003	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Ometa	0,0002	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Morávia	0,0000	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Ben Gairn	0,0000	výsledky jsou shodné
Bílý rybíz Primus	0,0000	výsledky jsou shodné

Z výsledků Studentova t-testu je patrné, že shodnost byla prokázána u všech testovaných odrůd. Lze tedy konstatovat, že tvarová modifikace celkový obsah polyfenolů neovlivňuje.

4.8 Stanovení obsahu anthokyanových barviv

Obsah anthokyanových barviv byl stanovován pH diferenciální metodou postupem popsaným v kapitole 3.3.9. Černý rybíz může obsahovat antokyanová barviva v rozmezí 168–613 mg ve 100g čerstvých plodů, červený rybíz 170–200 mg ve 100 g.

V tabulce 16 a na obrázku 28 jsou uvedeny hodnoty průměrných absorbancí a celkový obsah anthokyanů ve 100 g ovoce doplněný o interval spolehlivosti.

U odrůd černého rybízu, které byly analyzovány v obou modifikacích (keř i V), byla pomocí Studentova t-testu porovnána shodnost výsledků (tabulka 17).

Tab. 16. Průměrné hodnoty absorpance a celkový obsah anthokyanů

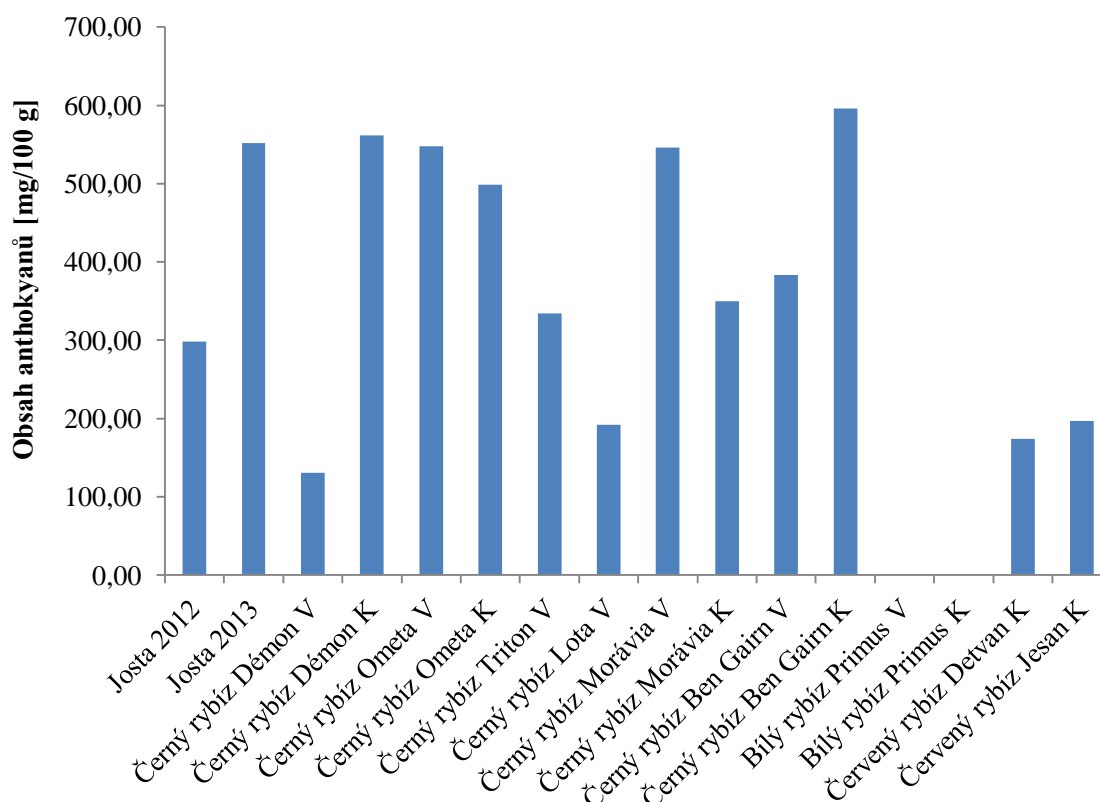
Odrůda	Absorbance	Celkový obsah anthokyanů [mg ve 100 g]
Josta 2012	0,641	298,12 ± 0,00
Josta 2013	1,780	551,86 ± 0,01
Černý rybíz Démon V	0,422	130,92 ± 0,00
Černý rybíz Démon K	1,813	562,06 ± 0,07
Černý rybíz Ometa V	1,767	547,74 ± 0,09
Černý rybíz Ometa K	3,220	499,01 ± 0,01
Černý rybíz Triton V	1,078	334,07 ± 0,02
Černý rybíz Lota V	0,618	191,68 ± 0,01
Černý rybíz Morávia V	1,761	545,90 ± 0,00
Černý rybíz Morávia K	2,257	349,88 ± 0,00
Černý rybíz Ben Gairn V	2,473	383,26 ± 0,01
Černý rybíz Ben Gairn K	1,923	596,03 ± 0,00
Bílý rybíz Primus V	0,000	0,00
Bílý rybíz Primus K	0,000	0,00
Červený rybíz Detvan K	0,449	173,89 ± 0,00
Červený rybíz Jesan K	0,635	196,91 ± 0,01

Obsah monomerních anthokyanových barviv v jostě z roku 2013 (551,86 mg ve 100 g) byl podstatně vyšší než u vzorku z předchozího roku (298,12 mg ve 100 g). Tento rozdíl může být způsoben sklizní plodů v různém stupni zralosti.

Nejvyšší obsah anthokyanů v černých rybízech byl stanoven u odrůdy Ben Gairn v modifikaci keř (596,03 mg ve 100g), nejnižší u odrůdy Démon v modifikaci V (130,92 mg ve 100 g). Ve dvou případech neodpovídal obsah anthokyanů rozmezí uvedenému v literatuře. Tento fakt byl patrně způsoben tím, že nebyla extrahována antokyanová barviva také ze slupek plodů.

Obsah anthokyanů u červených rybízů odpovídal danému rozmezí hodnot z literatury. Více těchto barviv obsahovala odrůda Jesan v modifikaci keř (196,91 mg ve 100 g). U bílých rybízů nebyl obsah antokyanových barviv prokázán.

Obsah anthokyanových barviv



Obrázek 23: Obsah antokyanových barviv ve vzorcích ovocných šťáv josty a rybízu

V tabulce 17 jsou uvedeny vypočítané hodnoty Studentova t-testu s vyjádřením o shodnosti s kritickou tabelovanou hodnotou pro odrůdy černého rybízu, které byly k analýze k dispozici v modifikaci keř i V.

Tab. 17. Vypočítané hodnoty t-testu s vyjádřením

Odrůda	t-test	Vyjádření
Černý rybíz Démon	0,001	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Ometa	0,001	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Morávia	0,000	výsledky jsou shodné
Černý rybíz Ben Gaim	0,000	výsledky jsou shodné

Z výsledků Studentova t-testu je patrné, že shodnost byla prokázána u všech testovaných odrůd. Lze tedy konstatovat, že tvarová modifikace celkový obsah anthokyanů neovlivňuje.

4.9 Stanovení obsahu vitamínu C

Obsah vitamínu C byl stanoven metodou HPLC, postup stanovení je uvede v kapitole 3.3.10.

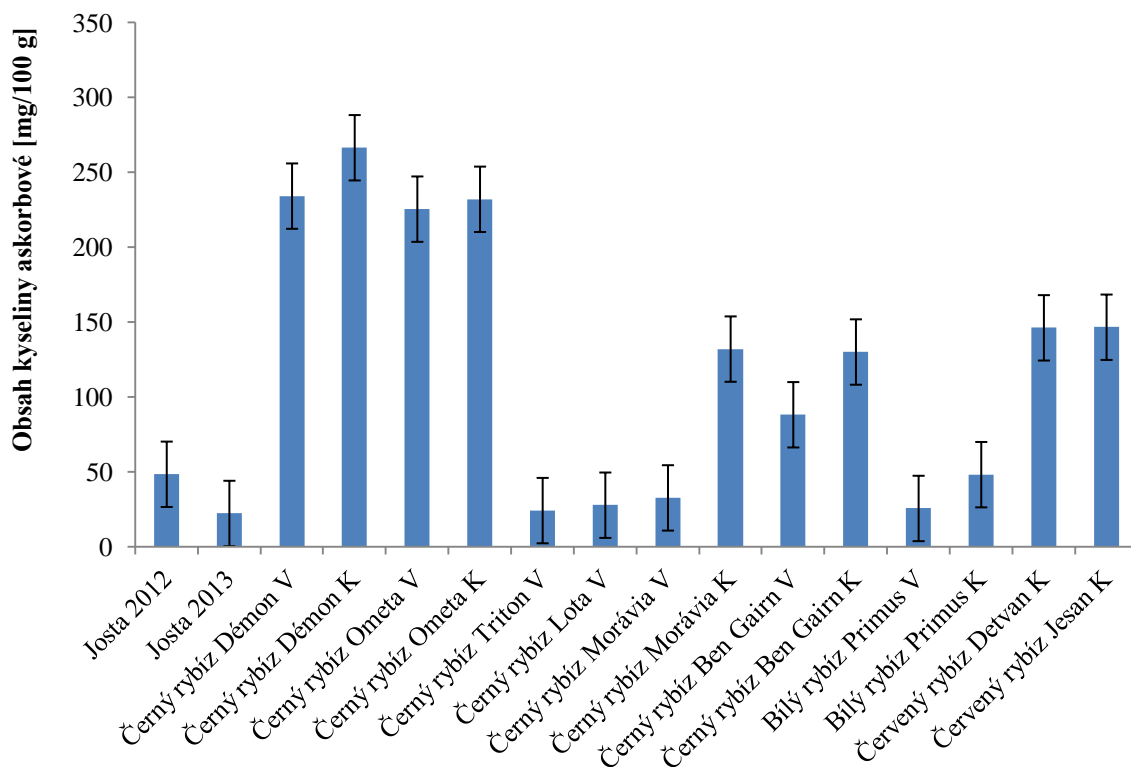
Ze standardních roztoků kyseliny askorbové byla sestrojena kalibrační křivka, z jejíž rovnice regrese byl vypočítán obsah vitamínu C v analyzovaných vzorcích. Graf kalibrační křivky kyseliny askorbové je uveden v příloze č. 2. Ve zkoumaném rozsahu je kalibrační závislost lineární, regresní koeficient $R^2=0,9988$, což značí velmi dobrou linearitu. Výsledné koncentrace jsou uváděny v mg ve 100 g plodů. Obsah kyseliny askorbové v plodech černých rybízů by se měl pohybovat v rozmezí 60–270 mg ve 100 g čerstvých plodů. [55]

Příklad chromatogramu je uveden v příloze 3. Je zde znázorněn pík kyseliny askorbové u analyzované odrůdy červeného rybízu odrůdy Detvan v modifikaci keř. Kyselina askorbová byla eluována ve druhé minutě.

Tab. 18. Průměrné hodnoty ploch píků a koncentrace kyseliny askorbové ve 100 g plodů

Odrůda	průměrné hodnoty ploch píků ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)	Obsah kyseliny askorbové [mg ve 100 g]
Josta 2012	775,1	48,41 \pm 0,81
Josta 2013	300,8	22,24 \pm 1,30
Černý rybíz Démon V	5556,3	234,13 \pm 1,31
Černý rybíz Démon K	6336,6	266,42 \pm 1,46
Černý rybíz Ometa V	5346,1	225,44 \pm 8,16
Černý rybíz Ometa K	5504,9	232,00 \pm 0,74
Černý rybíz Triton V	335,7	24,16 \pm 6,85
Černý rybíz Lota V	400,7	27,75 \pm 9,89
Černý rybíz Morávia V	489,4	32,64 \pm 1,80
Černý rybíz Morávia K	2290,3	131,99 \pm 0,05
Černý rybíz Ben Gairn V	1495,3	88,13 \pm 0,05
Černý rybíz Ben Gairn K	2254,6	130,03 \pm 0,05
Bílý rybíz Primus V	361,5	25,59 \pm 5,69
Bílý rybíz Primus K	770,3	48,14 \pm 0,41
Červený rybíz Detvan K	2547,6	146,19 \pm 1,90
Červený rybíz Jesan K	2554,8	146,58 \pm 0,35

Obsah kyseliny askorbové



Obrázek 24: Obsah kyseliny askorbové ve vzorcích ovocných šťáv josty a rybízu

Obsah vitamínu C v černých rybízech se pohyboval v rozmezí 24,16–266,42 mg ve 100 g plodů. Nejméně kyseliny askorbové bylo obsaženo v odrůdě Triton v modifikaci V, nejvíce v odrůdě Démon v modifikaci keř. U odrůd Morávia a Ben Gairn byly velmi rozdílné stanovené koncentrace vitamínu C mezi jednotlivými modifikacemi. Tento rozdíl mohl být způsoben sklizní plodů v odlišném stupni zralosti.

U obou odrůd červeného rybízu se obsah vitamínu C příliš nelišil. U odrůdy Detvan byl stanoven na 146,19 mg ve 100 g a u odrůdy Jesan 146,58 mg ve 100 g. Bílý rybíz Primus v modifikaci keř obsahoval 48,14 mg ve 100 g vitamínu C, v modifikaci V 25,59 mg ve 100 g.

Vzorek josty z roku 2012 obsahoval dvakrát více kyseliny askorbové (48,41 mg ve 100 g) než vzorek z roku 2013 (22,24 mg ve 100 g). Rozdíl opět mohl být způsoben sklizní plodů v odlišném stupni zralosti.

Na obsah vitamínu C mají velký vliv klimatické podmínky během roku, ale je ovlivňován také samotnými odrůdami.

5 ZÁVĚR

Teoretická část diplomové práce je věnována definici ovoce, významu ovoce ve výživě člověka, popisu rodů *Ribes* a *Ribes x culverwellii*, účinnými látkami v rybízu a jostě, popisu vybraných chemických parametrů a stanovení některých z nich.

Plody rybízu jsou významným zdrojem antioxidantů, mezi něž patří anthokyanová barviva, fenolické látky a vitamín C.

Účelem této diplomové práce bylo stanovení obsahu redukujících cukrů, stanovení celkové a rozpustné sušiny, formolového čísla, pH, titrační kyselosti, stanovení obsahu celkových fenolů a antokyanových barviv a stanovení obsahu vitamínu C ve dvou vzorcích josty, šesti odrůdách černého rybízu (z nichž čtyři byly k dispozici v obou modifikacích keř i V a dvě pouze v jedné), jedné odrůdě bílého rybízu (v obou tvarových modifikacích) a dvou odrůdách červeného rybízu (každý v jedné tvarové modifikaci). Vzorky josty pocházely od soukromého pěstitele z obce Padochov, vzorky rybízů dodal Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s. r. o. U vzorků, které pocházely z keřů ve dvou tvarových modifikacích, bylo možné provést srovnání, zda má tvarová modifikace vliv na obsah stanovovaných parametrů.

Jednotlivé postupy jsou popsány v experimentální části v kapitole 3.3.

Nejvyšší obsah redukujících sacharidů byl stanoven u červeného rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř (11,86 % hm.), nejnižší pak u černého rybízu odrůdy Lota v modifikaci V (5,05 % hm.). Poměrně vysoké procento redukujících sacharidů obsahovaly také oba vzorky josty (10,92 % hm. a 11,12 % hm.).

Obsah sušiny u josty byl vyšší u vzorku z roku 2013, což mohlo být způsobeno nižším přísunem vláhy v daném období. U černých rybízů se obsah sušiny pohyboval v rozmezí 15–19 % hm., přičemž nejnižší byl u odrůdy Morávia v modifikaci V (14,91 % hm.), nejvyšší pak u odrůdy Démon v modifikaci keř (18,95 % hm.). Celkově nejvyšší sušina byla stanovena u vzorku bílého rybízu Primus v modifikaci V (19,63 % hm.) a červeného rybízu Jesan keř (19,41 % hm.). Tento fakt může být způsoben především tím, že dané odrůdy červeného a bílého rybízu mají menší plody, nemusí tedy obsahovat takové množství vody jako josta nebo rybíz černé.

Při stanovení obsahu rozpustné sušiny bylo zjištěno, že nejvíce sacharózy bylo obsaženo v červeném rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř (22,15 % hm.), nejméně u bílého rybízu odrůdy Primus modifikace V (13,10 % hm.). Vzorek josty z roku 2013 obsahoval o více než 2,5 % hm. sacharózy než vzorek josty z předchozího roku, což svědčí o tom, že v roce 2013 byla patrně josta sklizena ve vyšší stupni zralosti.

Hodnota pH jednotlivých vzorků rybízu je téměř shodná, pohybuje se v malém rozmezí od pH 2,84 do pH 3,53. U obou vzorků josty byla hodnota pH rovněž podobá. Obecně lze říci, že šťávy z plodů rybízu a josty patří mezi kyselé potraviny, díky čemuž lze při jejich zpracování a případném tepelném ošetření použít nižší teploty.

Obsah titrovatelných kyselin je u rybízu velmi rozdílný. Nejvíce kyselin bylo stanoveno u černého rybízu odrůdy Triton v modifikaci V, a to 1488,2 mmol/l, nejméně pak u červeného rybízu odrůdy Jesan v modifikaci keř, 778,0 mmol/l. U josty byl obsah kyselin výrazně vyšší u vzorku z roku 2012, což vypovídá o tom, že josta byla sklizená v nižším stupni zralosti než v roce 2013.

Při srovnání výsledků s výše uvedenými hodnotami pH lze říci, že vzorky s nižším pH obsahovaly více titrovatelných kyselin.

Hodnota formolového čísla u černých rybízů dosahovala s výjimkou odrůdy Démon (V i keř) a Ometa (keř) hodnot 20,00 a více. Formolové číslo u červených a bílých rybízů bylo velmi nízké, u josty naopak poměrně vysoké. Bílé a červené rybízy a černý rybíz odrůdy Démon obsahovaly podstatně nižší množství aminokyselin, než většina odrůd rybízů černých. Lze tedy konstatovat, že nejvyšší obsah aminokyselin byl prokázán v jostě.

Nejvyšší obsah fenolů byl zjištěn u vzorku josty z roku 2012 (385,82 mg ve 100 g plodů). Vzorek josty z roku 2013 obsahoval celkových fenolů daleko méně (293,08 mg ve 100g).

U černých rybízů se obsah fenolických látek pohyboval v rozmezí 244,46–271,28 mg ve 100 g, pouze u odrůdy Ben Gairn v modifikaci keř byl obsah fenolů výrazně vyšší, a to 324,76 mg ve 100 g.

V případě bílého rybízu byl zjištěn vyšší obsah celkových fenolů u modifikace V (46,42 mg ve 100 g), u červených rybízů u odrůdy Detvan v modifikaci keř (254,22 mg ve 100 g).

Celkový obsah fenolů závisí na stupni zralosti, době sklizně (při dřívější době sklizně je obsah fenolů nižší), je ovlivněn koncentrací antokyanových barviv v plodech (čím vyšší koncentrace barviv, tím vyšší obsah fenolů) a podmínkami zpracování a skladování. Rozdíly mezi tvarovými modifikacemi mohly být způsobeny odlišnými podmínkami růstu.

Všechny výsledky spadají do rozmezí hodnot koncentrace fenolických látek uvedených v literatuře a to i přes to, že nebyly extrahovány fenolické látky ze slupek.

Z výsledků stanovení vyplývá, že z hlediska obsahu fenolických látek je nejperspektivnější josta, z černých rybízů Ben Gairn, Morávia a Démon. Naopak nejméně perspektivní je bílý rybíz.

Obsah monomerních anthokyanových barviv v jostě z roku 2013 (551,86 mg ve 100 g) byl podstatně vyšší než u vzorku z předchozího roku (298,12 mg ve 100 g). Tento rozdíl může být způsoben sklizní plodů v různém stupni zralosti.

Nejvyšší obsah anthokyanů v černých rybízech byl stanoven u odrůdy Ben Gairn v modifikaci keř (596,03 mg ve 100g), nejnižší u odrůdy Démon v modifikaci V (130,92 mg ve 100 g). Ve dvou případech neodpovídal obsah anthokyanů rozmezí uvedenému v literatuře. Tento fakt byl patrně způsoben tím, že nebyla extrahována anthokyanová barviva také ze slupek plodů.

Obsah anthokyanů u červených rybízů odpovídal danému rozmezí hodnot z literatury. Více těchto barviv obsahovala odrůda Jesan v modifikaci keř (196,91 mg ve 100 g).

U bílých rybízů nebyl obsah antokyanových barviv prokázán.

Nejperspektivnější z hlediska obsahu antokyanových barviv je dle výsledků josta, z černých rybízů pak Démon, Ometa, Morávia a Ben Gairn.

Obsah vitamínu C v černých rybízích se pohyboval v rozmezí 24,16–266,42 mg ve 100 g plodů. Nejméně kyseliny askorbové bylo obsaženo v odrůdě Triton v modifikaci V, nejvíce v odrůdě Démon v modifikaci keř. U odrůd Morávia a Ben Gairn byly velmi rozdílné stanovené koncentrace vitamínu C mezi jednotlivými modifikacemi. Tento rozdíl mohl být způsoben sklizní plodů v odlišném stupni zralosti.

U obou odrůd červeného rybízu se obsah vitamínu C příliš nelišil. U odrůdy Detvan byl stanoven na 146,19 mg ve 100 g a u odrůdy Jesan 146,58 mg ve 100 g.

Bílý rybíz Primus v modifikaci keř obsahoval 48,14 mg ve 100 g vitamínu C, v modifikaci V 25,59 mg ve 100 g.

Vzorek josty z roku 2012 obsahoval dvakrát více kyseliny askorbové (48,41 mg ve 100 g) než vzorek z roku 2013 (22,24 mg ve 100 g). Rozdíl opět mohl být způsoben sklizní plodů v odlišném stupni zralosti.

Na obsah vitamínu C mají velký vliv klimatické podmínky během roku, ale je ovlivňován také samotnými odrůdami.

Z výsledků stanovení vyplývá, že z hlediska obsahu vitamínu C je nejperspektivnější černý rybíz odrůdy Démon, naopak nejméně perspektivní je černý rybíz odrůdy Triton.

Celkovým srovnáním jednotlivých odrůd v oblasti obsahu fenolických látek, vitamínu C a anthokyanových barviv lze konstatovat, že nejperspektivnější je odrůda černého rybízu Démon. Je však nutné dodat, že nejvyšší obsah fenolických látek a anthokyanů byl stanoven v jostě.

6 SEZNAM ZDROJŮ

- [1] OVOCNÁŘSKÁ UNIE ČESKÉ REPUBLIKY [online]. 2013, duben [cit. 2013-04-01]. Dostupné z www: <http://www.ovocnarska-unie.cz/index.php?page=3>
- [2] EAGRI POTRAVINY [online]. 2016, leden [cit. 2016-01-09]. Dostupné z http://eagri.cz/public/web/file/433573/SVZ_Ovoce_2015.pdf
- [3] OVOCNÁŘSKÁ UNIE ČESKÉ REPUBLIKY [online]. 2013, duben [cit. 2013-04-01]. Dostupné z www: <http://www.ovocnarska-unie.cz/index.php?page=2>
- [4] ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÉ UNIE L 312 [online]. 2016, září [cit. 2016-02-19]. Dostupné z www: <https://www.celnisprava.cz/cz/clo/sazebni-zarazeni-zbozi/spolecny-celni-sazebnik-es/Spolen%20celn%20sazebnk%20ES%202015/NEK1101-2014.pdf>
- [5] HRNČÍŘOVÁ, D.; RAMBOUSKOVÁ, J. a kol. *Výživa a zdraví*. 1. vyd. Praha: Ministerstvo zemědělství, odbor bezpečnosti potravin, 2012. 36 s. ISBN 978-80-7434-071-0
- [6] WEBMD [online]. 2013, květen [cit. 2013-05-19]. Dostupné z www: <http://www.webmd.com/diet/features/antioxidants-in-fruits>
- [7] FOODNET [online]. 2013, květen [cit. 2013-05-01]. Dostupné z www: <http://zdravi.foodnet.cz/cze/pages/potravinova-pyramida>
- [8] HEJDA, S. a kol. *Zelenina a ovoce pro zdraví*. 1. vyd. Praha: Společnost pro racionální výživu v Praze, 1983. 88 s. 735 312 36 15 1 1
- [9] LENNTECH [online]. 2013, duben [cit. 2013-04-28]. Dostupné na www: <http://www.lenntech.com/fruit-vegetable-vitamin-content.htm>
- [10] VÝSKUMNÝ ÚSTAV POTRAVINÁRSKY [online]. 2013, duben [cit. 2013-04-28]. Dostupné z www: <http://www.vup.sk/index.php?start&mainID=1&navID=43#Definícia>
- [11] EUR-LEX EUROPA [online]. 2013, duben [cit. 2013-04-28]. Dostupné z www: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:285:0009:0012:CS:PDF>
- [12] DUŠKOVÁ, L.; KOPŘIVA, J. *Pěstujeme rybíz, angrešt a jostu*. 1. vyd. Praha: Tercie Praha, s. r. o., 2002. 112 s. ISBN 80-247-0223-1

- [13] BIOLIB.CZ [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id890560/>
- [14] EUTOPIA [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: <http://www.eutopiamall.com/mall/themes/eutopiagreen/product.php?cur=eur&language=2&aws=0&offer=g&date=&pricelimitrange=&pricelimit=&supplier=&producer=188983&pack=&rootId=1090038&rootIds=1090038&baseId=332897&id=411374&pid=411374&ids=55961|&formid=&onlyall=>
- [15] MEEMELINK [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: http://www.meemelink.com/prints_pages/17164.Ribes.htm
- [16] ABECEDA ZAHRADY [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: <http://abecedazahrady.dama.cz/katalog-rostlin/josta>
- [17] STARKL [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: http://www.starkl.com/view/p-1281/Podrobnosti-o-sortimentu/Rybizy-Rybiz-%C2%B4Cerny-Silvergieter%C2%B4/?jsessionid=51606950E6AD55CC9A497381A0B35290.srv02a?selected_shop_item=default_rest_id9109_152150
- [18] SKORO BLOG.CZ [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z www: <http://skoro.blog.cz/1307/jostovy-dzem>
- [19] BIOLIB.CZ [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id175011/>
- [20] BIOKERT [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: http://biokert.network.hu/kepek/csernus_galeria/josta
- [21] ZAHRADNICTVÍ TŘEBÍČ [online]. 2013, srpen [cit. 2013-08-26]. Dostupné z www: http://www.zahradnictvi-trebic.cz/cze/index.php?action=catalogue_detail&id=1294
- [22] RYBÍZ [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z www: http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/eltronic_ovoc/private/ovoc_1/d_ata/rybiz.pdf
- [23] STARÉ ODRŮDY [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z www: <http://www.stareodrudy.org/ovocny-strom/ryb%C3%ADz-b%C3%ADl%C3%BD-%C2%B4primus%C2%B4/161.html>
- [24] OVOCNÉ A OKRASNÉ ŠKOLKY KUKLA [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z www: <http://www.ovocne-stromky.com/kukla/eshop/11-1->

Drobne-ovoce/9-2-Rybiz-stromkovy/5/110-DETVAN-rybiz-stromkovy-cerveny-balene-zbozi

- [25] KUMŠTÝŘ, K., HORYNOVÁ, A., JANSA, F. *Základy zahradnictví*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1958. 272 s. 04/44
- [26] KATALOG ROSTLIN.CZ [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z [www:http://www.katalog-rostlin.cz/ovocne-dreviny/Moravia-rybiz-Ribes-foto1.html](http://www.katalog-rostlin.cz/ovocne-dreviny/Moravia-rybiz-Ribes-foto1.html)
- [27] RECEPTY OD MÁMY [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z [www:http://www.maminyrecepty.cz/recepty/zavareniny/rybizovy-kompot/](http://www.maminyrecepty.cz/recepty/zavareniny/rybizovy-kompot/)
- [28] ONA DNES.CZ [online]. 2013, září [cit. 2013-09-10]. Dostupné z [www:http://ona.idnes.cz/zavarovani-je-zase-v-kurzu-recepty-na-domaci-marmelady-p1n-recepty.aspx?c=A100630_170707_recepty_abr](http://ona.idnes.cz/zavarovani-je-zase-v-kurzu-recepty-na-domaci-marmelady-p1n-recepty.aspx?c=A100630_170707_recepty_abr)
- [29] BIOLIB.CZ [online]. 2013, září [cit. 2013-09-11]. Dostupné z [www:http://www.biolib.cz/cz/taxon/id39401/](http://www.biolib.cz/cz/taxon/id39401/)
- [30] CENTRUM PRO DATABÁZI SLOŽENÍ POTRAVIN [online]. 2014, únor [cit. 2014-02-13]. Dostupné z [www:http://www.czfcdb.cz/vyhledavani-potravin/podle-nazvu/](http://www.czfcdb.cz/vyhledavani-potravin/podle-nazvu/)
- [30] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*, 1.vyd. OSSIS: Nová tiskárna Pelhřimov, s.r.o., 1999, 387 s. ISBN 80-902391-5-3
- [31] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P. *Analýza potravin*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007, 203 s. ISBN 978-80-7375-036-7
- [32] PATHWAY-27 [online]. 2013, září [cit. 2013-09-14]. Dostupné z [www:http://www.pathway27.eu/topstory/anthocyanins/](http://www.pathway27.eu/topstory/anthocyanins/)
- [33] GIUSTI, M. M., WROLSTAD, R. E. *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry* [online]. 2001, září [cit. 2013-09-14]. ISBN 9780471142911
- [34] ZAJÍMAVÉ REAKCE FENOLICKÝCH LÁTEK [online]. 2013, září [cit. 2013-09-15]. Dostupné z [www:http://konference.osu.cz/svk/sbornik2012/pdf/budoucnost/didaktika/krejcikova.pdf](http://konference.osu.cz/svk/sbornik2012/pdf/budoucnost/didaktika/krejcikova.pdf)
- [35] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 2*. 1. vyd. OSSIS: Nová tiskárna Pelhřimov, s.r.o., 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5

- [36] ROSTLINNÉ FENOLOVÉ LÁTKY A FLAVONOIDY [online]. 2013, září [cit. 2013-09-15]. Dostupné z www: <http://web.vscht.cz/~koplkr/Rostlinn%C3%A9%20fenoly%20a%20flavonoidy.pdf>
- [37] VODRÁŽKA, Z.: *Biochemie*. 2. vyd. Český Těšín: Těšínská tiskárna, a. s., 2002. 507 s. ISBN 978-80-200-0600-4
- [38] PRAKTICKÉ LÉKAŘSTVÍ [online]. 2014, únor [cit. 2014-02-25]. Dostupné z www: <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2011/01/08.pdf>
- [39] CELOSTNÍ MEDICÍNA [online]. 2014, únor [cit. 2014-02-25]. Dostupné z www: <http://www.celostnimedcina.cz/mineralni-latky-jejich-zdroje-a-vyznam-pro-organismus.htm>
- [40] MCMURRY, J. *Organická chemie*. 1. vyd. VUTIUM: VŠCHT, 2007. 1176 s. ISBN 978-80-214-3291-8
- [41] HRŠKA, M., VESPALCOVÁ, M. *Praktikum z analytické chemie potravin*. 1. vyd. Brno: 2006. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/elearning/mod/resource/view.php?id=206582>
- [42] BALÍK, Josef. *Vinařství: Návody do laboratorních cvičení*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2006, 96 s. ISBN 80-715-7933-5.
- [43] PRÍBELA, A. *Analýza potravin*. 1. vyd. Bratislava, 1991, 255 s. ISBN 80-227-0374-5
- [44] NIELSEN, S. S. *Food Analysis, PH and Titratable Acidity*. 4. vyd. Dordrecht: Springer, 2010, 221-233 s. ISBN 978-1-4419-1477-4.
- [45] IDENTIFIKACE FALŠOVÁNÍ VÝROBKŮ Z OVOCE A ZELENINY [online]. 2013, září [cit. 2013-09-12]. Dostupné z www: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/navody/oborII/falsovani.pdf
- [46] SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology*. 1.vyd. 1999, s. 152 – 178. ISBN 978-0-12-182200-2
- [47] NOVÁKOVÁ, L., P. SOLICH a D. SOLICHOVÁ. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *TrAC Trends*

- in Analytical Chemistry [online]. 2016, duben [cit. 2016-04-15]. Dostupné z www: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993608001805>
- [48] SERPEN, A., V. GÖKMEN, K. S. BAHÇECI a J. ACAR. Reversible degradation kinetics of vitamin C in peas during frozen storage. *European Food Research and Technology* [online]. 2016, duben [cit. 2016-04-15]. Dostupné z www: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-006-0369-y>
- [49] NOLLET, L. M. *Food analysis by HPLC*. vyd. 2., New York: Marcel Dekker, 2000, s. 1049 ISBN 08-247-8460-X
- [50] DONG, M. W. *Modern HPLC for practicing scientists*. Vyd. 1, Hoboken: John Wiley and sons, Inc., 2006, 286 s. ISBN 04-717-2789-X
- [51] DOUŠA, M., Základní charakteristiky chromatografického procesu. *HPLC.CZ* [online]. 2016, duben [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/>
- [52] ČSN EN 14130: Potraviny - Stanovení vitamínu C metodou HPLC. Český normalizační institut, 2004.
- [53] OCHMIAN, I., A. DOBROWOLSKA a P. CHEŁPIŃSKI. Physical Parameters and Chemical Composition of Fourteen Blackcurrant Cultivars (*Ribes nigrum* L.). *Notulae 65 botanicae Horti agrobotanici Cluj-Napoca*. 2014, roč. 42, č. 1, 160-167 s. [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/9103>
- [54] KAMPUSS, Kaspars a Hanne Lindhard PEDERSEN. A Review of Red and; White Currant (*Ribes rubrum* L.). *Small Fruits Review* [online]. Taylor, 2003, vol. 2, issue 3, s. 23-46 [cit. 2016-04-22]. DOI: 10.1300/J301v02n03_03.
- [55] WALKER, P. G., R. VIOLA, M. WOODHEAD, R. M. BRENNAN a R. D. HANCOCK. Ascorbic acid content of blackcurrant fruit is influenced by both genetic and environmental factors. *Funct. Plant Sci. Biotechnol* [online]. 2010, č. 4, s. 40-52 [cit. 2015-04-25]. Dostupné z: http://www.northsearegion.eu/files/repository/20131027214425_UK-Enclosures28.pdf

7 SEZNAM ZKRATEK

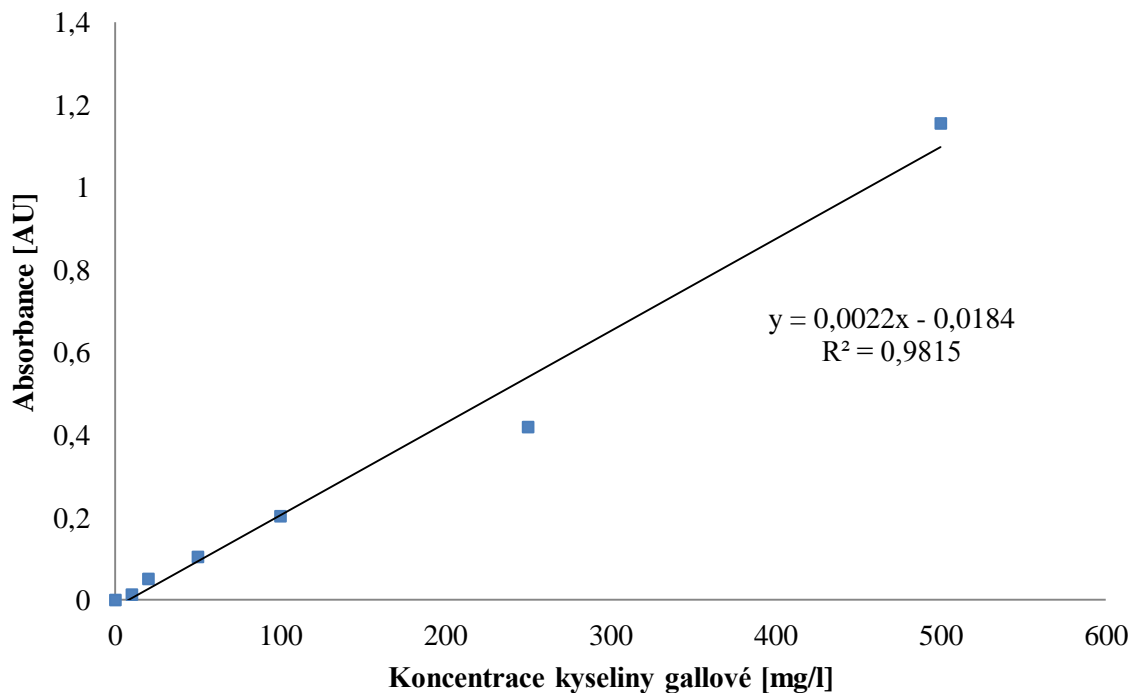
AA	kyselina askorbová
AV	Akademie věd
CZE	kapilární zónová elektroforéza
DAD	detektor s diodovým polem
DHAA	kyselina dehydroaskorbová
ED	elektrochemický detektor
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctovou
FD	fluorimetrický detektor
FIA	injekční analýza
GC	plynová chromatografie
HILIC	(hydrophilic interaction liquid chromatography) – kapalinová chromatografie hydrofilních interakcí
HPLC	(high-performance liquid chromatography) –vysokoučinná kapalinová chromatografie
IP	Integrovaná produkce
MF	mobilní fáze
MS	hmotnostní spektrometrie (detektor)
ODS	oktadecylově modifikovaným silikagelem
RP-HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie s reverzní fází
SISPO	Svaz pro integrované systémy pěstování ovoce
UV	ultrafialová oblast
UV/VIS	ultrafialová/viditelná oblast

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové	82
Příloha 2: Kalibrační křivka kyseliny askorbové	82
Příloha 3: Ukázka chromatogramu červeného rybízu odrůdy Detvan keř	83

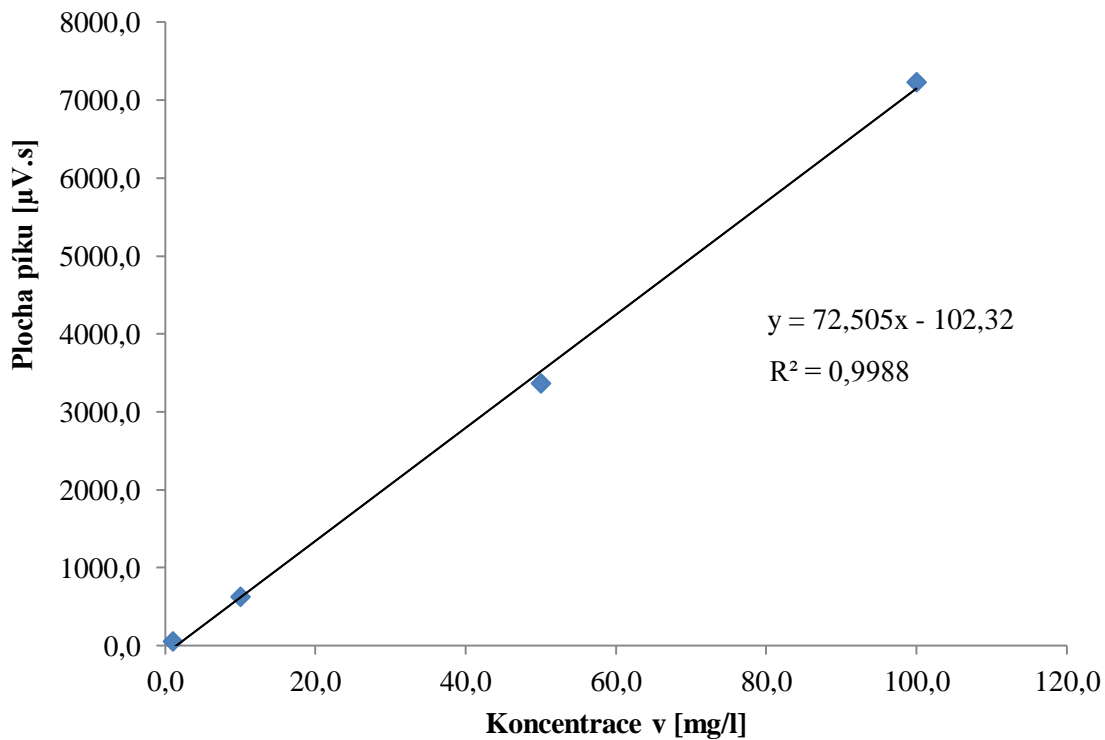
9 PŘÍLOHY

9.1 Příloha 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové



9.2 Příloha 2: Kalibrační křivka kyseliny askorbové

Kalibrační křivka kyseliny askorbové



9.3 Příloha 3: Ukázka chromatogramu červeného rybízu odrůdy Detvan keř

